



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

***Efectos de la exposición gestacional al cadmio sobre los índices de
pubertad, la conducta sexual y la fertilidad en la descendencia masculina de
la rata Wistar***

T E S I S

Para obtener el grado de
Maestra en Biología de la Reproducción Animal

P R E S E N T A

Biol. Darla Juliana Márquez Aguiluz

Comité tutorial:

Dra. Marcela Arteaga Silva

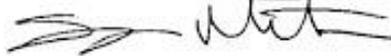
Dr. Pablo Gustavo Damián Matzumura

Dr. Sergio Montes López

Septiembre del 2018

MIEMBROS DEL JURADO

Dr. Sergio Montes López
Investigador en Ciencias Médicas "E",
Laboratorio de Neuroquímica,
Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía,
"Dr. Manuel Velasco Suarez"
sergiomontes@hotmail.com



Dra. Ofelia Limón Morales
Departamento de Biología de la Reproducción,
Laboratorio de Neuroendocrinología Reproductiva,
DCBS. UAM-Iztapalapa
ofelia.limon@yahoo.com



M. en C. Pedro Cuapio Padilla.
Andrólogo Clínico
Hisparep, Clínica de Reproducción Asistida
Hospital Español de México
cuapiopp@yahoo.com.mx



Dr. Porfirio Gómora Arrati
Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias
CINVESTAV, Panotla, Tlaxcala.
gomora09@yahoo.com.mx



El presente trabajo se realizó en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa en el laboratorio de Neuroendocrinología Reproductiva (S-338), bajo la dirección de la Dra. Marcela Arteaga Silva; en el laboratorio de Neuroquímica del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Dr. Manuel Velasco Suarez”, con la asesoría del Dr. Sergio Montes, y en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, “Salvador Zubirán”.

La alumna Darla Juliana Márquez Aguiluz recibió apoyo de CONACyT con número de registro (CVU) 790933.

La Maestría en Biología de la Reproducción Animal de la UAM perteneciente al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, Nivel: En Desarrollo (número de registro 003797)

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana, a la Maestría en Biología de la Reproducción Animal y la Comisión del Posgrado por darme la oportunidad de encauzarme hacia el conocimiento.

A mi comité Tutorial:

Dra. Marcela Arteaga Silva, por su paciencia y fortaleza, por todo el conocimiento y atenciones brindadas desde antes de ingresar a la maestría.

Dr. Pablo Damián Matzumura, haber sido mi primer contacto con la maestría, por ser una guía infalible y siempre ser un enorme apoyo durante todo mi proceso.

Dr. Sergio Montes, por el apoyo y conocimientos brindados en el área de metales pesados...***

A los miembros del jurado, por el esfuerzo y conocimiento aportado en este trabajo.

A la Dra. Ofelia Limón, por siempre tener una respuesta cálida pero concisa, gracias por todo el apoyo

M en C. Pedro Cuapio, gracias por permitirme aprender tanto, porque gracias a usted sé que siempre hay mucho trabajo.

Al Dr. Porfirio Gómora Arrati por los comentarios y apoyo recibido.

A mis compañeros de laboratorio: Ángeles, Pablo, Sher, Lalo, Sergio, Jessica, Diana Joel e Ivis por su constante apoyo desde el inicio de los experimentos y en los seminarios.

A los MBRA's, Ricardo, Gustavo, Gina, Cintia, Alain, Juan y Kike, por todas las risas y experiencias compartidas, conocerlos fue de lo mejor que pudo darme la maestría.

A mis amigos que hice en esta hermosa y caótica, que sin ellos no hubiera sido lo mismo, a mi babe Laura, por ser mi hermana, a Luis por ser un incondicional amigo, a Sol y a la familia Reséndiz Ramírez (a Irene, More, Vicky y Manolo), por aceptarme en la manada y convertirse en mi familia.

A mis mejores amigos, Lupita y Rex que son mi fuerza en la distancia. Los amo.

A Dios por haberme permitido vivir y conocer a tantas personas maravillosas

*** Y LOS MEMES!

DEDICATORIA

- ◆ A mi madre por todo el sacrificio, por siempre creer en mi y ser apoyo fundamental en cada paso que doy en mi vida.
- ◆ A Manuel Saiza, por todos los sacrificios, el apoyo y el amor incondicional.
- ◆ A mis sobrinos, por siempre sacarme sonrisas.
- ◆ A mis hermanos, por el apoyo.
- ◆ A Tuna, Matilda y Akko.

Not gonna give up on the days I know I've won
That's where I am going
'Cause there is nothing nothing but blue sky...

Esfuerzate y aliéntese tu corazón

Salmo 27:14

ABREVIATURAS:

AG: acicalamiento genital

AIF: factor inductor de apoptosis

BHE: barrera hematoencefálica

BHP: barrera hematoplacentaria

BHT: barrera hematotesticular

Ca: calcio

Cd: cadmio

CSM: conducta sexual masculina

DHT: dihidrotestosterona

DMT-1: transportador de metales divalentes-1

DT: descenso testicular

EPE: erecciones penianas espontaneas

Fe: hierro

FSH: hormona folículo estimulante

HHG: hipotálamo-hipófisis-gónada

HR: *hit rate*

INSL-3: factor similar a la insulina-3

IPE: intervalo posteyaculatorio

LE: latencia de eyaculación

LH: hormona luteinizante

LI: latencia de intromisión

LM: latencia de monta

MT: metalotioneína

NDP: nervio dorsal del pene

NE: número de eyaculaciones

NI: número de intromisiones

NM: número de montas

SP: separación prepucial

T: testosterona

Zn: zinc

ÍNDICE

I. RESUMEN	4
II. ABSTRACT	5
III. INTRODUCCIÓN	6
Cadmio (Cd).....	6
Mecanismos de transporte y acumulación del Cd	8
Pubertad y madurez sexual	13
Conducta sexual y hormonas.....	14
IV. ANTECEDENTES	17
El Cd y sus efectos en la salud reproductiva	17
Distribución del Cd durante la preñez.....	19
Paso del Cd a través de la placenta y efectos en la gestación	20
Efectos del Cd sobre la pubertad y CSM	23
V. JUSTIFICACIÓN	25
VI. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	25
VII. HIPÓTESIS	25
VIII. OBJETIVO GENERAL	26
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
IX. MATERIAL Y MÉTODOS	26
Animales	26
Registros conductuales para índices de pubertad	28
Evaluación de la CSM de la progenie	28
Evaluación de calidad espermática	29
Índice de Fertilidad	30
Cuantificación Cd en sangre y tejidos.....	31
Cuantificación de testosterona en suero	32
Análisis estadístico	33
X. RESULTADOS	35
Nacimientos	35
Índices de pubertad	35
Conducta sexual masculina	37
Parámetros espermáticos.....	40
Concentraciones de T.....	43
Concentraciones de Cd	44
Fertilidad	45
XI. DISCUSIÓN	46
XII. CONCLUSIONES	54
XIII. BIBLIOGRAFÍA	56

I. RESUMEN

El cadmio (Cd) es un metal tóxico encontrado como contaminante en productos de uso cotidiano, en México se han reportado altos índices de contaminación por Cd, por lo que la exposición en la población es de gran importancia. Además, al tener una vida media muy prolongada de hasta 40 años no solo afecta al organismo expuesto, sino también a su progenie. Se sabe que la exposición crónica en etapa adulta el Cd tiene repercusiones sobre el eje hipotálamo-hipófisis-testículo, afectado directamente la salud reproductiva. Se han reportado diversos efectos nocivos del Cd sobre los machos expuestos *in útero*, en los que se observa una disminución en la concentración de testosterona (T).

En el presente estudio, se analizaron los efectos del Cd, administrado durante la gestación, sobre los índices de pubertad de las crías macho, y cuando llegaron a la edad adulta se analizó la conducta sexual masculina (CSM), la concentración de T, la calidad espermática y la fertilidad. Se utilizaron ratas Wistar preñadas y se dividieron en dos grupos: un grupo tratado con cloruro de Cd (1 mg/Kg/CdCl₂) y el grupo control (solución salina) administradas por vía intraperitoneal desde el día 11 al 20 de gestación. Una vez que los individuos expuestos prenatalmente alcanzaron la adultez (96 días), se realizó eutanasia por decapitación. Los resultados muestran retraso en la SP del grupo tratado y una menor frecuencia y duración del AG al compararse con el grupo control. Con respecto a la ejecución de la CSM del grupo experimental también se observó una baja eficiencia copulatoria, así como una baja calidad espermática, afectando directamente la fertilidad de estos machos, aunado a la disminución en la concentración de T. De manera global podemos concluir que el Cd reduce los parámetros reproductivos de la rata macho Wistar administrada prenatalmente.

II. ABSTRACT

Cadmium (Cd) is a toxic heavy metal found in everyday use products. It has been of interest because of the role it plays as an endocrine disruptor. It is known that chronic cadmium exposure, during adulthood, affects directly in reproductive health and has repercussions on the hypothalamic-pituitary-testicle axis. There have been reports of Cd contamination in Mexico -, not to mention that the half-life of Cd in an organism can extend up to 40 years, affecting the individuals and as well their offspring.

Several effects of Cd have been reported in males exposed *in utero*, resulting in decreased testosterone (T) blood concentration, which directly affects on puberty onset, male sexual behavior and sperm quality, compromising male reproductive success.

However, nowadays, the effects of Cd on preputial separation and genital self-grooming have not been explored. Similarly, there is no data on male sexual behavior on progeny exposed to Cd.

In this study we analyzed the effect of Cd on the rates of puberty, male sexual behavior, testosterone concentration, sperm quality and fertility of male rats gestationally exposed to Cd. Pregnant Wistar rats were used for this study and were divided into two groups: a treated group (1 mg/Kg/CdCl₂) and a control group (saline) administered intraperitoneally from GD 11 to 20, once the individuals reached adulthood (96 days) euthanasia was performed by decapitation. The results showed a delay in the preputial separation in the metal-treated group and a lower frequency and duration of the genital self-grooming as compared with the control group regard to the performance of male sexual behavior from the experimental group, a low copulatory efficiency was observed, as well as low sperm quality, directly affecting the fertility of these males, along with lowered testosterone concentration.

We conclude that prenatal exposure to 1 mg/kg Cd induced a negative effect on the reproductive parameters of the males offspring of Wistar rat.

III. INTRODUCCIÓN

La influencia que tienen los contaminantes ambientales en la salud reproductiva de los mamíferos es muy conocida y se sabe que estos pueden impactar desde su gestación hasta el desarrollo posnatal del individuo. Sin embargo, la absorción a contaminantes durante la gestación no ocurre de la misma manera que directamente sobre el individuo, ya que la mayoría de los órganos de la madre y sus funciones se modifican para cumplir con los requerimientos de esta etapa, y los contaminantes son absorbidos de manera diferente a un organismo que no se encuentra en este estado.

El Cd, junto con otros metales pesados, constituye un grupo importante de contaminantes ambientales, ampliamente distribuido y que se ha demostrado genera alteraciones en el desarrollo y la maduración sexual de organismos expuestos directamente. Se ha reportado que en las hembras gestantes también pueden afectar a la progenie debido a que pueden bio-acumularse (Petrochelli *et al.*, 2012; Pillai *et al.*, 2012) y que tiene importantes efectos sobre la reproducción humana (Pant *et al.*, 2014). Sin embargo, aún quedan muchos aspectos que no han sido estudiados sobre los efectos del Cd en la progenie de madres que son expuestas durante la gestación, es por ello por lo que en el presente estudio se analizan los efectos del Cd sobre parámetros reproductivos de la progenie masculina.

Cadmio (Cd)

Las actividades humanas han incrementado las concentraciones de Cd en el ambiente (Muntau y Baudo, 1992). Dentro de sus usos se incluyen combustibles fósiles, aleaciones con cobre y revestimientos para proteger al hierro y el acero contra la corrosión, además se utiliza para la fabricación de pinturas utilizadas en cerámicas y plástico, es empleado en la fabricación de baterías de hidróxido de níquel-Cd (Ni-Cd) para la industria automotriz. En la agricultura forma parte de fertilizantes fosforados y en plaguicidas, también puede encontrarse en los lixiviados de los vertederos de basura, escorrentías de suelos agrícolas y en residuos

mineros, por lo que fácilmente puede incorporarse a los alimentos de animales y humanos (Muntau y Baudo, 1992; Beveridge *et al.*, 2010; Watanabe *et al.*, 1984), principalmente en sus formas de óxido de Cd (CdO), cloruro de Cd (CdCl₂) y sulfuro de Cd (CdS) (Luo *et al.*, 2015).

Debido a que la población se encuentra expuesta al agua y alimentos contaminados con Cd, así como a las emisiones industriales y el humo de cigarro que contienen este metal, se considera que el Cd es uno de los principales agentes tóxicos a nivel ocupacional y ambiental (Arteaga-Silva *et al.*, 2015; Waalkes, 2000). De acuerdo con la OMS, la concentración de Cd máxima permitida en aire es de ~0.04 µg/m³ y en agua de <1 µg/L, por lo que las concentraciones tolerables en la ingesta humana de Cd al mes deben ser menores a 25 µg/Kg de peso corporal (World Health Organization, 2010), pero debido a que este metal se encuentra en alimentos como los moluscos, pescado, vísceras de animales de pastoreo, arroz y otros cultivos, especialmente gramíneas (Watanabe *et al.*, 1984), los cuales son alimentos altamente consumidos en las dietas humanas, es relativamente fácil que se sobrepasen los límites permitidos, por lo que se ha determinado que una persona, en promedio, puede llegar a ingerir ~30 µg Cd/día vía alimenticia (alimentos y agua) (Luo *et al.*, 2015, U.S. Department of Health and Human Services, 2012).

Por otro lado, en áreas no contaminadas, donde la exposición a Cd por agua o alimentos es menor, la ruta más importante para que el Cd ingrese al organismo es a través de la inhalación de humo del cigarrillo (ATSDR, 2012; Lewis *et al.*, 1972). A pesar de que la contaminación ambiental es una fuente menor de exposición podemos encontrarlo en áreas urbanas entre los 2 a 15 ng por m³, y existen reportes de la Ciudad de México donde se han alcanzado concentraciones de 35 a 40 ng por m³, siendo de las urbes con mayores niveles (ATSDR, 2012; Chow *et al.*, 2002; Guerra *et al.*, 2013). Por esta razón, podemos afirmar que una de las principales vías de exposición de los mexicanos es por inhalación, esta ocurre generalmente a través del humo del cigarrillo, aproximadamente 25% (rango 5-50%), mientras que por la vía oral ocurre a través de agua contaminada y alimentos (menudencias y mariscos) estimado en un 5% (1-10%) (ATSDR, 2012). Se estima que cada cigarrillo

contiene de 1 a 2 μg de Cd (ATSDR, 2012; Kosanovic *et al.*, 2002; Järup *et al.*, 1998). Sin embargo, la cantidad de Cd en cada cigarrillo puede variar, en estudios con cigarrillos mexicanos se encontró que cada uno contiene de 2.5 a 2.8 μg de Cd, por lo que las mujeres mexicanas embarazadas se encuentran vulnerables ante estos contaminantes (Saldívar *et al.*, 1991; Elinder *et al.*, 1983).

Se sabe que el Cd se acumula principalmente en el riñón, hígado, testículo, ovarios, pulmón y cerebro (ATSDR, 2012, World Health Organization, 2010). La vida media del Cd en el organismo es muy amplia, en humanos oscila entre los 20 hasta 40 años, (Cheng *et al.*, 2011). Se ha reportado un tiempo de vida renal de 6 a 38 años, en el hígado es de 4 a 19 años (Kjellström y Nordberg, 1978) y en sangre su vida media es de 75 a 128 días (Bernhoft, 2013). Este metal posee una capacidad acumulativa, esto depende del tiempo y dosis de exposición al metal, aunado a la capacidad que posee para mimetizarse con iones de necesidad fisiológica e interferir con procesos biológicos en el organismo, provoca que el tiempo de excreción sea tan amplio (World Health Organization, 2010).

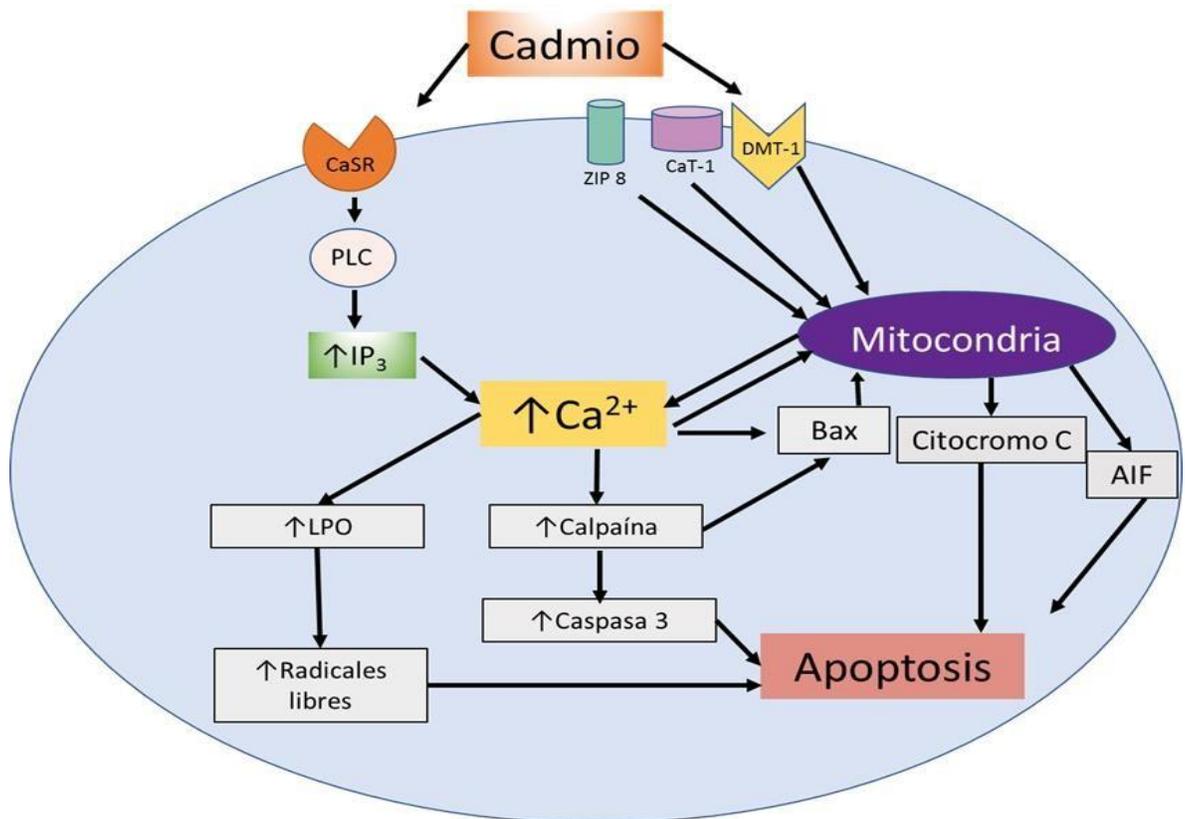
Mecanismos de transporte y acumulación del Cd

El Cd posee la habilidad de desplazar metales bivalentes con actividad fisiológica tales como el calcio (Ca), hierro (Fe) y zinc (Zn) en muchas vías metabólicas. Se ha demostrado que el Cd puede interactuar con los transportadores de membrana involucrados en el paso de estos cationes a las células a través de un proceso de mimetismo iónico (Thompson y Bannigan, 2008; Bridges y Zalups, 2005) y se estima que entre el 30 y 50% del Cd entra a las células a través de los canales de Ca (Al-Saleh *et al.*, 2011) utilizando los canales de tipo N o L de Ca, los cuales son dependientes de voltaje (Zhou *et al.*, 2015)

Una forma de entrada de Cd a la célula es a través del transportador de metales divalentes 1 (DMT1) y transportadores de Zn (ZIP1, ZIP2, ZIP8 o ZIP14), este último, tiene especial importancia en el testículo (Thompson y Bannigan, 2008; King, Banks y George, 1999). En este tejido, el Zn es necesario para brindar estabilidad de la cromatina espermática a través de los líquidos prostáticos

favoreciendo la estructura cuaternaria de la cromatina y así al correcto empaquetamiento que esta, que se da durante la espermiogenesis y durante el paso del proceso de maduración en el epididimo (Vásquez-R y Vásquez-Echeverri, 2007). Por lo la suplantación del Cd al Zn puede afectar seriamente la salud reproductiva, acumulándose en los diferentes órganos que comprenden el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (HHG) causando daños neuroendocrinos (Lafuente, 2013).

Debido a este mimetismo que comparte el Cd con metales esenciales, Thévenod (2009) menciona que el Cd no solo entra a las células utilizando los canales para Ca y Zn, sino también utiliza al transportador de metales divalentes (DMT-1) así como al receptor sensible a calcio (CaSR). De de esta manera, interrumpen el transporte, el metabolismo y el destino celular en el testículo, linfocitos, fibroblastos y neuronas. En células de riñón, Lawal y Ellis en 2012 plantearon un modelo donde explican cómo el Cd puede interferir con vías de señalización a través de la activación de la vía Fosfolipasa-C utilizando al receptor CaSR (Figura 1).



Modificado a partir de Lawal y Ellis, 2012, Méndez-Armenta & Ríos, 2007 y Thévenod, 2009

Figura 1. Efectos del Cd a nivel celular reportados en testículo, linfocitos, fibroblastos y neuronas. Los principales mecanismos de entrada del Cd suelen ser a través de los canales para Zn y Ca, principalmente Zip-8 y CaT-1, así como el transportador de metales divalentes (DMT-1) De esta manera el Cd entra a la mitocondria y esta libera factores apoptóticos como AIF que conducirá a la célula a la apoptosis. Por otro lado, el Cd puede unirse al receptor sensible a calcio (CaSR) donde activará la vía de PLC aumentando las concentraciones de Ca intracitoplasmático que promoverá la liberación de calpaína y caspasas derivando en apoptosis. Este aumento del Ca propiciará la tanto la liberación de Bax, Citocromo C y AIF por parte de la mitocondria Así mismo aumentará la lipoperoxidación de la célula, lo cual derivará en el aumento de radicales libres intracelulares promoviendo la apoptosis. Tomado y modificado de Lawal y Ellis, 2012, Méndez-Armenta & Ríos, 2007 y Thévenod, 2009.

Después de su absorción, es transportado en la sangre unido a la albúmina, dirigiéndose en primera instancia al hígado (Lafuente *et al.*, 2004), donde induce la síntesis de metalotioneínas (MT), una clase de proteínas ricas en cisteínas que se unen a los metales. La albúmina y las MT brindan protección contra la toxicidad del Cd ya que limita su disponibilidad en las células y tejidos para que sea eliminado en la orina. La habilidad del Cd de inducir lesiones hepáticas y renales agrava sus

efectos tóxicos y lo hacen propenso a acumularse durante años (Thompson y Bannigan, 2008; King, MacDonald y Casey, 1997).

Los efectos adversos de este metal incluyen daño oxidativo en estos tejidos, signos de toxicidad como necrosis, disminución de tamaño y falla en sus funciones y han sido relacionados con la carcinogénesis en estos mismos órganos (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2012; Waalkes, 2000) y la exposición a este metal se asocia con enfermedades como el cáncer pulmonar y de próstata, insuficiencia renal, desórdenes cardiovasculares, alteraciones en el metabolismo de la vitamina C, trastornos gastrointestinales y hepáticos, entre otras (ATSDR, 2012; World Health Organization, 2010).

En el caso de las neuronas, el principal mecanismo de acción principal de este metal es la toxicidad que promueve el Cd a través de la inducción de muerte celular a través del estrés oxidante, liberación de Ca y especies reactivas de oxígeno), que son desencadenantes moleculares para controlar la función celular y activar la apoptosis (Figura 2) (Kukongviriyapan, Apaijit y Kukongviriyapan, 2016; Mendez-Armenta y Ríos, 2007).

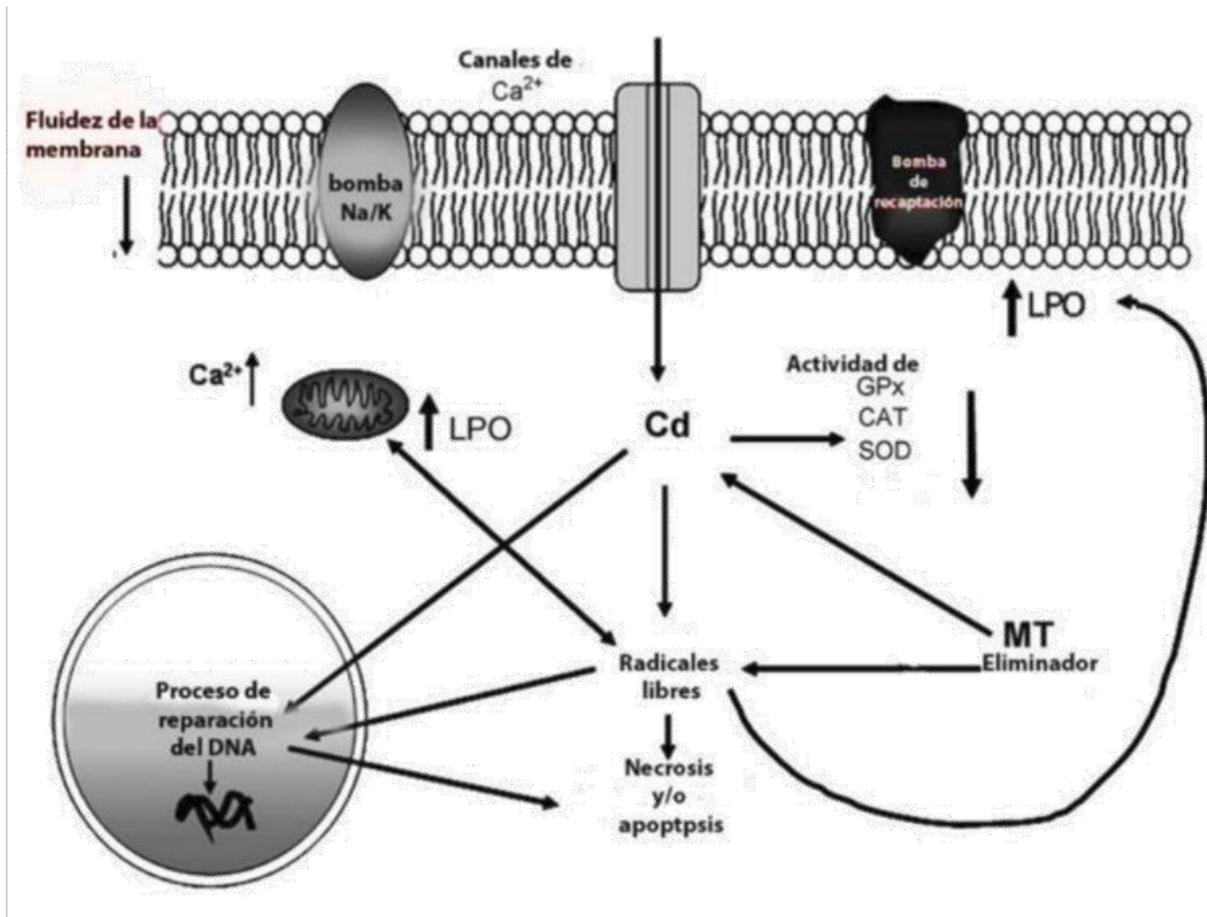


Figura 2. Efectos neurotóxicos del Cd. El ion Cd ingresa a la neurona a través de canales para Ca disminuyendo la actividad de enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GPX), catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD), lo que produce un aumento de radicales libres, con ello, aumentan los niveles de lipoperoxidación (LPO) induciendo apoptosis y/o necrosis. Por otra parte, los radicales libres promovidos por el Cd producen daño al DNA, mientras que las metalotioneínas (MT) se activan principalmente como eliminador de los radicales libres y Cd. (Tomado y modificado de Méndez-Armenta & Ríos, 2007).

Adicionalmente, el Cd puede establecer enlaces covalentes y formar complejos con proteínas como la MRP1, regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), metalotioneína (MT), megalina y cubulina, ya que son moléculas que contienen grupos sulfhidrilos, especialmente cisteína (Klassen *et al.*, 2004), alterando la función de las proteínas que la contienen de manera irreversible (Thompson y Bannigan, 2008; Zhou *et al.*, 2015).

Pubertad y madurez sexual

La pubertad se conoce como una etapa de transición hacia la madurez sexual que es regulada por el eje HHG. Uno de los modelos más utilizados para el estudio de la maduración sexual es la rata, ya que brinda múltiples ventajas, entre ellas, un ciclo de vida corto y procesos fisiológicos similares a los encontrados en humanos, este modelo animal ha sido ampliamente utilizado para indagar los mecanismos y procesos que subyacen a la maduración sexual. Entre tales aspectos figuran, de primera instancia, el desarrollo de los órganos reproductivos tanto en el macho como en la hembra (Arteaga-Silva *et al.*, 2015). Existen diversos indicadores de pubertad en la rata macho, desde el descenso testicular (DT) alrededor de los 15 días posnatal, hasta algunos cambios histológicos en los testículos, tales como la maduración de las espermatogonias, aparición de espermatozoides, etc. Además, existen cambios morfológicos, como la separación prepucial (SP) y patrones conductuales tales como el acicalamiento genital (AG) y las erecciones peneanas espontáneas (EPE), los cuales tienen lugar entre los días 42 y 49 de vida postnatal.

El DT es promovido por diversos factores de origen multifactorial con la finalidad de que el testículo baje al escroto. Se activa el eje HHG incrementando el patrón de liberación de gonadotropinas, aumentando la secreción de testosterona (T) en las células de Leydig, que junto al factor similar a la insulina 3 (INSL3) provocarán la involución del ligamento suspensor craneal y a su vez promoverán el crecimiento del gubernáculo que liberará al testículo de la región inguinal. La participación de los andrógenos sobre el descenso testicular hacia el escroto se encuentra bien documentada y se sabe que ocurre regularmente después del nacimiento, esta etapa concuerda con el aumento neonatal de las concentraciones de T (Couto-Moraes, Felicio y Bernardi, 2010).

La SP ocurre en la etapa peripuberal y se hace evidente cuando el prepucio comienza a retraerse gradualmente desde el día 41 al día 47 de vida, siendo el día 47 en donde se presenta la separación prepucial completa (Arteaga-Silva *et al.*, 2015; Hernández-González, 2000). El mecanismo de la separación prepucial no ha sido descrito, sin embargo, se sabe que es dependiente de andrógenos, ya que la

castración bloquea este acontecimiento y el tratamiento con T exógena o dihidrotestosterona (DHT) revierte el efecto de la castración (Yoshimura *et al.*, 2005).

El AG consiste en el lamido de los testículos, pene y región anogenital, esta conducta se presenta al inicio del destete y se incrementa en la pubertad, alcanzado su mayor manifestación a los 46 y 48 días de edad. La ocurrencia con que sucede el AG es regulada por las hormonas luteinizante (LH) y T. Estudios de nuestro grupo de investigación han determinado que el aumento en la concentración de T es importante para el proceso de maduración del tejido peneano, así mismo del despliegue de la conducta de acicalamiento genital (Arteaga-Silva *et al.*, 2013).

Las EPE son aquellas que ocurren en ratas peripuberales hospedadas de forma individual o en grupo, pero en ausencia de cualquier estímulo proveniente de una potencial pareja sexual (una hembra receptiva) y generalmente ocurren al final del AG, su pico de ocurrencia se da alrededor de los 47 días de edad (Hernández-González, 2000). En ratas macho prepúberes existe una estrecha relación entre las concentraciones de T circulante y el desarrollo de los reflejos peneanos, al igual que en ratas adultas; de tal forma que la ocurrencia y manifestación de los reflejos peneanos, así como los aspectos morfológicos y conductuales que están relacionados con la maduración sexual, son dependientes de T (Hull y Wood, 2006).

Conducta sexual y hormonas

La regulación de la conducta sexual resulta de la interacción de diversos sistemas, como el sistema nervioso, el endocrino y sistemas motores. Es por ello por lo que la evaluación de esta conducta resulta una herramienta conveniente para poder estudiar la interacción entre estos componentes. De esta forma, el desarrollo cerebral tiene una relación directa con la forma en la que se ejecuta la copula en los mamíferos (Arteaga *et al.*, 2010).

Una rata sexualmente madura será capaz de desplegar la CSM completa, la cual se define como una serie de eventos que tienen como función biológica la reproducción y preservación de la especie, se presenta al terminar la pubertad y es un indicio de madurez sexual en el individuo. Se pueden dividir en dos fases: la fase

motivacional se refiere a todas las conductas de cortejo para acceder a la hembra, dentro de éstas se encuentran la búsqueda, la persecución y así permitiendo el reconocimiento de la pareja a través de olfateo y exploración anogenital. Mientras que la fase consumatoria o de ejecución sexual se refiere a la cópula en sí, comprendida por montas, intromisiones y eyaculación. Específicamente, esta involucra estructuras espinales y encefálicas que controlan la ejecución de los fenómenos copulatorios como las respuestas de erección y movimientos peneanos, movimientos pélvicos y diversos ajustes posturales. Esta fase que se encuentra bien estudiada y por lo tanto, es sencilla de identificar (Arteaga-Silva *et al.*, 2015; Hull y Wood, 2006).

Para llevar a cabo los patrones conductuales de cópula, es necesario contar con tres componentes: motor, genital externo y genital interno. El componente motor es necesario para coordinar los músculos involucrados en la monta y los movimientos pélvicos copulatorios rítmicos; el componente genital externo es necesario para llevar a cabo la erección y la intromisión, ya que depende de respuestas vasculares y musculares; y finalmente, el componente genital interno participa en la emisión seminal y eyaculación, ya que su principal actividad es secretar y contraer los órganos para estas funciones (Moralí y Beyer, 1992), por otro lado, para que estas respuestas ocurran se requiere de la información sensorial proveniente de los mecanorreceptores del pene (Johnson, Kitchell y Gilanpour, 1986), los cuales se dividen en receptores de adaptación lenta, estos se encuentran en la parte distal del glande y tienen un umbral de estimulación bajo mientras que los receptores de adaptación rápida se encuentran en la región proximal del glande.

La inervación sensorial del pene es provista a través de una rama del nervio pudiendo, conocida como nervio dorsal del pene (NDP). La importancia de este nervio es el proceso de erección, el cual, depende de la especie (Coolen, 2005). En la rata, la sección de el NDP no afecta la erección en su totalidad, ya que las erecciones presentadas tienen una menor intensidad a diferencia de los controles.

Sin embargo, a pesar de que las montas están bien orientadas, los sujetos presentan pocas conductas de intromisión, así como de eyaculación (Larsson y Södersten, 1973).

Para el correcto despliegue de la CSM, es necesario el efecto de las hormonas sobre el sistema nervioso central desde antes del nacimiento. Los esteroides sexuales tienen dos efectos primordiales: el primero se denomina efecto organizacional donde la presencia de los esteroides sexuales en la etapa perinatal sobre el sustrato neural crea una remodelación en zonas cerebrales específicas. Por ejemplo, el desarrollo del testículo en la rata ocurre a mitad de la gestación, alrededor del día 12.5 gestacional (Plant, Zeleznik y O'Shaughnessy, 2015) y la testosterona fetal testicular alcanza su máxima concentración alrededor del día 17-19 de gestación en la rata, por lo que el tracto reproductor y las estructuras sexuales secundarias se desarrollan tarde en la gestación (Coder *et al.*, 2014). De modo que, tiempo después, en la pubertad, cuando el eje HHG entra en actividad, estas zonas responden a la presencia de los esteroides sexuales, lo que correspondería al efecto activacional (Arnold y Breedlove, 1985).

La CSM es activada por un incremento en las concentraciones de los andrógenos de origen testicular (DHT y T) (Crews y Silver 1992) y se sabe que para su despliegue es necesaria la presencia de tres sistemas: a) el sistema sensorial necesario para brindar la información de estímulos externos hacia el cerebro, por ejemplo el sistema vomeronasal y el bulbo olfatorio; b) el sistema nervioso central, necesario para llevar a cabo la integración de la información entre el medio interno y externo, como la amígdala medial, la corteza frontal, el hipotálamo, el área preóptica medial, el área tegmental ventral y la medula espinal y c) los sistemas muscular, glandular y nervioso autónomo, llamados también sistemas efectores para llevar a cabo una respuesta. Se sabe que las hormonas sexuales tienen efecto sobre estos sistemas, es por ello por lo que es posible presentar una conducta particular en una determinada situación. A partir de trabajos experimentales se concluyó que la restitución hormonal en animales castrados revierte el efecto sobre la conducta reproductiva en vertebrados, específicamente en animales de laboratorio se conoce en efecto de los esteroides sexuales en las conductas de motivación y consumación sexual (Nelson y Kriegsfeld, 2017). Dentro de los mamíferos no primates, los andrógenos son los principales responsables de la CSM,

incluyendo tanto la motivación como la consumación, como en el caso de la rata (Ubuka y Tsutsui, 2014).

IV. ANTECEDENTES

El Cd y sus efectos en la salud reproductiva

Se ha reportado que el Cd atraviesa sistemas de protección contra agentes tóxicos como la barrera hemato-encefálica (BHE) y principalmente en ratas neonatas y juveniles, en las que se desarrolla completamente a los 21 días posnatales, por lo cual en la etapa perinatal el sistema nervioso central se encuentra vulnerable ante la presencia de este metal (Montes *et al.*, 2015). Esto implica que en ratas que son expuestas a Cd en los días de vida posnatal 1 a 15 días de edad presentan mayor concentración de Cd en comparación con ratas expuestas a los 21 días (Montes *et al.*, 2015). En estudios realizados con hipófisis de rata se ha observado que aumenta la sensibilidad al Cd por parte de los gonadotropos (Arteaga-Silva *et al.*, 2015) y se interrumpe la producción de las hormonas de la adenohipófisis (LH y FSH) en ratas macho adultas tratadas con Cd (Ji *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2009).

En cuanto al efecto del Cd sobre las gónadas, se sabe que altera la función testicular dado que altas concentraciones de Cd en el fluido seminal se correlacionan con disminución en la concentración de T en plasma en la etapa perinatal (Ji *et al.*, 2011; Kim y Soh, 2009), lo cual afectará posteriormente la etapa activacional promovida por los andrógenos (Arteaga-Silva *et al.*, 2015; Lafuente *et al.*, 2004). En individuos expuestos directamente al metal se sabe que disminuye la concentración de espermatozoides (Wu *et al.*, 2008), y aumenta el porcentaje de espermatozoides inmóviles, muertos o con alteraciones en su morfología (Arteaga-Silva *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2003) sugiriendo que el Cd es la causa directa de las alteraciones en los parámetros seminales (Arteaga-Silva *et al.*, 2015).

También se tienen reportes de que el Cd se acumula en el testículo de ratas, causando la reducción del tamaño testicular (Senbel *et al.*, 2016, Thompson y Bannigan, 2008), produce lesión testicular acompañado de la pérdida acelerada de

las células germinales, a partir del epitelio seminífero, así como la pérdida de la integridad de la barrera hemato-testicular (BHT), daño en sus microvasos y la destrucción de los microfilamentos de las células de Sertoli, esto cuando se administraron de manera aguda 3 mg/Kg de CdCl₂ en ratas adultas (Hew, Heath y Jiwa, 1993). En el mismo sentido, se ha reportado que el Cd entra al epitelio del túbulo seminífero, atravesando la BHT en el testículo de ratones inmaduros por la vía del transportador de Zn (ZIP8), el cual está expresado en los linfocitos T y en las células de Sertoli, lo que produce disminución en la concentración espermática (Cheng *et al.*, 2011; Siu *et al.*, 2010), sugiriendo que el Cd induce la apoptosis en las células testiculares germinales asociada a la liberación del factor inductor de apoptosis (AIF) de la mitocondria al núcleo (Kim y Soh, 2009).

Previamente, estudios en ratas adultas, administrando dosis altas de Cd (4 mg/Kg) por 6 días continuos, vía intraperitoneal, se observaron efectos tóxicos en la morfología de los testículos, así como en la disminución en la concentración de T y de la actividad de las enzimas esteroidogénicas testiculares: 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-HSD) y 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-HSD), enzimas clave para la biosíntesis de T (Manna, Sinha y Sil, 2008). Por otro lado, se ha reportado, una disminución de la actividad de la enzima 17 beta-hidroxiesteroide oxidorreductasa (17-β-HSOR, responsable de biotransformar androstenediona a T) en células hepáticas de animales expuestos a Cd (Onatra, 1998; Pillai y Gupta, 2005).

Finalmente, los efectos del Cd se han descrito en humanos, donde se ha reportado que los hombres expuestos ocupacionalmente a este metal presentan una reducción en la secreción de FSH (Waalkes, 2000), directamente sobre la calidad seminal se han reportado disminución de la calidad espermática e incremento de espermatozoides inmóviles, adicionalmente, se ha reportado que el Cd produce daño oxidante en el ADN del espermatozoide, ligado al incremento en su concentración medida en el plasma seminal (Oliveira *et al.*, 2009, Xu *et al.*, 2003), es por ello que, en algunos países como Nigeria, se ha propuesto como una posible causa directa de la infertilidad masculina (Wu *et al.*, 2008).

Así también, estudios *in vitro* muestran que el Cd, administrado en bajas concentraciones, altera la supervivencia de las células de Sertoli humanas (Angenard *et al.*, 2010).

Distribución del Cd durante la preñez

Durante la preñez la absorción a través de los pulmones e intestino aumentan, explicado por los cambios fisiológicos que ocurren durante esta etapa, un claro ejemplo es el requerimiento de oxígeno, en este proceso se presenta un incremento en la ventilación y con ello aumenta el nivel de exposición a partículas de contaminantes en el aire; el volumen de líquidos en el cuerpo aumenta, así también del plasma sanguíneo, por consecuencia, ocurre una disminución en la concentración de proteínas, así como una redistribución de los líquidos en el cuerpo; la filtración por parte del riñón aumenta, y de esta manera se aumenta la captación de elementos contaminantes; se modifica la actividad de las enzimas metabolizantes en el hígado; además, el sistema digestivo se afecta ya que disminuye la motilidad y el pH gástrico se vuelve ácido, modificando la absorción (Costantine y Jong, 2014). También aumenta la frecuencia respiratoria, decremento en la motilidad gastrointestinal y disminuye el vaciamiento gástrico (Moya *et al.*, 2014). En el intestino es absorbido por DMT-1, canales de Ca, transportadores de aminoácidos y por endocitosis de las MT (Thévenod, 2010; Vesey, 2010).

Las deficiencias de Fe y/o Ca incrementan considerablemente la absorción de Cd en el organismo (Min *et al.*, 2015) específicamente la deficiencia de Fe se asocia con un incremento en la expresión de DMT-1 en el intestino (Leazer, Liu y Klaassen, 2002; Suzuki *et al.*, 2008, Kim *et al.*, 2007)

Por otro lado, las MT son importantes para la redistribución de Cd durante el último periodo de la gestación, se ha observado que, durante este tiempo, las concentraciones de Cd en el hígado disminuyeron y aumentaron en la placenta y los riñones, pero en ratas no gestantes, la cantidad de Cd en el hígado y riñones no presentaron diferencias (Chan y Cherian, 1993).

Se sabe que la madre gestante es un blanco vulnerable a los efectos del Cd, ya que este metal afecta la implantación causando perturbaciones sobre enzimas relacionadas con esta, tales como la catepsina D y la fosfatasa alcalina, por otro lado, este metal se relaciona con disminución en la progesterona, dificultando la implantación del blastocisto. (Blum *et al.*, 2012; Nampoothiri y Gupta 2008; Lee *et al.*, 2009)

Existe una relación entre la exposición al Cd y la preclamsia, en un estudio utilizando ratas Wistar expuestas a 0.125 mg/kg de Cd desde el día 9 al 14 gestacional, se confirmó que existe un incremento en la presión sistólica y proteinuria (Qing *et al.*, 2011), demostrando un modelo de preclamsia inducida por Cd; adicionalmente se han encontrado encuentran daños en la placenta causado por daño oxidativo al ADN (Zhang *et al.*, 2015).

Paso del Cd a través de la placenta y efectos en la gestación

En humanos, se sabe que el Cd en el embarazo causa diferentes cambios fisiológicos y bioquímicos que pueden afectar el metabolismo de la madre (Pillai y Gupta, 2005). En modelos animales como la rata hembras gestantes produce muerte embrionaria (embrio-letalidad) y fallo de la implantación, también está ligado a procesos patológicos en la preñez tardía y en el periodo temprano postnatal; sin embargo, esto depende del periodo y dosis de administración (Thompson y Bannigan, 2008).

Los metales pesados, al acumularse en los tejidos de la madre, afectan directamente al desarrollo del embrión (Cazan y Klerks, 2015). Se ha observado en estudios en rata con dosis de 10 mg/kg vía subcutánea administrado en los días 4, 7, 10 y 15 de gestación, encontrándose que las madres tratadas con Cd tenían camadas de entre 1 y 13 crías, siendo que el número promedio de crías va de 5 a 15 donde el grupo administrado a los 15 días presentó la mayor tasa de reabsorción, incluso con consecuencias teratogénicas (Diaz *et al.*, 2014)

Esto podría deberse en parte a que, durante la gestación, se ha demostrado que el Cd es retenido en la placenta, la cual actúa como una importante barrera ante

la exposición; sin embargo, su retención es parcial, pues el Cd puede atravesar la placenta y llegar al feto tanto en roedores (Webster, 1988) como en humanos (Korpela *et al.*, 1986). En placentas humanas, utilizando un lóbulo aislado de placentas postparto, la transferencia de Cd hacia el feto aparece en el lado fetal hasta después de 40 minutos después de iniciada la perfusión; una hora después, la concentración en el feto es de 1:20 en comparación con la de la madre (Boadi *et al.*, 1991). Si bien la placenta es el mayor filtro de metales pesados hacia el feto, existe una diferencia entre la transferencia de contaminantes en los primeros y los últimos días de gestación, ya que se ha demostrado que la tasa de transferencia de Cd aumenta proporcionalmente con la edad gestacional (Sonawane *et al.*, 1975).

Se desconoce el mecanismo molecular a través del cual el Cd llega al feto en desarrollo, sin embargo la expresión en la placenta de DMT-1 incrementa de manera dependiente al tiempo, ya que aumenta conforme avanza la gestación (Leazer, Liu y Klaassen, 2002); adicionado a este, el transportador TRPV6, también conocido como transportador de Ca de tipo 1 (CaT1), podría desempeñar un papel en la difusión de Cd en la placenta, ya que participa en la transportación de otros elementos divalentes (Kovacs *et al.*, 2011; Kovacs *et al.*, 2013); y finalmente, la megalina es conocida principalmente por participar en la reabsorción del Cd a través del complejo de MT en citotrofoblastos y sincitiotrofoblastos de humano (Storm *et al.*, 2016) y placenta de ratones (Burk *et al.*, 2013).

Se sabe que la exposición gestacional a Cd incrementa las concentraciones de corticosterona en la placenta y en el plasma de las madres y fetos, posiblemente frente a una baja en la actividad de la 11B-HSD2 en la placenta (Wang *et al.*, 2014; Ronco *et al.*, 2009) y que altas concentraciones de corticosteroides se asocian a la falta de crecimiento intrauterino, que así mismo induce a morbilidad perinatal y el desarrollo de ciertas enfermedades en la vida adulta relacionadas al desarrollo prenatal (Ronco *et al.*, 2009)

Dado que se ha demostrado que la exposición a Cd en el periodo crítico de diferenciación sexual en ratas (desde los días 13 al 17 de gestación) afecta las concentraciones de T en los machos (Ji *et al.*, 2011), impactando directamente en la diferenciación de las células de Leydig de la rata entre los días 12 y 19 después

de la fecundación (Llusiá y Tresguerres, 1996), donde la primera generación de estas células comienza al día 12 de gestación y en el día 19, justo antes del nacimiento; se produce un pico de andrógenos y la T es secretada principalmente para el desarrollo de las glándulas sexuales accesorias y del pene, así como para el DT (Guo-Xin, Qing-Quan y Ren-Shan, 2008). Sin embargo, cuando la administración de 3 mg/kg de Cd se da cuando la barrera hemato-placentaria (BHP) se encuentra madura (15 días de gestación) presenta efectos menos significativos (Kariyazono *et al.*, 2015).

También se sabe que dosis mayores a 2 mg/kg de Cd, por vía subcutánea y durante la gestación en roedores, produce fetotoxicidad y actúa como un potente teratógeno, provocando malformaciones en el tubo neural, en la región craneofacial, extremidades, tronco, vísceras y esqueleto axial en los fetos de rata, así como cambios en los testículos y número de fetos vivos (Díaz *et al.*, 2014; Thompson y Bannigan, 2008; Ji *et al.*, 2011; Salvatori *et al.*, 2004; Sonawane *et al.*, 1975).

Por otro lado, en estudios con ratas hembra tratadas diariamente con Cd (0.05 mg/kg de peso corporal), por vía subcutánea desde 7 días antes de la copula y hasta el día 21 posparto, no se encontraron diferencias significativas en el número de hembras gestantes, ni se presentaron diferencias en el peso y tamaño de las crías, debido a esto se concluye que la administración diaria, en bajas dosis desde el día de la concepción, es menos tóxica y, por lo tanto, tiene menores consecuencias en la reproducción de las crías, en comparación a la administración durante los días de la organogénesis o de la gestación tardía en ratas (Pillai y Gupta, 2005).

Cuando se inyectaron dosis de 0.5 mg/kg de CdCl₂ en los días 13 al 17 de gestación no se encontraron signos de toxicidad; sin embargo, los neonatos mostraron menor peso al nacer que el grupo control, de igual manera se presentó un menor peso de testículos y riñones en los individuos tratados prenatalmente con el metal; en el mismo estudio, se analizaron las concentraciones de T prenatal y se observaron significativamente menores en comparación al grupo control a los 18 días de gestación y a los 70 posnatales (Ji *et al.*, 2011).

También se ha demostrado que el Cd altera la expresión de 20 a 30 genes involucrados con el desarrollo del sistema nervioso, puede verse afectado el desarrollo del tubo neural, la mortalidad (reabsorciones) y reducción del tamaño fetal, entre otros, tras 12 horas de la exposición en ratones Swiss y C57BL/6J (Robinson *et al.*, 2009), mientras que en rata puede cruzar la BHE y acumularse en el cerebro de la camada tras una sola dosis durante la organogénesis tardía y una vez ahí, puede causar edema cerebral, resorción fetal y malformación fetal y placentaria (Trottier *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2016).

Se sabe que el riñón es un órgano blanco debido a su función depurativa, ya que mostró mayor concentración de Cd en individuos de 21 días de gestación que fueron expuestos desde el día 1 al 21 de gestación con 70 mg/L de CdCl₂ en agua de consumo (Enli *et al.*, 2010), por otro lado, una sola dosis intraperitoneal de 5 mg/kg en el día de gestación 10 causa edema glomerular en las crías (Román *et al.*, 2004), mientras que la exposición desde el día de gestación 8 al 20 vía inhalación provoca necrosis y degeneración tubular en los riñones de fetos de ratas Wistar de 21 días de gestación (Jacobo-Estrada *et al.*, 2017).

En estudios realizados en ratas Wistar preñadas iniciando la administración vía oral desde el día 20 de gestación y continuando hasta con esta hasta el día 1 posnatal de las crías, reportan una elevación de las concentraciones del metal en sangre alrededor del día 14 postnatal, posterior a un decremento, sin embargo, debido a su capacidad acumulativa, este tiende a concentrarse en el riñón con el paso del tiempo (Jacquillet *et al.*, 2007). Esto sugiere que la distribución del Cd en el cuerpo del feto es similar al que se encuentra en los animales adultos debido al patrón de síntesis de metalotioneínas (Webb y Cain, 1982) y de acuerdo a Jacobo-Estrada *et al.*, 2017 la distribución fetal del Cd en los organismos no cambia al utilizar otros modelos animales, tipos de sales, vía de administración o tiempo de exposición.

Efectos del Cd sobre la pubertad y CSM

Existen estudios en los que se ha analizado el efecto de la administración prenatal de Cd sobre algunos índices de la pubertad en ratas machos. Se ha

reportado que la administración de 10 y 20 mg de CdCl₂ por Kg de peso corporal, por vía subcutánea en madres gestantes el Cd afecta el descenso testicular de las crías; Couto-Moraes, Felicio y Bernardi en 2010 mencionan que el Cd provoca un retraso en este parámetro, mientras que Salvatori *et al.*, 2004 comenta que existe un adelanto en los individuos de madres tratadas. Sin embargo, no se han evaluado otros índices de pubertad como la separación prepucial y el acicalamiento genital, eventos necesarios para la reproducción en la etapa de madurez sexual. Por otro lado, en un estudio utilizando 1, 5 o 10 ppm de CdCl₂ disuelto en el agua de consumo de las madres, desde el día gestacional 0, se reporta que las crías machos no presentaron diferencias en el descenso testicular y la distancia anogenital, así como tampoco diferencias en la cantidad, movilidad espermática y concentraciones de T, debido a que estas concentraciones son consideradas muy bajas para tener efectos en la salud reproductiva (Luo *et al.*, 2015).

Se considera que la exposición a metales procedentes del ambiente pueden alterar la fisiología y conducta sexual del macho (Pollock y Machin, 2008) ya que en estudios realizados en ratas Wistar se demostró que los individuos adultos tratados con Cd presentan escasa motivación sexual en comparación con los sujetos control; así mismo se deteriora el despliegue de las conductas copulatorias, disminuyendo significativamente el número de eyaculaciones (NE) y la eficiencia copulatoria (*Hit rate*) (Arteaga-Silva *et al.*, 2015).

Por otro lado, se ha reportado que la exposición prenatal al Cd en dosis desde 10 mg/kg hasta 20 mg/kg administrado a hembras preñadas por vía subcutánea modifica la CSM en la progenie masculina, aumentando la latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), latencia de eyaculación (LE), número de montas (NM) e intromisiones (NI) (Salvatori *et al.*, 2004; Couto-Moraes *et al.*, 2012).

La maduración sexual es un aspecto poco estudiado en la progenie de ratas expuestas a Cd; aunque previamente se ha demostrado que afecta la ejecución sexual del macho tratado de manera posnatal (Arteaga-Silva *et al.*, 2015, Salvatori *et al.*, 2004).

V. JUSTIFICACIÓN

Uno de los objetivos finales de toda especie es heredar de manera exitosa sus características genéticas a través de la reproducción sexual, para lo cual es indispensable un correcto despliegue de la conducta sexual que les permita la supervivencia y preservación de la especie. Actualmente existe una gran cantidad de contaminantes ambientales derivados de la actividad antropogénica, tal es el caso del Cd, un metal pesado que ha demostrado afectar parámetros reproductivos en diferentes especies. Poco se sabe de los efectos de la exposición gestacional al Cd, ya que se desconocen muchos de sus efectos sobre la progenie masculina, específicamente aquellos asociados a la reproducción como el correcto desarrollo de la pubertad, el despliegue de la conducta sexual en la etapa adulta a los 90 días, así como alteraciones en los parámetros de calidad espermática que afectan la fertilidad del macho.

Este proyecto nos permite entender mejor el efecto del Cd sobre la pubertad y la madurez sexual de crías expuestas en etapa gestacional, y de esta manera, extrapolarse a las mujeres embarazadas y los efectos de este contaminante sobre los hijos varones que se encontraron expuestos en su etapa prenatal.

VI. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué efecto tendrá la exposición gestacional al Cd sobre la concentración de testosterona, y a su vez, sobre los índices de pubertad, la conducta sexual y la fertilidad en la descendencia masculina de la rata Wistar?

VII. HIPÓTESIS

Si el incremento en la concentración de Cd en el feto en desarrollo disminuye la concentración de testosterona, entonces modificará los parámetros de pubertad, conducta sexual y fertilidad.

VIII. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la exposición gestacional al Cd sobre los índices de pubertad y, durante la etapa adulta, las concentraciones de Cd y testosterona, la conducta sexual, los parámetros de calidad espermática y los índices de fertilidad de la descendencia masculina, en la rata Wistar.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Analizar el efecto de la administración prenatal de Cd sobre los índices de pubertad que constan del descenso testicular, la separación prepucial y el acicalamiento genital, en la descendencia masculina.

2) Determinar el efecto de la administración prenatal de Cd sobre la CSM y la fertilidad de la descendencia masculina, en la etapa adulta.

3) Evaluar el efecto de la administración prenatal de Cd sobre la concentración de testosterona, la distribución de Cd en diferentes tejidos, los parámetros de calidad espermática y los índices de fertilidad de la descendencia masculina, en la etapa adulta.

IX. MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron 20 ratas hembras Wistar, de cuatro meses de edad, las cuales previamente habían tenido un parto, con un peso promedio de 250 a 300 g (ver Figura 3). Cuando presentaron el estro natural, cada una fue colocada en presencia de un macho sexualmente experto y se les permitió la cópula hasta que los machos alcanzan tres eyaculaciones como mínimo. Se revisó la presencia del tapón vaginal para asegurar la eyaculación, por lo que a este día se le asignó el día 0 de gestación. Cada hembra fue separada en una caja individual y fueron mantenidas en ciclos invertidos de luz-oscuridad de 12:12 horas (luz de 8:00 a 20:00), con temperatura constante (24 °C) y con comida y agua *ad libitum*.

Todos los protocolos se realizaron de acuerdo con lo estipulado en los lineamientos aprobados por el "Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales del Bioterio de la UAM" y la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 denominada "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio".

-Tratamiento en hembras gestantes

Las hembras se dividieron en dos grupos de 10 animales cada uno, se inició el tratamiento a partir del día 11 hasta el 20 de gestación y a cada grupo se le administró vía intraperitoneal los siguientes tratamientos:

Grupo control: se administró 0.5 mL de solución salina (SS).

Grupo experimental: se administró 1 mg/Kg de peso de cloruro de Cd (CdCl_2), en 0.5 mL de SS una vez al día.

El tratamiento se aplicó vía intraperitoneal para tener certeza de las dosis administradas y evitar la propagación del contaminante en el área, equipos y materiales utilizados.

-Progenie

En los días cercanos al término de la gestación, se revisó a las hembras una vez al día poniendo particular atención a la hora del nacimiento de las crías, observándose que la mayoría de los nacimientos ocurrieron durante la fase de luz. Así también se realizó un conteo de hembras y machos por camada y se tomó registro de posibles disturbios ocurridos durante el parto. Al nacimiento, las crías fueron separadas por género (sexadas) y pesadas. Los machos de 21 días fueron destetados y colocados en jaulas colectivas, en las mismas condiciones que las hembras gestantes.

Se dejaron pasar 30 días a las madres y posteriormente se les realizó eutanasia por decapitación para disección de tejidos reproductivos (ovario derecho, útero, hígado, riñón derecho y sangre) para realizar cuantificación de Cd.

Registros conductuales para índices de pubertad

Descenso testicular (DT)

El descenso testicular se revisó diariamente a partir del día 12 de vida postnatal. Esta revisión se efectuó colocando a la rata en posición supina, ejerciendo una ligera presión del abdomen a la pelvis con los dedos. El parámetro por evaluar es el día de ocurrencia del descenso testicular.

Separación prepucial (SP)

La separación del prepucio se revisó diariamente a partir del día 30 de vida postnatal. Esta revisión se efectuó colocando a la rata en posición supina, haciendo una retracción del prepucio con los dedos, sin forzar ni ejercer presión. El parámetro por evaluar fue el día de ocurrencia de la separación, en su totalidad, de la superficie dorsal y aproximadamente la mitad de la superficie ventral del glande del pene.

Acicalamiento genital (AG)

Los animales se trasladaron a un cuarto de observación para los registros conductuales de AG y se efectuarán del día 42 al 49 postnatal, en intervalos de 15 minutos, cada tercer día, en las primeras 4 horas después del apagado de luces y en ausencia total de estímulos olfatorios, visuales o auditivos provenientes de ratas hembra. Los sujetos fueron observados en sus respectivas cajas por el experimentador, quien permaneció sentado a una distancia de aproximadamente 50 cm. Los parámetros para evaluar fueron la frecuencia y duración del AG, que incluye el lamido de testículos y del pene.

Evaluación de la CSM de la progenie

A los 3 meses de edad, los machos de ambos grupos fueron sometidos a pruebas de CSM (fase ejecutoria), donde se realizaron tres registros de la CSM con hembras receptivas (en estro inducido), en intervalos de 2 días. Esta prueba se

realizó durante la fase oscura del ciclo y bajo luz roja, en las primeras 4 horas del apagado de luz, siguiendo en protocolo de Ågmo, 1997.

El macho se colocó solo en un redondel de Plexiglás de 50 x 42 cm de base y 42 cm de altura, con piso de aserrín y se le dio 5 minutos de adaptación al lugar, posteriormente se introdujeron hembras receptivas en estro inducido (previamente inyectadas vía subcutánea con benzoato de estradiol [5 µg/ 0.05 mL] cada tercer día y progesterona [500 µg/50 µL] 4 h antes de la prueba). La sesión tuvo una duración de 30 minutos durante los cuales se registraron los siguientes parámetros:

- Latencia de monta (LM): Es el tiempo que transcurre desde que la hembra es introducida a la caja hasta que el macho realiza la primera monta de la serie copulatoria.

- Latencia de intromisión (LI): Es el tiempo que transcurre desde el ingreso de la hembra a la caja hasta que se da la primera intromisión de la primera serie copulatoria.

- Número de montas (NM): Es el número total de montas que ocurren antes de la eyaculación.

- Número de intromisiones (NI): Es el total de intromisiones que ejecuta la rata macho antes de la eyaculación.

- Latencia de eyaculación (LE): Es el tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta la eyaculación de esa serie copulatoria.

- Intervalo post-eyaculatorio (o periodo refractario) (IPE): Tiempo que transcurre desde la eyaculación hasta la primera intromisión de la segunda serie copulatoria.

- *Hit rate* (HR): Se calcula dividiendo el número total de intromisiones entre la sumatoria del número de montas e intromisiones ($HR = I/M+I$).

Evaluación de calidad espermática

Después de registrar la conducta sexual, los machos de ambos grupos fueron sometidos a evaluación de calidad espermática utilizando la descripción de la técnica por Lucio *et al* en 2009. Se anestesiaron con pentobarbital sódico (40 mg/kg

de peso corporal, vía intraperitoneal) para realizar eutanasia por decapitación, se realizó una extracción del epidídimo y se seleccionó la cola de éste para realizar un proceso de picado del mismo en solución salina (0.9%) a 37°C en tubo Eppendorf® de 1.5 mL, posteriormente se realizó un filtrado y se mantuvo a 37°C para su posterior análisis.

Parámetros de calidad espermática evaluados.

1. Concentración espermática. Para este procedimiento se cuentan tres campos al azar sobre un portaobjetos, donde se toma el promedio de estos valores para realizar una dilución y de esta manera facilitar el conteo, generalmente se realizan diluciones 1/5, 1/10, 1/20 o 1/50. Posteriormente, se agrega solución de formaldehído 10% con la finalidad de inmovilizar a los espermatozoides.

El conteo se realizó en cámara de Neubauer, agregando 10 µL de la muestra ya diluida y se procedió a contar los cuadros; para conocer la concentración por mililitro de muestra es necesario sumar el número de espermatozoides obtenido en las dos cámaras y multiplicar por la dilución y tomar en cuenta el número de cuadros contados en la cámara. El número de espermatozoides esta expresado en millones/mL.

2. Vitalidad. Para conocer la vitalidad el método más ampliamente utilizado es la tinción con eosina. El fundamento de esta técnica es que la membrana de las células muertas se vuelve permeable a la tinción, así se pueden diferenciar las células vivas de las muertas. Para la interpretación de los resultados se obtuvo el porcentaje de espermatozoides vivos, del total de 200 células contadas.

3. Morfología. La tinción de Papanicolaou permite observar alteraciones estructurales de los espermatozoides, como pueden ser gota citoplasmática, doble cabeza, doble flagelo y defectos de la pieza media.

Índice de Fertilidad

Posterior a las pruebas de CSM se utilizaron hembras en estro natural. Una vez realizadas 3 eyaculaciones por parte de cada macho, a las hembras se les

verificó la existencia del tapón vaginal y cercano a los 21 días de gestación se vigiló la ocurrencia del parto para registrar el número de crías nacidas vivas.

Cuantificación Cd en sangre y tejidos

Una vez realizados los registros de conducta y fertilidad, los sujetos fueron sometidos a eutanasia por decapitación previa anestesia con pentobarbital sódico (40 mg/kg) para obtener las muestras sanguíneas para los siguientes estudios:

Sangre: Se colectó 1 mL de sangre en tubos Vacutainer®, con EDTA, y se realizó la cuantificación de Cd por espectrofotometría de absorción atómica (310, Perkin Elmer, Norwalk, Connecticut, Estados Unidos,) con horno de grafito (HGA-600) y auto-muestreador (AJS-60, Perkin Elmer). Todo el material empleado fue inmerso por 24 h en una solución de ácido nítrico concentrado/agua desionizada 1:1 v/v y posteriormente fueron lavados con agua desionizada antes de ser utilizados, para evitar cualquier contaminación posible. Posteriormente, a cada una de las muestras de sangre de 200 µL se le adicionaron 800 µL de ácido nítrico al 30% (Merck, Edo. de México) y fueron centrifugados a 18 500 g por 15 minutos. Se colectará una alícuota de 100 µL del sobrenadante y será diluida 1:5 v/v con agua desionizada. Las muestras fueron analizadas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 228 nm.

Cuantificación de la concentración de Cd en tejidos:

Tejido obtenido de las madres: Para corroborar la presencia de Cd en tejidos de las madres, se realizó eutanasia por decapitación a 4 hembras controles y 4 tratadas a los 21 días posteriores al parto, se colectó sangre, ovario, útero hígado y riñón, donde constatar la presencia de altas concentraciones de Cd en los órganos antes mencionados.

Tejidos de progenie masculina: Después de la colecta de sangre, se tomó una muestra de aproximadamente 0.5 cm de los siguientes tejidos: hígado, riñón derecho, testículo derecho, vesícula seminal, próstata, pene, cabeza, cuerpo y cola del epidídimo. Estos se colocaron en una estufa de laboratorio a 60°C para su secado por 2 días, posteriormente se pesaron y fue agregado el peso multiplicado

por 25 equivalente en μL de ácido nítrico al 70% (Merck, Edo. de México) y colocados en baño maría por 10 minutos a 60°C para su digestión. Una vez que la muestra se desintegró totalmente, se realizó una dilución de 1:10 con agua desionizada y colocada en el automuestreador para su análisis.

Para cada análisis, se utilizaron estándares de control de calidad (NIST, Bovine liver 1377b) y curvas de calibración (construidas al adicionar cantidades conocidas de estándar de Cd; Merck, Darmstadt, Germany) al inicio y al término de las evaluaciones de las muestras para validar los resultados. El contenido de Cd en tejido fue determinado en unidades de $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) y en sangre fue expresado como $\mu\text{g}/\text{L}$ de sangre.

Cuantificación de testosterona en suero

Las muestras se colectaron en tubos con tapón separador para suero (BD Vacutainer SST, México, D.F.) y se separaron por centrifugación 15 minutos a 3000 rpm. La cuantificación de T se realizó mediante la técnica de ELISA en suero, se cuantificó utilizando un kit comercial (DRG® Free Testosterone EIA-2924, Estados Unidos).

El kit DRG Free Testosterone ELISA es un ensayo ligado a enzimas en fase sólida (ELISA), basado en principio de unión competitiva. Los pocillos de microtitulación están recubiertos con un anticuerpo dirigido hacia un sitio antigénico en la molécula de T. La T libre endógena de una muestra compite con un conjugado de T-peroxidasa de rábano picante para unirse al anticuerpo recubierto. Después de la incubación, el conjugado no unido se elimina por lavado. La cantidad de conjugado de peroxidasa unida es inversamente proporcional a la concentración de T libre en la muestra. Después de la adición de la solución de sustrato, la intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de T libre en la muestra, esto se cuantificó mediante una curva estándar.

Análisis estadístico

Los parámetros de separación prepucial, descenso testicular, frecuencia y latencias en la CSM, parámetros de calidad espermática y concentraciones de T fueron analizados por medio del análisis pareado de una prueba para grupos independientes con “t de Student”.

Se realizó la prueba Chi cuadrada (χ^2) en los porcentajes de machos que presentaron acicalamiento genital, así como aquellos que lograron eyaculación y fertilidad.

Las concentraciones de Cd se realizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney para grupos independientes.

Todos los valores de p fueron considerados significativos cuando fueron menores a 0.05. A todas las pruebas se les realizó una prueba de Levene para evaluar la igualdad de las varianzas, así como una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

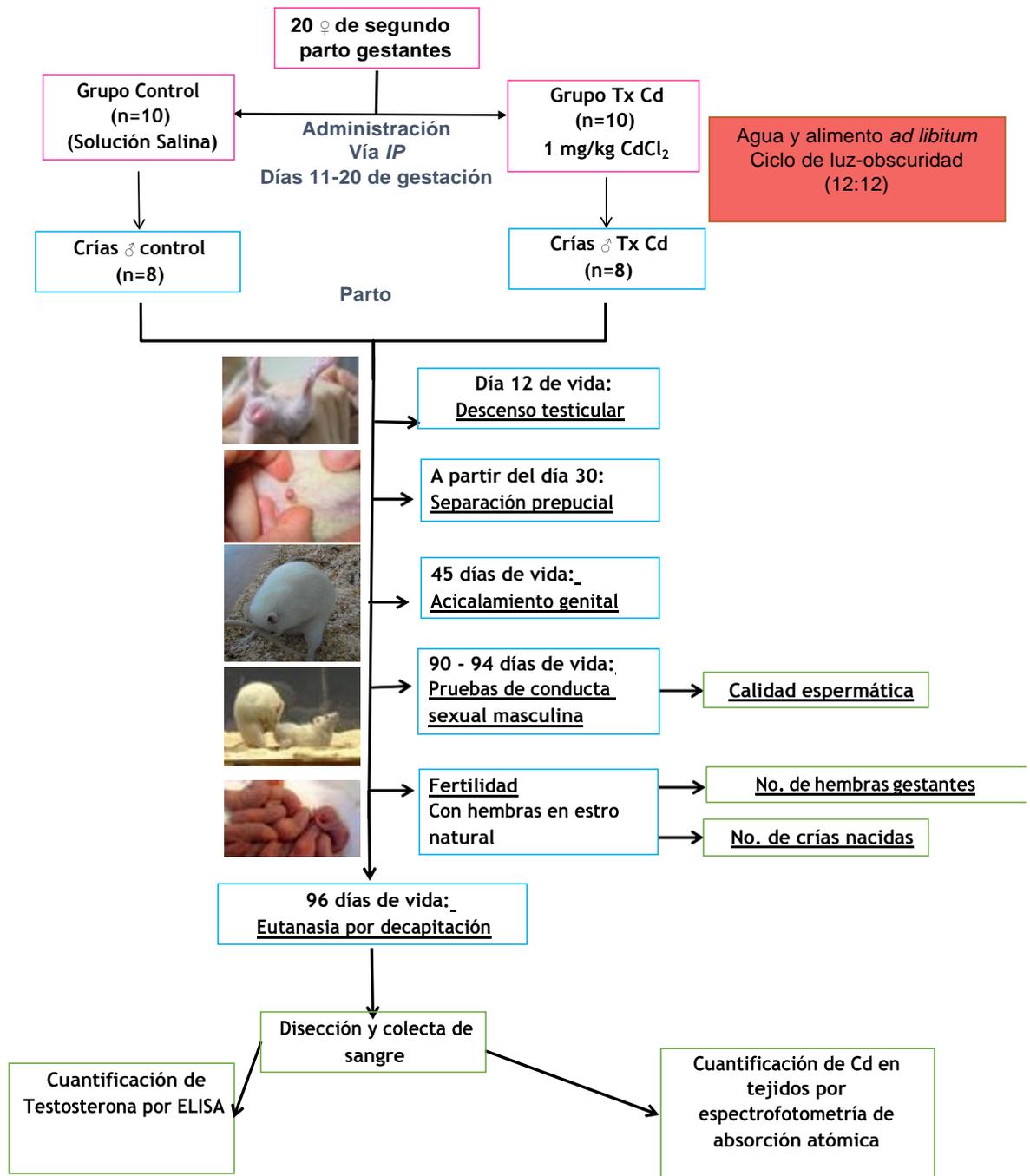


Figura 3. Diseño experimental del proyecto donde se administró CdCl₂ a hembras preñadas desde el 11-20 de gestación y se observó el efecto sobre las crías macho en los índices de pubertad, y en su adultez, sobre la CSM y fertilidad.

X. RESULTADOS

Nacimientos

Transcurridos los 21 días de gestación se observaron partos a término en el grupo control, presentando una media de 13.7 crías por camada en una proporción de 6.6 ± 0.96 machos y 7.1 ± 0.87 hembras (Figura 4). Esto difiere del grupo tratado con Cd, ya que solamente la mitad de las madres tratadas presentaron parto a término con crías vivas, donde la media por camada fue de 2.4 crías (1.1 ± 1.37 machos y 1.3 ± 1.76 hembras) ($p < 0.0001$), mostrando una diferencia significativa del grupo tratado respecto al grupo control.

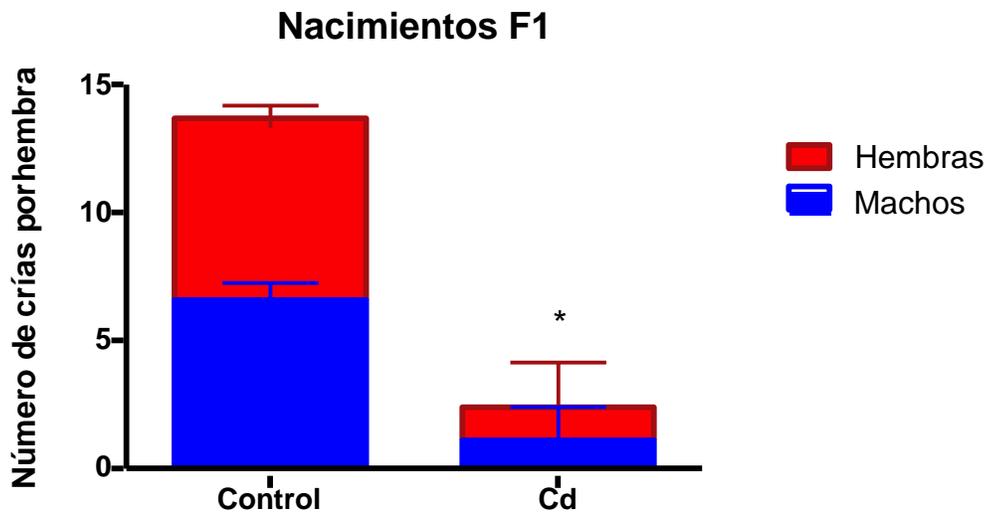


Figura 4. Número de crías nacidas por camadas de madres controles y tratadas con Cd. El número de individuos por camada del grupo experimental (Cd) disminuye en relación al tratado con el vehículo (control) ($p < 0.0001$). Media \pm SD. t de Student.

Índices de pubertad

Se evaluó el día de ocurrencia del DT, el cual se presentó en el grupo control de manera completa a los 19.18 ± 0.3 días, por otro lado, el grupo experimental tuvo una ocurrencia posterior, siendo a los 22.45 ± 0.3 días, presentando así una diferencia significativa ($p < 0.0001$), esto demuestra que la administración de Cd en la etapa prenatal provoca un retraso significativo de tres días en el periodo de descenso testicular (Figura 5).

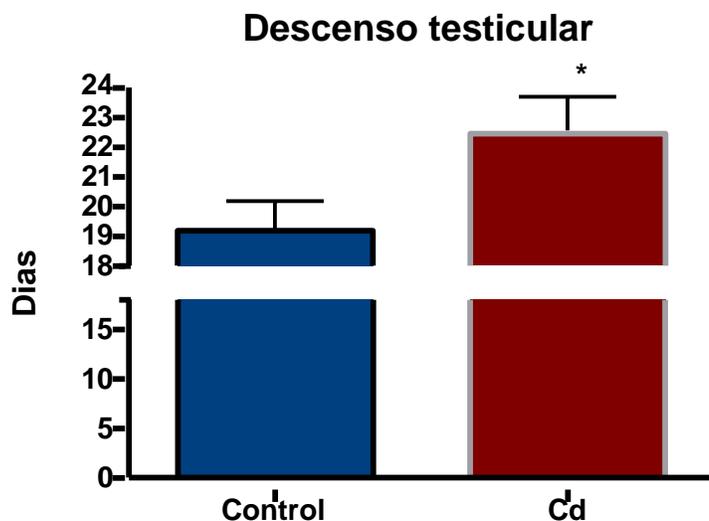


Figura 5. Se registró el día de ocurrencia del DT en los sujetos del grupo control y el grupo tratado prenatalmente con Cd donde se observa el retraso significativo en el grupo experimental (Cd) con respecto al grupo control * $p < 0.0001$. Media \pm SD. t de Student.

Posteriormente, se evaluó la SP en ratas machos expuestas a Cd durante la gestación, y en la Figura 6 se observa un retraso en los días de ocurrencia de la SP ($p < 0.0001$). En el grupo control se presenta una SP completa alrededor del día 40 (40.55 ± 0.4), mientras que, en el grupo tratado con Cd, este ocurre en días posteriores, alrededor del día 43 (43.18 ± 0.3).

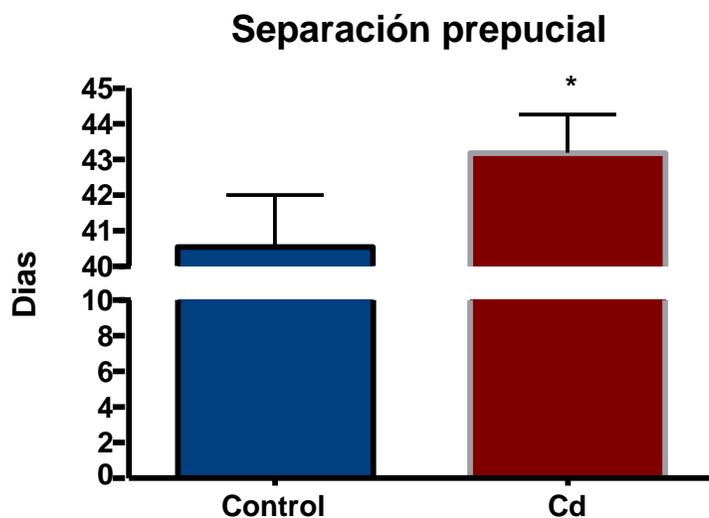


Figura 6. La SP es un parámetro dentro de los índices de pubertad que se presentó con retraso significativo el grupo tratado prenatalmente con Cd con una * $p < 0.0001$ respecto al grupo control.

Media \pm SD. "t de Student".

En la Figura 7 se muestra el porcentaje de sujetos que presentan la conducta de AG, la cual se observó en 9 de los 11 sujetos experimentales (82%), mientras que el total de los sujetos controles presentan esta conducta.

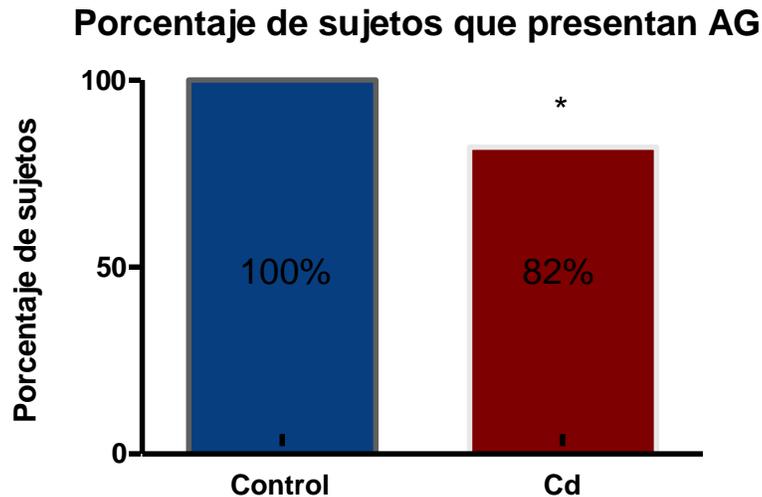


Figura 7. Porcentajes de la conducta de AG durante una prueba de 15 minutos en ambos grupos. Se observa que 18% de los sujetos del grupo tratado con Cd no despliega esta conducta, en contraste al grupo control donde se presenta en todos los individuos. * $p < 0.0001$. Moda, Chi-cuadrada.

Conducta sexual masculina

Una vez que los animales cumplieron 90 días se realizaron las pruebas de CSM, donde se tomó de referencia la primera serie copulatoria de la tercera prueba de conducta a los 96 días, cabe mencionar que las LM y LI son datos de todos los individuos evaluados, mientras que el resto de los parámetros solamente se evaluaron en aquellos individuos que lograron al menos una serie copulatoria completa (4 en el grupo experimental y 7 en el grupo control).

En la figura 8 se observa una LM de 233.3 ± 96.01 segundos en el grupo control, mientras que el grupo tratado presentó un tiempo de 26.78 ± 7.7 segundos, mostrando una diferencia significativa con una $p=0.01$. En cuanto al NM, el grupo control mostró una media de 2.03 ± 0.57 mientras que el grupo tratado es de 14 ± 3.5 , exponiendo una diferencia significativa con una $p= 0.0005$.

En cuanto a la LI encontramos un valor de 350.8 ± 90.68 segundos para el grupo control, y en el grupo tratado una media de 63.50 ± 18.46 segundos, mostrando una diferencia significativa de $p=0.0038$. En el NI se observa una diferencia significativa de $p=0.0372$, ya que el grupo control presenta una media de 7.71 ± 1.28 , mientras que en el grupo tratado fue 16.2 ± 3.8 .

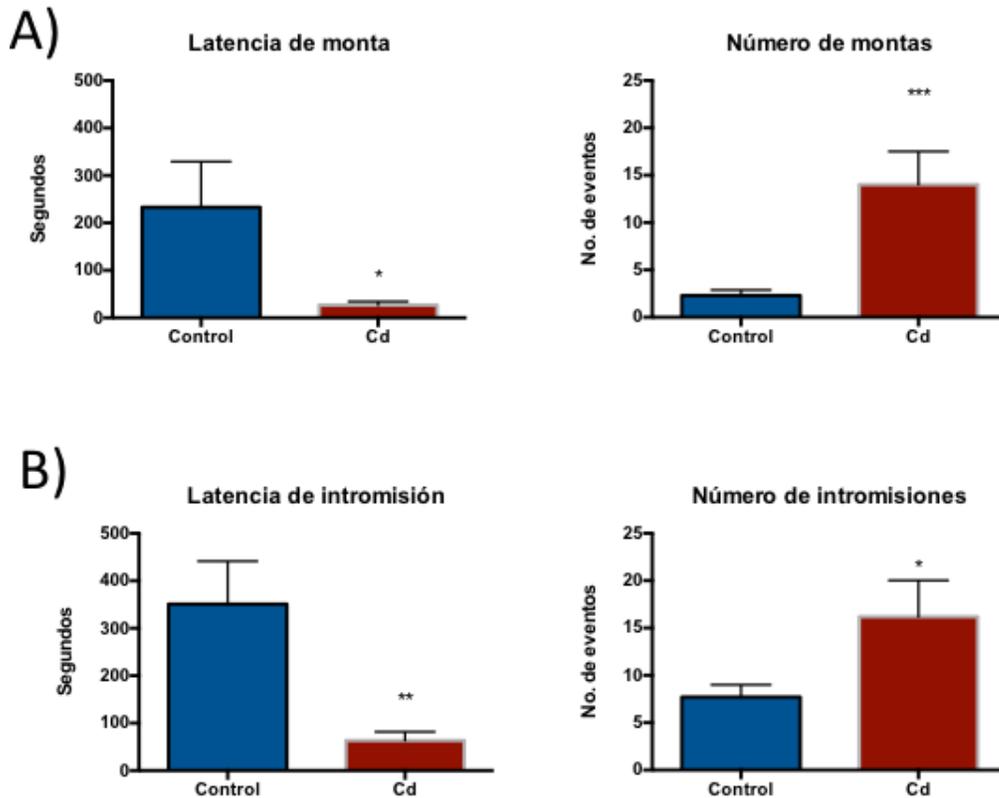


Figura 8. Se exhiben los parámetros para latencias y montas. A) Muestra la media \pm SEM de la LM y NM, en el grupo tratado observamos una disminución en la LM y un aumento en el NM con respecto al grupo control. B) Media \pm SEM de la LI y NI, donde se observa en el grupo tratado una LI menor, así como un aumento en el NI con respecto al grupo control. * $p < 0.05$. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. “t de Student”.

En la figura 9 podemos destacar que el porcentaje de sujetos que lograron una serie copulatoria completa solamente fue del 50% en el grupo tratado, mientras

que en grupo control fue del 88%, con una diferencia significativa de $p=0.0001$. Al continuar con la prueba, no se observaron diferencias en el NE; en cuanto a la LE, esta fue de 465.7 ± 84.75 en el grupo control, mientras que en el grupo tratado se fue de 813.3 ± 90.57 , mostrando una diferencia significativa con respecto al grupo control ($p=0.0151$). El IPE presentó una media en el grupo control de 292.2 ± 72.05 , mientras que en el grupo tratado fue de 505.8 ± 117.7 , con una diferencia significativa de $p=0.0048$.

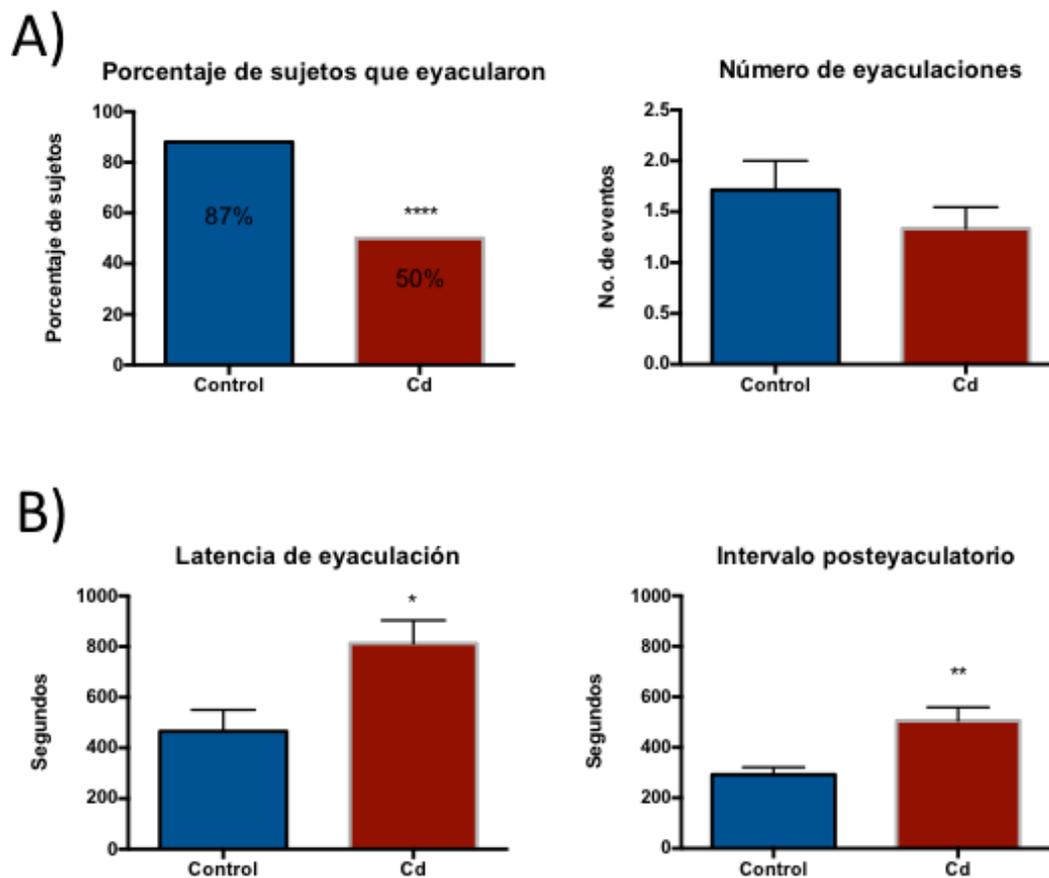


Figura 9. Parámetros de eyaculación e intervalo posteyaculatorio. A) Porcentaje de sujetos que eyacularon por grupo, donde se observa una disminución en el grupo tratado; después, se graficaron solamente aquellos sujetos que lograron eyacular para la evaluación de NE, donde se demuestra que no existe diferencia significativa en el número de eyaculaciones. Media \pm SEM. B) En cuanto a la LE e IPE, se exhibe un retraso del grupo experimental con respecto al grupo control en ambos parámetros. Media \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$. "t de Student".

Finalmente, en la figura 10 se muestra un HR menor en el grupo tratado, con una media de 0.43 ± 0.06 , a diferencia del grupo control con 0.77 ± 0.3 con una diferencia significativa de $p=0.0007$.

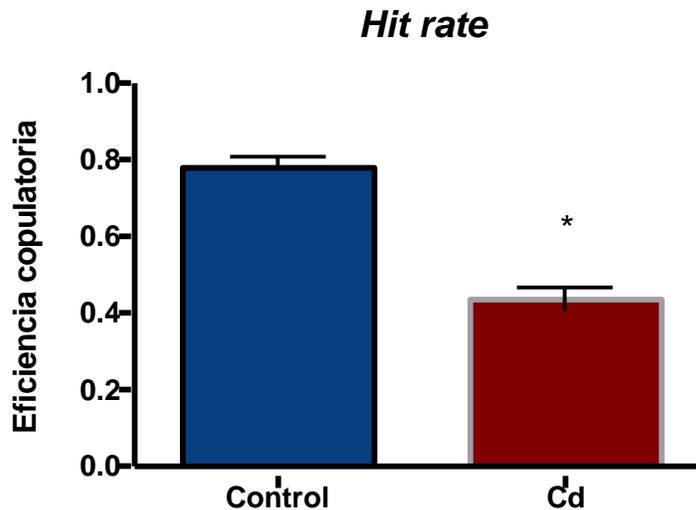


Figura 10. Se muestra la eficiencia copulatoria o *hit rate* de la tercera prueba de CSM donde se observa una eficiencia disminuida en el grupo control mostrando una diferencia significativa $*p < 0.001$. "t de Student".

Parámetros espermáticos

Posteriormente, se evaluaron los parámetros espermáticos de espermatozoides tomados de la cola del epidídimo, donde se encontraron alteraciones en todos los parámetros evaluados en el grupo de exposición al metal, ya que se observó una concentración de 101.3 ± 9.2 millones de espermatozoides por mililitro en el grupo control, mientras que la media fue de 73.5 ± 1.37 en el grupo tratado con una diferencia significativa de $p=0.0041$ al comparar con el grupo control (Figura 11), de la misma manera, el porcentaje de espermatozoides vivos en el grupo experimental fue de 87.25 ± 5.9 , mientras que en el grupo control fue de 95 ± 0.81 tando un diferencia significativa con respecto al grupo control con una p de 0.0207 (Figura 12).

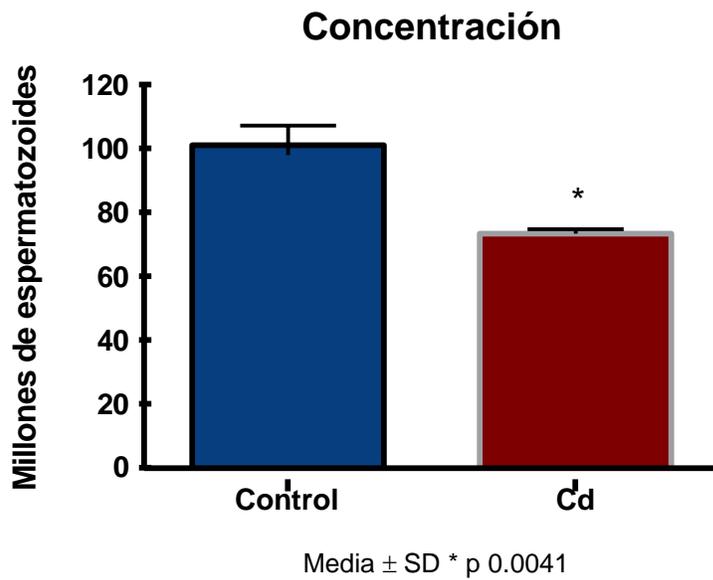


Figura 11. Se muestra la concentración espermática de ambos grupos, donde el grupo tratado con Cd presenta una diferencia significativa de $p=0.0041$ con respecto al grupo control. Media \pm SD, “t de Student”.

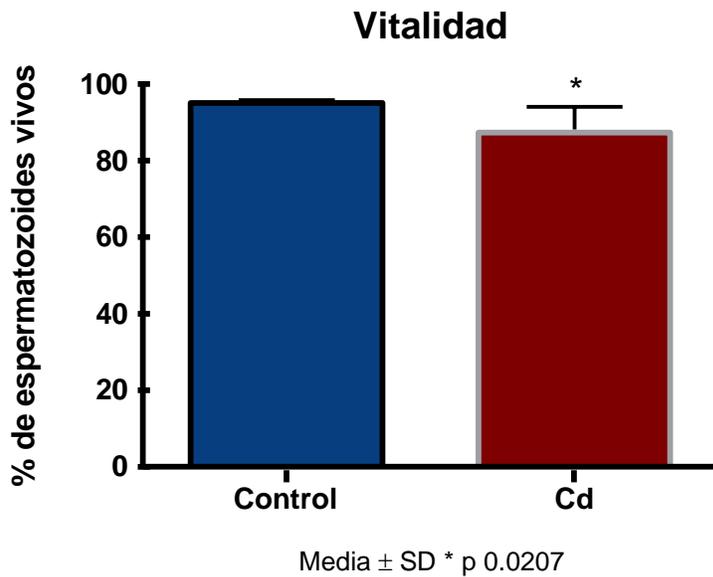


Figura 12. Se observa el porcentaje de vitalidad de ambos grupos, donde el grupo tratado presenta una disminución en contraste al grupo control, con una $p=0.0207$. Media \pm SD. Chi-Cuadrada.

Figura 12. Se observa el porcentaje de vitalidad de ambos grupos, donde el grupo tratado presenta una disminución en contraste al grupo control, con una $p=0.0207$. Media \pm SD. Chi-Cuadrada.

Finalmente, en la Figura 13 podemos notar una baja cantidad de espermatozoides normales en el grupo experimental, que presentó un 49% de espermatozoides normozoospermicos, a comparación del grupo control con un 82%, con una $p < 0.0001$.

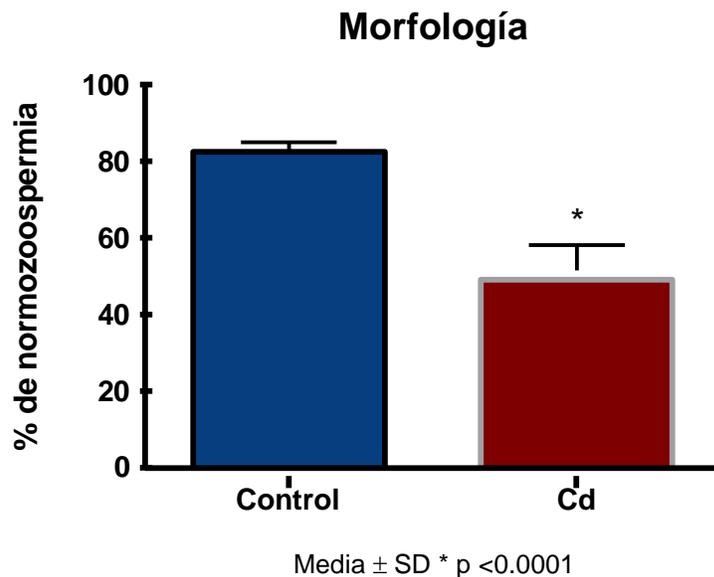


Figura 13. Se presenta en el porcentaje de normozoospermia, donde el grupo tratado presenta menor porcentaje de espermatozoides con morfología normal y una diferencia significativa de $p = < 0.0001$ con respecto al grupo control. Media \pm SD Chi-Cuadrada.

En la figura 14 se presentan algunos de los defectos morfológicos encontrados en ratas de 96 días tratadas prenatalmente con Cd. Se observaron principalmente defectos de cabeza, pieza media y flagelo.

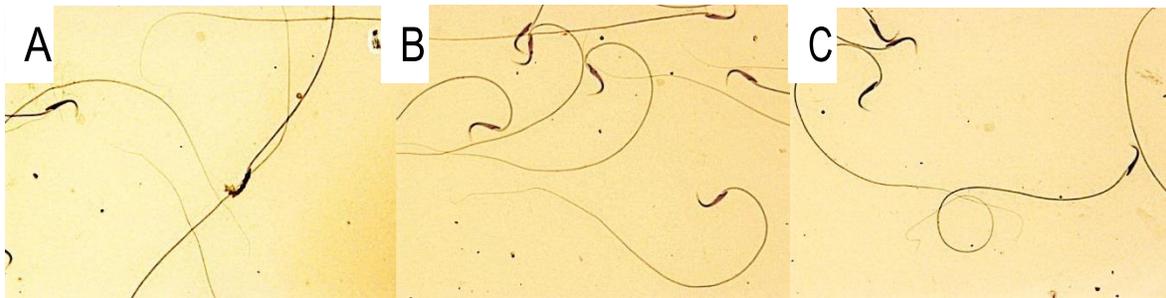


Figura 14. Teratozoospermia observada en los espermatozoides de rata tratadas prenatalmente con Cd. 100X. A) Defecto de cabeza B) Defecto de pieza media C) Defecto de flagelo

Concentraciones de T

El grupo expuesto al Cd presentó disminución en la concentración sérica de T libre a los 96 días de vida (Figura 15), con una media de 2.6 ± 1.2 ng/dL, mientras que el grupo control presentó una media de 7.75 ± 2.19 ng/dL, donde el tratado disminuyó de manera significativa $p=0.0001$ con respecto al grupo control.

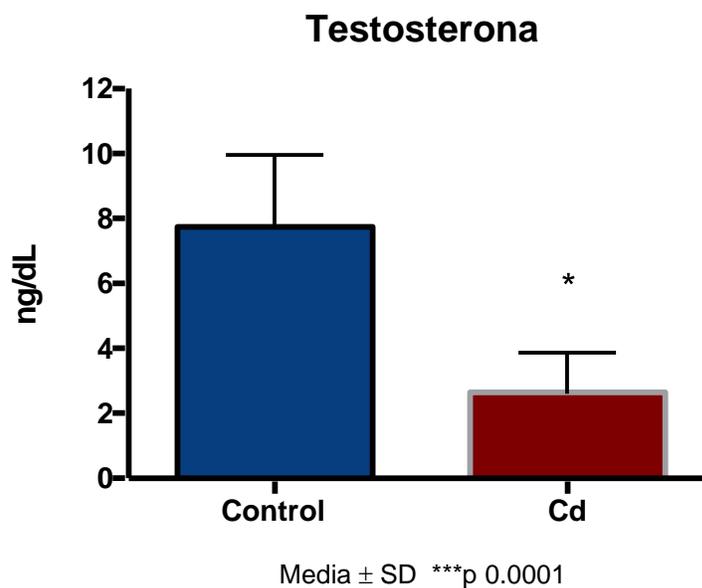


Figura 15. Representación gráfica de la concentración de T en suero de sujetos del grupo control y el grupo tratado prenatalmente con Cd, donde se observa una disminución en el grupo tratado ($p=0.0001$). Media \pm SD $p=0.0001$ "t de Student".

Concentraciones de Cd

Las concentraciones de Cd en tejido y sangre de las madres tratadas y control se presentan en la Tabla 1, esto con la finalidad de corroborar el paso del metal a través de la madre, por lo que se exhiben las concentraciones del metal en las madres tratadas gestacionalmente. En la Tabla 2 se muestra la acumulación del metal en los sujetos expuestos indirectamente de manera gestacional, donde podemos apreciar que, en ambas tablas, se encuentran valores más altos en el grupo experimental (entre 4 y 7 veces). En general, se encontraron altas concentraciones de Cd, particularmente en el riñón más de 7 veces.

Tabla 1. Concentraciones de Cd en órganos reproductivos y sangre de madres control (n=4) y Cd (n=4). U-Mann-Whitney.

Tejido de madres		CONTROL (n=4) x±SEM	Cd 1 mg/kg(n=4) x±SEM	Valor P
µg/Kg de Tejido (+0.07)	Ovario	0.5067 ± 0.0924	2.182 ± 0.3884*	0.0156
	Utero	0.4967 ± 0.0260	2.477 ± 0.1022****	< 0.0001
	Hígado	0.4861 ± 0.2242	2.629 ± 0.6856*	0.0411
	Riñón	0.3033 ± 0.0426	2.125 ± 0.0854****	< 0.0001
µg/dL	Sangre	0.0 ± 0.0	2.446 ± 0.937*	0.0401

Tabla 2. Concentraciones de Cd en órganos y sangre de machos de 96 días control y tratados gestacionalmente. U-Mann-Whitney.

TEJIDO		CONTROL (n=8) x±SEM	Cd 1 mg/kg(n=8) x±SEM	Valor P
µg/Kg de Tejido	Testículo	0.0051 ± 0.0008	0.0608 ± 0.0285***	0.0002
	Ep. Cabeza	0.0143 ± 0.0029	0.0534 ± 0.0105**	0.0036
	Ep. Cuerpo	0.0048 ± 0.0013	0.0320 ± 0.0070**	0.0012
	Ep. Cola	0.0011 ± 0.0008	0.0204 ± 0.0067***	0.0002
	Vesícula seminal	0.0094 ± 0.0009	0.0334 ± 0.0047***	0.0002

	Próstata	0.0116 ± 0.002	0.0688 ± 0.0194**	0.0028
	Hígado	0.0138 ± 0.0019	0.0844 ± 0.0260***	0.0002
	Riñón	0.0256 ± 0.0093	0.1184 ± 0.0225****	< 0.0001
	Pene	0.0024 ± 0.0010	0.0400 ± 0.0104***	0.0002
µg/dL	Sangre	0±0	0.1122 ± 0.0369**	0.0013

Fertilidad

En la Figura 16 se observa la fertilidad de individuos tratados gestacionalmente (F1) y control. Las camadas (F2) del grupo control presenta camadas con una media de 6.7±0.9 machos y 6.5±1.1 hembras, mientras que la camada del grupo tratado presenta una media de 4.8 ± 3.4 machos y 4.5 ± 3.6 hembras, con una diferencia significativa de p=0.0458 con respecto a los controles. Ambos grupos conservan una distribución homogénea en el género de las crías.

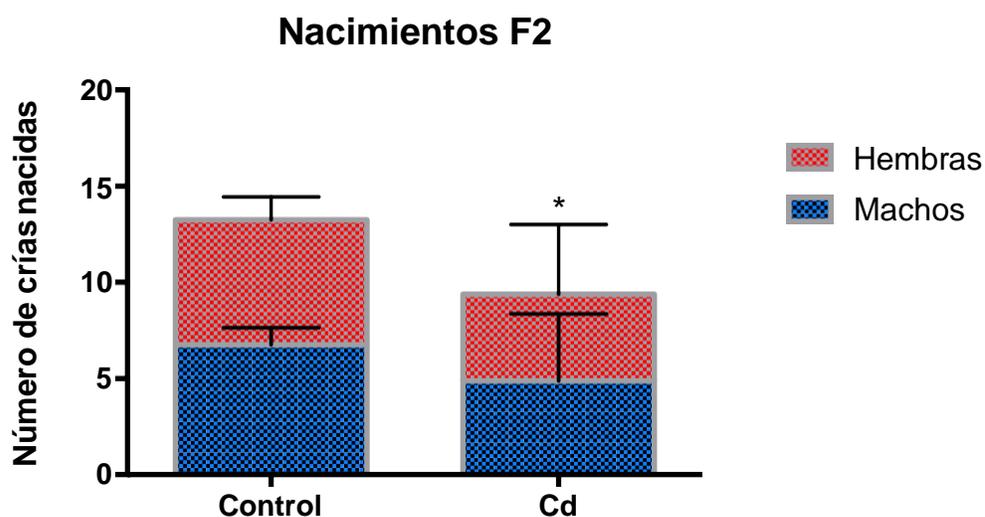


Figura 16. Se grafica el número de crías nacidas por camadas de madres intactas y padres tratados prenatalmente con Cd, donde observamos menor número en el grupo tratado, mostrando una diferencia significativa (* p=0.0458) con respecto al grupo control. Media ± SD. t de Student.

XI. DISCUSIÓN

La gestación es un periodo donde las hembras presentan cambios anatómicos y fisiológicos en prácticamente todos los órganos, como aumento del volumen sanguíneo y presión sanguínea, disminución en la motilidad gástrica, aumento en la filtración glomerular, hiperventilación y cambios en la osmorregulación que modifican la absorción y excreción de sustancias (Costantine y Jong, 2014; Moya *et al.*, 2014).

Durante este periodo las mujeres embarazadas resultan vulnerables a la exposición a Cd que se encuentra en el humo de tabaco, alimentos y agua contaminada, entre otros; su bioacumulación ha sido reportada en diversos estudios particularmente en hembras gestantes de roedores (Jacobo-Estrada *et al.*, 2017; Ji *et al.*, 2011; Kariyazono *et al.*, 2015) y humanos (Angenard *et al.*, 2010; Boadi *et al.*, 1991).

En nuestro trabajo pudimos encontrar altas concentraciones de Cd en las madres, sobre todo en los tejidos reproductivos, así como en hígado y riñones siendo coherente con lo reportado por la ATSDR, 2012 y World Health Organization, 2010. Tomando en consideración las dosis administradas en diversos trabajos (Cazan y Klerks, 2015; Diaz *et al.*, 2014; Guo-Xin, Qing-Quan y Ren-Shan, 2008; Ji *et al.*, 2011; Salvatori *et al.*, 2004; Sonawane *et al.*, 1975 y Thompson y Bannigan, 2008), proponemos que la dosis de 1 mg/kg de CdCl₂, administrada en este proyecto puede estimarse como baja en comparación a otros estudios realizados y, por lo tanto, puede considerarse como factible para la emulación de un ambiente real,recapitulando lo mencionado por Jacobo-Estrada *et al.*, 2017 donde mencona que la de Cd fetal no se ve modificada por el tipo de sales o vía de exposición.

Con estos resultados se sugiere que la administración de Cd durante la gestación promueve disminución en el número de crías en la madre, y además produce efectos en las crías nacidas, provocando un retraso sobre los parámetros de pubertad como DT, SP y AG. Por otro lado, durante la madurez sexual de la rata macho, disminuye la eficiencia copulatoria ya que se observa aumento en el NM y NI y disminuye el NE, asimismo aumenta la LE y el IPE, coincidiendo con

acompañado de una disminución en las LM y LI, además la concentración de T se observó disminuida, contribuyendo a las modificaciones presentadas en índices de pubertad y CSM.

Se observó una baja concentración y vitalidad de espermatozoides epididimales, así como alteraciones morfológicas, pudo afectar directamente a la fertilidad de estos machos, ya que presentaron camadas más pequeñas.

Se sabe que el Cd atraviesa la placenta sobre todo en los últimos días de gestación (Leazer, Liu y Klaassen, 2002; Sonawane *et al.*, 1975) y de igual manera en ella se concentran una gran cantidad de MT y transportadores de metales (DMT-1, CaT1) que facilitan el paso de metal al embrión conforme avanza la edad gestacional (Leazer, Liu y Klaassen, 2002; Kovacs *et al.*, 2011; Kovacs *et al.*, 2013). Diversos estudios mencionan que este metal afecta directamente al desarrollo del embrión, desde fallas de implantación hasta malformaciones en los individuos (Salvatori *et al.*, 2004; Díaz *et al.*, 2014). En este contexto, nuestros resultados muestran que el grupo tratado con Cd presenta un menor número de crías por camada, mostrando una diferencia significativa respecto al grupo control, coincidiendo con en el estudio de Díaz *et al.*, 2014, donde se administró una sola dosis de 10 mg/kg a distintos grupos en los días 4,7,10 y 15. Este este ultimo grupo coincide con nuestros días de administracion, y en este grupo se presentó 40% de reabsorción de la camada y se reporta menor número de crías vivas en las madres tratadas, por lo que consideramos que podría estar ocurriendo de manera similar en este proyecto; lo cual implica que el Cd tiene efectos sobre el sostenimiento de la preñez y aumentan sus efectos en relacion directa con los días de exposición y por lo tanto, el esquema de tratamiento que nosotros manejamos en este trabajo puede tener mayores efectos a los reportados y disminuir el número de crías nacidas.

Adicionalmente, se sabe que el Cd interfiere sobre la producción de las enzimas catepsina-D y fosfatasa alcalina, necesarias para la implantación en el endometrio uterino. Del mismo modo, la exposición a Cd disminuye la concentración de progesterona necesaria para el sostenimiento de la preñez, (Blum *et al.*, 2012; Nampoothiri y Gupta 2008; Lee *et al.*, 2009), podemos agregar que otro factor que posiblemente influyó sobre el tamaño de la camada durante el tratamiento con el

metal, fue la acumulación del metal en el riñón, pudiendo afectar a las glándulas adrenales, que si bien no fue analizado en el presente trabajo, la bibliografía menciona que el Cd aumenta en las concentraciones de corticosterona (análogo al cortisol en humanos) de la madre, se propone que el Cd promueve un aumento de corticosterona sérica activando al eje hipófisis-adrenal y de esta manera, la presencia del metal promueve la liberación de glucocorticoides en la glándula suprarrenal (Ronco *et al.*, 2009). También se sabe que el Cd disminuye la actividad de la enzima 11 β -HSD2 (necesaria para inactivar la corticosterona/cortisol materno a cortisona) en la placenta (Wang *et al.*, 2014; Ronco *et al.*, 2009).

En estudios realizados con progenie expuesta a Cd de manera gestacional no se reportan las concentraciones del metal exactas encontradas en los órganos estudiados. A este respecto, el grupo tratado en el presente estudio presentó una mayor absorción del metal en el riñón, hígado y testículo, coincidiendo con lo citado por diferentes organizaciones (ATSDR, 2012 y World Health Organization, 2010). Esto refuerza la idea de que el Cd atraviesa la barrera placentaria y puede ingresar al feto y acumularse en sus tejidos (Jacobó-Estrada *et al.*, 2017; Ji *et al.*, 2011; Jacquillet *et al.*, 2007; Manna, Sinha y Sil, 2008). Por otra parte, cabe señalar que el grupo tratado no supera el límite de Cd en sangre de acuerdo a los parámetros señalados por la OMS, aunque, fueron visibles las secuelas del Cd administrado prenatalmente sobre la pubertad y adultez de estos machos.

Los índices de pubertad se modificaron ante la presencia del Cd, en consecuencia el día de ocurrencia del DT en el grupo tratado fue posterior al grupo control y significativamente diferente al grupo control, estos resultados concuerdan con los datos presentados por Couto-Moraes, Felicio y Bernardi, 2010, quien administró 10 y 20 mg/kg de CdCl₂, del día 18 al 21 gestacional probando así que los efectos del Cd en la progenie pueden ser evidentes en bajas dosis como la administrada en este proyecto. En cambio, los resultados presentados para descenso testicular no coinciden con los encontrados por Luo *et al.*, 2015, donde no se muestran diferencias significativas entre el grupo control y tratado, esto puede deberse a la diferencias entre los diseños experimentales, ya que este autor utilizó

ratones Sprague Dawley, en una dosis de 1 y 10 mg/L en agua de consumo, donde las madres fueron expuestas desde el día gestacional 0 hasta el día posnatal 10.

Siguiendo con el efecto del Cd sobre los parámetros de pubertad, el grupo tratado presentó un retraso en el día de ocurrencia de la SP y menor número de sujetos presentaron AG en comparación con el grupo control. Cabe mencionar que estos índices de pubertad no se ha reportado previamente por otros estudios en ratas expuestas a Cd de manera directa, ni de manera gestacional, por lo que no se cuenta con reportes en la bibliografía para contrastar los resultados obtenidos sobre este parámetro. Esto constituye una nueva evidencia de que la exposición al Cd durante la gestación afecta el desarrollo sexual de la progenie masculina, puesto que retrasa la aparición de indicadores de la pubertad, que son clave en el proceso de madurez sexual y, a su vez, nos indicaría una disminución en la concentración de T, como lo reportado por Ji, *et al.*, 2010.

Se conoce que el DT, la SP, y el AG son mecanismos regulados por la presencia de andrógenos, específicamente de T (Arteaga *et al.*, 2013; Guo-Xin, Qing-Quan y Ren-Shan, 2008; Yoshimura *et al.*, 2005), en este proyecto, al presentarse retraso en estos eventos se puede correlacionar con una baja concentración de T en los sujetos tratados (que después se confirmaría con las pruebas de ELISA en la etapa adulta) Ji, *et al.*, 2010 refiere que las concentraciones de T en sujetos expuestos en etapa puberal se encuentra disminuida, así como una activación incompleta del eje HHG, atribuimos estos efectos a la presencia de Cd en la etapa organizacional del individuo, ya que se sabe que tiene distintas vías por las que perturba el correcto funcionamiento de la célula (Méndez-Armenta & Ríos, 2007), y de esta manera, el Cd puede estar afectando el desarrollo testicular que se da al rededor del día 12 gestacional (Plant, Zeleznik y O'Shaughnessy, 2015) e interfiriendo sobre la producción de T fetal que ocurre alrededor del día 19 (Coder *et al.*, 2014), siendo correspondientes a los días de exposición a Cd de este trabajo.

Está ampliamente reportado el efecto nocivo del Cd sobre la CSM en individuos directamente expuestos, donde se sabe que disminuye la eficiencia copulatoria (Arteaga-Silva *et al.*, 2015); sin embargo, se han realizado pocos estudios que lo analicen en etapa gestacional. Salvatori (2004) y Couto-Moraes *et*

al., (2012) administraron a las hembras gestantes con dosis de 10 mg/kg y 20 mg/kg respectivamente. Posteriormente, evaluaron de manera parcial la CSM en los machos. Ellos reportan un incremento en el NM y de NI, coincidiendo con lo obtenido en el presente trabajo; por otro lado, la LI y LM en los individuos tratados de este proyecto disminuyeron en comparación con el grupo control, causando discrepancia con los autores antes mencionados.

Podemos atribuir este aumento de montas e intromisiones a la disminución en las concentraciones de T en el grupo tratado, adicionalmente, consideramos que se pudo afectar la sensibilidad del pene, ya que se sabe que el principal mecanismo por el cual el Cd afecta la erección en ratas, es precisamente por la reducción de T en los individuos (Senbel *et al.*, 2016), esta disminución altera la función de las espinas peneanas, esto se ha reportado sobre individuos directamente administrados (Arteaga-Silva *et al.*, 2013) y nosotros evidenciamos la presencia de Cd en este órgano así como la disminución en esta hormona, sin embargo, el parámetro de erección no fue evaluado en el presente trabajo y no ha sido explorado en prole expuesta. La disminución en las LM y LI pueden adjudicarse a las diferencias dadas por la concentración y vías de administración del metal, consideramos que nuestra administración fue baja y de manera indirecta, es por ello que sugerimos que la concentración de T presentada en nuestros animales tratados a pesar de ser baja, fue suficiente para presentar motivación sexual, estudios realizados por Mendoza-Mendoza en 2015 sobre individuos tratados directamente con 1 mg/kg CdCl₂, muestran que no existe diferencias significativas entre el grupo tratado y control en cuanto al número de visitas realizadas a una hembra en estro en una prueba de motivación, esto aunado a la posible afectación del Cd sobre la erección, consideramos que los animales no lograban un despliegue óptimo de la ejecución sexual, por lo que, los animales al presentaron mayor NM y NI, disminuyendo así su eficiencia copulatoria.

La eficiencia copulatoria o *Hit Rate* un indicativo de la eficiencia del macho, y es un reflejo de la calidad de los parámetros anteriormente mencionados; dentro del grupo tratado se consideran efectivos en un 43% mientras que en el grupo control se calculó en 77%, esto nos refleja un menor éxito copulatorio por parte de los

machos tratados, indicando que el Cd afecta de manera negativa sobre la CSM incluso en dosis bajas y afectando sus capacidades de reproducción.

Ademas, un gran numero de individuos tratados no pudieron consumir la conducta ejecutoria completa, y esto se observa en el número reducido de series copulatorias, cabe mencionar que solamente el 50% de los machos tratados lograron una eyaculación, de los cuales, presentaron una LE mayor al grupo control; asimismo, les tomó más tiempo retomar la conducta ejecutoria, ya que su intervalo posteyaculatorio fue mayor comparado con el grupo control, tal como lo reporta Arteaga-Silva *et al.*, 2015 en sujetos directamente administrados.

Se han estudiado los efectos tóxicos del Cd sobre los testículos, diferentes autores (Manna, Sinha y Sil, 2008; Senbel *et al.*, 2016 y Thompson y Bannigan, 2008) han señalado la perdida de la BHT, hemorragia, necrosis, edema, entre otros efectos que promueven cambios en la concentración, morfología y vitalidad de los espermatozoides.

Se sabe que el Cd promueve el rompimiento de las uniones estrechas entre las células de Sertoli, originando descamación y desprendimiento del epitelio seminífero (Hew, Heath y Jiwa, 1993). El Cd atraviesa y rompe la BHT debido a su mimetismo iónico (con el Ca y/o el Zn) y de esta manera propicia la escisión entre células de Sertoli y, en consecuencia, se merma la producción espermática en aquellos individuos expuestos durante la gestación, lo cual explica lo observado en nuestros resultados ya que se presentó una disminución en la concentración espermática, siendo estos datos coherentes con los reportados (Angenard *et al.*, 2010; Cheng *et al.*, 2011; Siu *et al.*, 2010 y Wu *et al.*, 2008), donde se indica que el Cd es precursor de apoptosis en células germinales, lo que disminuye el conteo espermático. Particularmente, en la morfología espermática, los resultados muestran cambios severos en la morfología ya que se encontraron defectos de cabeza, pieza media y cola en el grupo tratado. También se observó gran cantidad de espermatozoides muertos, estos resultados son particularmente coherentes con lo reportado por Oliveira *et al.*, 2009 y Xu *et al.*, 2003 ya que estos autores reportan alteraciones en las morfologías de los grupos tratados, así como menor vitalidad.

El Cd induce a estrés oxidante causado por la acumulación de especies reactivas de oxígeno, principalmente radicales como el anión superóxido y peróxido de hidrógeno, que pueden afectar la calidad de los espermatozoides por la peroxidación de los lípidos de la membrana, ya que estos son especialmente sensibles (Acharya *et al.*, 2008; Kukongviriyapan, Apaijit y Kukongviriyapan, 2016); seguido de las afectaciones sobre las células de Sertoli antes mencionadas, que también promueven defectos en el espermatozoide, finalmente aumentando el daño en el ADN espermático (Xu *et al.*, 2003).

Se sabe que la concentración de T sérica disminuye ante la presencia de Cd en individuos directamente expuestos de manera posnatal (Arteaga-Silva *et al.*, 2015; Kim y Soh, 2009), ya que tiene la capacidad afectar diversos mecanismos, primeramente, se sabe que afecta a las enzimas esteroideogénicas para la síntesis de T, específicamente a 3β -HSD y 17β -HSD (Manna, Sinha y Sil, 2008), por otro lado, se ha observado que disminuye la acción de la proteína StAR (Siu *et al.*, 2010) que es básica en la síntesis de T a partir del colesterol.

En el presente proyecto se observó menor concentración de T en comparación al grupo control y esto se atribuye a la presencia de metal en los testículos ya que pudo afectar la producción de T, la disminución de esta hormona es de suma importancia ya que nos permite entender el retraso sobre los índices de pubertad, así como la baja eficiencia copulatoria en la CSM; estos resultados son coherentes con lo reportado por Ji *et al.*, 2011 donde comenta que existe disminución de T en aquellos machos que fueron tratados gestacionalmente con Cd, y lo atribuye al impacto directo sobre la ventana de diferenciación de las células de Leydig fetales (Llusiá y Tresguerres, 1996), afectando el alza de andrógenos prenatal que ocurre alrededor del día 12 y el día 19, es decir, la etapa organizacional justo antes del nacimiento, de esta manera, repercutiendo más adelante sobre la fase activacional de los individuos expuestos gestacionalmente a Cd.

La concentración de T es un parámetro fundamental que influye sobre los índices de pubertad y CSM, que al ser dependientes de andrógenos se afectaron directamente por la administración de Cd en la gestación.

Se evaluó la fertilidad en los machos gestacionalmente expuestos y se observó menor número de crías por camada, este parámetro no ha sido reportado, y se atribuye este fenómeno a la baja calidad espermática debido a que todos los parámetros espermáticos se observaron perjudicados por el metal. Adicionalmente, consideramos que la maduración espermática, a pesar de no haber sido evaluados en este proyecto se pudieron afectar, ya que se encontró acumulación en la cabeza del epidídimo perjudicando la movilidad espermática, se sabe que el Cd interfiere con la correcta glicosilación de carbohidratos en el epidídimo (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2016).

Finalmente, el Cd presente desde etapas prenatales podría tener repercusiones sobre individuos en la etapa adulta como se muestra en la figura 18. De tal forma que (A) la administración de Cd de manera indirecta desde día 11 al 20 gestacional (B) pueden afectar procesos en el desarrollo prenatal y estas afectaciones se reflejarán más adelante en la vida y desarrollo del individuo púber y adulto, (C) ya que se conoce que este metal presenta diversos mecanismos por el cual entra directamente al cerebro y demás órganos de los individuos, induciendo a apoptosis en las células, (D) en células testiculares se sabe que el Cd induce apoptosis afectando la producción de testosterona fetal, (E) así también afectando de manera inicial la diferenciación sexual cerebral prenatal que ocurre desde el día 11 al 19 gestacional, (F) podemos ver reflejadas las bajas concentraciones de testosterona desde la pubertad del individuo, ya que al ser eventos dependientes de T, (G) muestra retrasos importantes sobre los parámetros que indican el inicio de su madurez sexual. (H) En las pruebas de conducta sexual realizadas en su adultez, observamos menor eficiencia copulatoria, recordemos que para el despliegue de la conducta sexual, la T juega un papel crucial, y del mismo modo, es esencial un correcto desarrollo de las áreas cerebrales para una respuesta óptima, estos cambios en la conducta sexual, denotan una afectación provocada por el Cd administrado de manera prenatal. (I) Posteriormente en las pruebas espermáticas observamos menor concentración, así como modificaciones en la morfología y vitalidad, lo cual podemos atribuir a la presencia del metal en los

testículos, esta afección se ve reflejada en la fertilidad de los individuos, presentando menor número de individuos por camada.

XII. CONCLUSIONES

La exposición a Cd en etapa gestacional afectó los índices de pubertad, la conducta sexual y la fertilidad de la descendencia masculina de la rata Wistar. De tal forma que la exposición a este contaminante en hembras gestantes puede propiciar una infertilidad en la etapa adulta de los individuos expuestos durante la gestación.

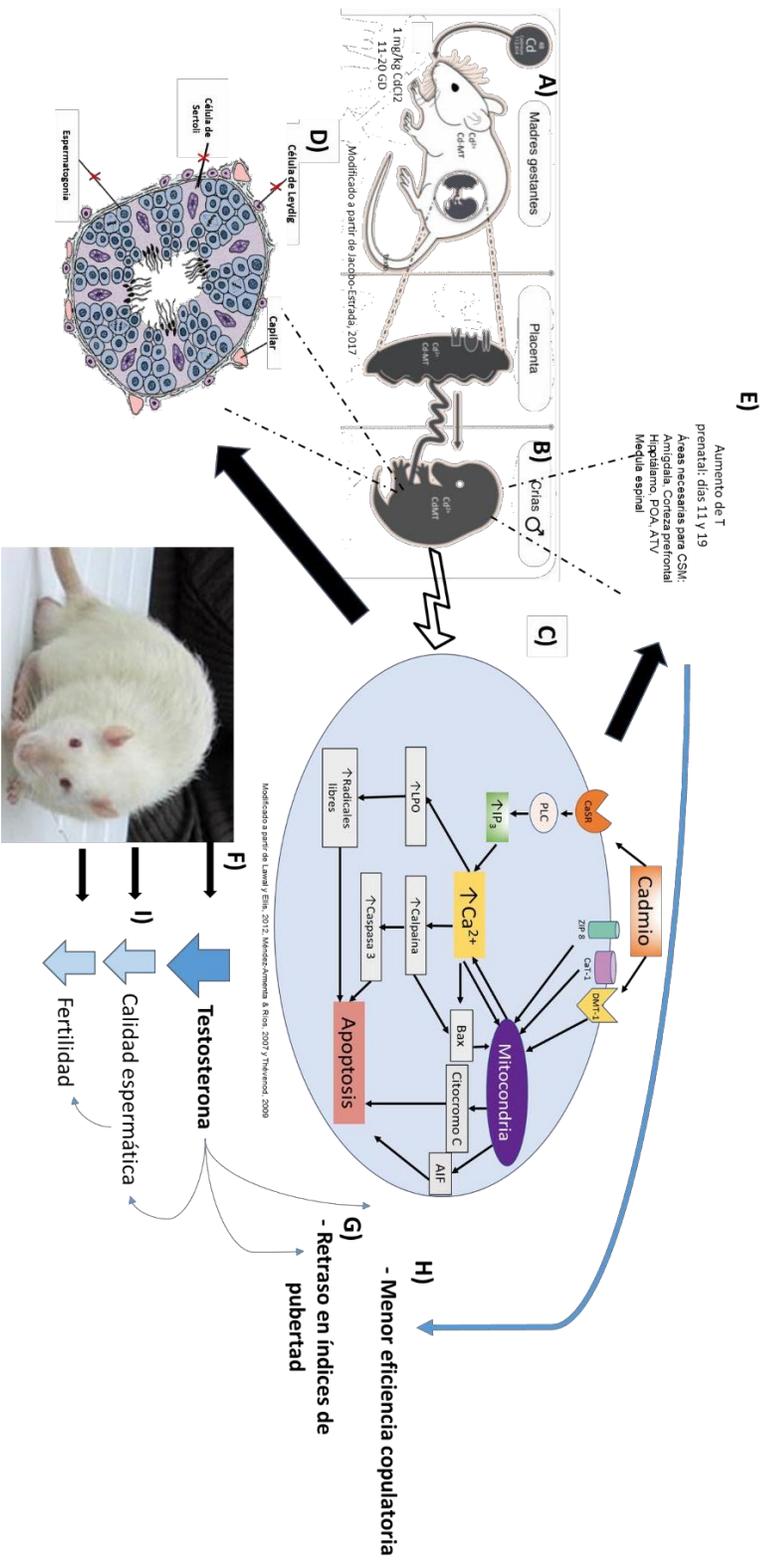


Figura 18. Efectos del Cd sobre individuos gestacionalmente expuestos.

(A) El individuo entra en contacto con el Cd de manera indirecta a través de la madre, (B) debido a los días de administración pueden afectar procesos en el desarrollo prenatal necesarios para la pubertad y madurez en la rata, (C) existen diversos mecanismos por el cual el Cd entra a la célula e induce apoptosis en células testiculares y cerebrales, (D) en el testículo se afecta la producción de testosterona por las células de Leydig fetales (E) modificando, tal vez, el desarrollo cerebral que ocurre alrededor del día 11 y 19 prenatal, (F) el individuo presenta una disminución en la concentración de testosterona (G) que conllevará a retrasos en la madurez sexual, (H) esta disminución de T, junto a la disrupción que provoca el Cd en estructuras cerebrales causa afeción sobre la conducta copulatoria, (I) por otro lado, la presencia del Cd en los testículos aunado a la baja concentración de T, derivarán en una baja calidad espermática, afectando directamente el éxito reproductor del macho.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

- Acharya, U. R., Mishra, M., Patro, J., y Panda, M. K. (2008). Effect of vitamins C and E on spermatogenesis in mice exposed to cadmium. *Reproductive Toxicology*, 25(1), 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.10.004>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012). Toxicological profile for Cadmium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs5.html
- Ågmo, a. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain research. Brain research protocols*, 1(2), 203–209. [https://doi.org/10.1016/S1385-299X\(96\)00036-0](https://doi.org/10.1016/S1385-299X(96)00036-0)
- Ågmo, A. (2002). Copulation-contingent aversive conditioning and sexual incentive motivation in male rats: evidence for a two-stage process of sexual behavior. *Physiology y Behavior*, 77(2–3), 425–435. [http://doi.org/10.1016/S0031-9384\(02\)00874-0](http://doi.org/10.1016/S0031-9384(02)00874-0)
- Al-Saleh, I., Shinwari, N., Mashhour, A., Mohamed, G. E. D., y Rabah, A. (2011). Heavy metals (lead, cadmium and mercury) in maternal, cord blood and placenta of healthy women. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214(2), 79-101. <http://doi.org/10.1016/j.ijheh.2010.10.001>
- Angenard, G., Muczynski, V., Coffigny, H., Pairault, C., Duquenne, C., Frydman, R., ... Livera, G. (2010). Cadmium increases human fetal germ cell apoptosis. *Environmental health perspectives*, 118(3), 331-7. <http://doi.org/10.1289/ehp.0900975>
- Arnold, A. P., y Breedlove, S. M. (1985). Organizational and activational effects of sex steroids on brain and behavior: A reanalysis. *Hormones and Behavior*, 19(4), 469–498. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(85\)90042-X](https://doi.org/10.1016/0018-506X(85)90042-X)

- Arteaga-Silva M., Mendoza-Mendoza T.N., Hernández-Rodríguez J., Viguera-Villaseñor R.M., Montes-López S., Limón-Morales O. (2015). La exposición postnatal al Cd disminuye los niveles de T y provoca un déficit de la motivación y ejecución sexual en ratas macho adultas. En Sanz-Martin A, Olvera-Cortés ME, Hernández-González M, Guevara-Perez MÁ. Neurodesarrollo de la cognición y la conducta. Zapopan: Universidad de Guadalajara, 69-104.
- Arteaga-Silva, M., Soto-Álvarez, M. de la A., Bonilla-Jaime, H., Vázquez-Palacios, G., y Hernandez-González, M. (2010). Regulación hormonal y patrón motor copulatorio masculino de los mamíferos. En *Aproximaciones al estudio de la neurociencia del comportamiento* (1a ed., pp. 47–82). Guadalajara, Jalisco.
- Arteaga-Silva, M., Viguera-Villaseñor, R., Retana-Márquez, S., Hernandez-González, M., Bonilla-Jaime, H., Guzmán-García, X., y Contreras-Montiel, J. L. (2013). Testosterone Levels and Development of the Penile Spines and Testicular Tissue during the Postnatal Growth in Wistar Rats. *Advances in Sexual Medicine*, 3(3), 1–9.
- Beveridge, R., Pintos, J., Parent, M.-E., Asselin, J., y Siemiatycki, J. (2010). Lung cancer risk associated with occupational exposure to nickel, chromium VI, and cadmium in two population-based case-control studies in Montreal. *American Journal of Industrial Medicine*, 53(5), 476–85. <http://doi.org/10.1002/ajim.20801>
- Blum, J. L., Xiong, J. Q., Hoffman, C., y Zelikoff, J. T. (2012). Cadmium Associated With Inhaled Cadmium Oxide Nanoparticles Impacts Fetal and Neonatal Development and Growth. *Toxicological Sciences*, 126(2), 478–486. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs008>
- Boadi, W. Y., Yannai, S., Urbach, J., Brandes, J. M., y Summer, K. H. (1991). Transfer and accumulation of cadmium, and the level of metallothionein in perfused human placentae. *Archives of toxicology*, 65(4), 318-23. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1953350>

- Bridges, C. C., y Zalups, R. K. (2005). Ionic and Molecular Mimicry and the Transport of Metals. *Cellular and Molecular Biology of Metals*, 204(3), 241–294. <http://doi.org/doi:10.1201/9781420059984-c10> 10.1201/9781420059984-c10
- Burk, R. F., Olson, G. E., Hill, K. E., Winfrey, V. P., Motley, A. K., y Kurokawa, S. (2013). Maternal-fetal transfer of selenium in the mouse. *The FASEB Journal*, 27(8), 3249–3256. <https://doi.org/10.1096/fj.13-231852>
- Cazan, A. M., y Klerks, P. L. (2015). Effects from a short-term exposure to copper or cadmium in gravid females of the livebearer fish (*Gambusia affinis*). *Ecotoxi1. Cazan AM, Klerks PL. Effects from a short-term exposure to copper or cadmium in gravid females of the livebearer fish (Gambusia affinis). Ecotoxicol Environ Saf [Internet]. Elsevier; 2015;118:199-203. Recuperado a partir de: <http://dx.doi.org/10, 118, 199-203.> <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.039>*
- Chan, H. M., y Cherian, M. G. (1993). Mobilization of Hepatic Cadmium in Pregnant Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 120(2), 308–314. <https://doi.org/10.1006/taap.1993.1116>
- Cheng, C. Y., Wong, E. W. P., Lie, P. P. Y., Li, M. W. M., Su, L., Siu, E. R., Yan, H. H. N., Mannu, J., Mathur, P. P., Bonanomi, M., Silvestrini, B., y Mruk, D. D. (2011). Environmental toxicants and male reproductive function. *Spermatogenesis*, 1(1), 2–13. <https://doi.org/10.4161/spmg.1.1.13971>
- Chow, J. C., Watson, J. G., Edgerton, S. A., y Vega, E. (2002). Chemical composition of PM2.5 and PM10 in Mexico City during winter 1997. *Science of The Total Environment*, 287(3), 177–201. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00982-2](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00982-2)
- Coder, P. S., Bowman, C. J., Slotter, E. D., y Stump, D. G. (2014). Evaluation of a Male Reproductive Toxicant. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.02135-8>

- Coolen, L. M. (2005). Neural control of ejaculation. *Journal of Comparative Neurology*, 493(1), 39–45. <https://doi.org/10.1002/cne.20784>
- Costantine, M. M., y Jong, G. T. (2014). Physiologic and pharmacokinetic changes in pregnancy. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00065>
- Couto-Moraes, R., Felício, L. F., de Oliveira, C. A., y Bernardi, M. M. (2012). Postpartum testosterone administration partially reverses the effects of perinatal cadmium exposure on sexual behavior in rats. *Psychology and Neuroscience*, 5(2), 221–229. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2012.2.1>
- Couto-Moraes, R., Felicio, L. F., y Bernardi, M. M. (2010). Postpartum testosterone administration does not reverse the effects of perinatal exposure to cadmium on rat offspring development. *Journal of Applied Toxicology*, 30(3), 233–241. <https://doi.org/10.1002/jat.1489>
- Crews, D., y Silver, R. (1985). Reproductive Physiology and Behavior Interactions in Nonmammalian Vertebrates. *Reproduction*.
- Díaz, C. M., González, N., Gómez, S., Quiroga, M., Najle, R., y CG., B. (2014). Effect of a single dose of cadmium on pregnant Wistar rats and their offspring. *Reprod. Domest Anim.*, 49(6), 1049-1056. <http://doi.org/10.1111/rda.12439>.
- Elinder, C. G., Kjellström, T., Lind, B., Linnman, L., Piscator, M., y Sundstedt, K. (1983). Cadmium exposure from smoking cigarettes: Variations with time and country where purchased. *Environmental Research*, 32(1), 220–227. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(83\)90209-8](https://doi.org/10.1016/0013-9351(83)90209-8)
- Enli, Y., Turgut, S., Oztekin, O., Demir, S., Enli, H., y Turgut, G. (2010). Cadmium Intoxication of Pregnant Rats and Fetuses: Interactions of Copper Supplementation. *Archives of Medical Research*, 41(1), 7-13. <http://doi.org/10.1016/j.arcmed.2010.03.003>
- Guerra, R., Vera-Aguilar, E., Uribe-Ramirez, M., Gookin, G., Camacho, J., Osornio-Vargas, A. R., Mugica-Alvarez, V., Angulo-Olais, R., Campbell, A., Froines, J.,

- Kleinman, T. M., y De Vizcaya-Ruiz, A. (2013). Exposure to inhaled particulate matter activates early markers of oxidative stress, inflammation and unfolded protein response in rat striatum. *Toxicology Letters*, 222(2), 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.07.012>
- Guo-Xin, H., Qing-Quan, L., Ren-Shan G. (2008). Phthalate-induced testicular dysgenesis syndrome: Leydig cell influence. *Trends Endocrinol Metab*, 20(3), 139–145. <http://doi.org/10.1016/j.tem.2008.12.001>.Phthalate-induced
- Hernández-González, M. (2000). Prepubertal genital grooming and penile erections in relation to sexual behavior of rats. *Physiology y Behavior*, 71(1–2), 51–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11134685>
- Hew, K., Heath, G., Jiwa, A. (1993). Cadmium in vivo causes disruption of tight junction- associated microfilaments in rat Sertoli cells. *Biol Reprod* 49(4):840-849.
- Hull, E., y Wood, I. (2006). Neurobiology of Male Sexual Behavior. In *Knobill and Neill's Physiology of Reproduction* (Third).
- Jacobo-Estrada, T., Santoyo-Sánchez, M., Thévenod, F., y Barbier, O. (2017). Cadmium handling, toxicity and molecular targets involved during pregnancy: Lessons from experimental models. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7). <https://doi.org/10.3390/ijms18071590>
- Jacquillet, G., Barbier, O., Rubera, I., Tauc, M., Borderie, A., Namorado, M. C., Martin, D., Sierra, G., Reyes, J. L., Poujeol, P., y Cougnon, M. (2007). Cadmium causes delayed effects on renal function in the offspring of cadmium-contaminated pregnant female rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 293(5), F1450–F1460. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00223.2007>
- Järup, L., Berglund, M., Elinder, C. G., Nordberg, G., y Vahter, M. (1998). Health effects of cadmium exposure--a review of the literature and a risk estimate. *Scandinavian journal of work, environment & health*, 24 Suppl 1, 1–51. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9569444>
-

- Ji, Y.-L., Wang, H., Liu, P., Wang, Q., Zhao, X.-F., Meng, X.-H., Yu, T., Zhang, H., Zhang, C., Zhang, Y., y Xu, D.-X. (2010). Pubertal cadmium exposure impairs testicular development and spermatogenesis via disrupting testicular testosterone synthesis in adult mice. *Reproductive Toxicology*, 29(2), 176–183. <https://doi.org/10.1016/J.REPROTOX.2009.10.014>
- Ji, Y. L., Wang, H., Liu, P., Zhao, X. F., Zhang, Y., Wang, Q., Xu, D. X. (2011). Effects of maternal cadmium exposure during late pregnant period on testicular steroidogenesis in male offspring. *Toxicology Letters*, 205(1), 69-78. <http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.05.233>
- Johnson, R. D., Kitchell, R. L., y Gilanpour, H. (1986). Rapidly and slowly adapting mechanoreceptors in the glans penis of the cat. *Physiology & Behavior*, 37(1), 69–78. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90386-0](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90386-0)
- Kariyazono, Y., Taura, J., Hattori, Y., Ishii, Y., y Narimatsu, S. (2015). Effect of in utero exposure to endocrine disruptors on fetal steroidogenesis governed by the pituitary-gonad axis : a study in rats using different ways of administration, 40(6), 909-916.
- Kim, D.-W., Kim, K.-Y., Choi, B.-S., Youn, P., Ryu, D.-Y., Klaassen, C. D., y Park, J.-D. (2007). Regulation of metal transporters by dietary iron, and the relationship between body iron levels and cadmium uptake. *Archives of Toxicology*, 81(5), 327–334. <https://doi.org/10.1007/s00204-006-0160-7>
- Kim, J., y Soh, J. (2009). Cadmium-induced apoptosis is mediated by the translocation of AIF to the nucleus in rat testes. *Toxicology Letters*, 188(1), 45–51. <http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.03.006>
- King, L. A., MacDonald, P. C., y Casey, M. L. (1997). Regulation of metallothionein expression in human amnion epithelial and mesenchymal cells. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 177(6), 1496–1501. [http://doi.org/10.1016/S0002-9378\(97\)70097-8](http://doi.org/10.1016/S0002-9378(97)70097-8)

- King, L. M., Banks, W. A., y George, W. J. (1999). Differences in cadmium transport to the testis, epididymis, and brain in cadmium-sensitive and -resistant murine strains 129/J and A/J. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 289(2), 825-30. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10215659>
- Kjellström, T., y Nordberg, G. F. (1978). A kinetic model of cadmium metabolism in the human being. *Environmental Research*, 16(1-3), 248-269. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(78\)90160-3](https://doi.org/10.1016/0013-9351(78)90160-3)
- Klassen, R. B., Crenshaw, K., Kozyraki, R., Verroust, P. J., Tio, L., Atrian, S., Allen, P. L., y Hammond, T. G. (2004). Megalin mediates renal uptake of heavy metal metallothionein complexes. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 287(3), F393-F403. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00233.2003>
- Korpela, H., Loueniva, R., Yrjänheikki, E., y Kauppila, A. (1986). Lead and cadmium concentrations in maternal and umbilical cord blood, amniotic fluid, placenta, and amniotic membranes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 155(5), 1086-9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3777054>
- Kosanovic, M., Jokanovic, M., Jevremovic, M., Dobric, S., y Bokonjic, D. (2002). Maternal and Fetal Cadmium and Selenium Status in Normotensive and Hypertensive Pregnancy. *Biological Trace Element Research*, 89(2), 97-104. <https://doi.org/10.1385/BTER:89:2:97>
- Kovacs, G., Danko, T., Bergeron, M. J., Balazs, B., Suzuki, Y., Zsembery, A., y Hediger, M. A. (2011). Heavy metal cations permeate the TRPV6 epithelial cation channel. *Cell Calcium*, 49(1), 43-55. <https://doi.org/10.1016/J.CECA.2010.11.007>
- Kovacs, G., Montalbetti, N., Franz, M.-C., Graeter, S., Simonin, A., y Hediger, M. A. (2013). Human TRPV5 and TRPV6: Key players in cadmium and zinc toxicity. *Cell Calcium*, 54(4), 276-286. <https://doi.org/10.1016/J.CECA.2013.07.003>

- Kukongviriyapan, U., Apaijit, K., y Kukongviriyapan, V. (2016). Oxidative Stress and Cardiovascular Dysfunction Associated with Cadmium Exposure: Beneficial Effects of Curcumin and Tetrahydrocurcumin. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 239(1), 25–38. <https://doi.org/10.1620/tjem.239.25>
- Lafuente, A. (2013). The hypothalamic – pituitary – gonadal axis is target of cadmium toxicity . An update of recent studies and potential therapeutic approaches, 59, 395–404. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2013.06.024>
- Lafuente, A., González-Carracedo, A., Romero, A., Cano, P., Esquifino, A.I., 2004. Cadmium exposure differentially modifies the circadian patterns of norepinephrine at the median eminence and plasma LH, FSH and testosterone levels. *Toxicol. Lett.* 146, 175–182.
- Larsson, K., y Södersten, P. (1973). Mating in male rats after section of the dorsal penile nerve. *Physiology & Behavior*, 10(3), 567–571. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(73\)90223-0](https://doi.org/10.1016/0031-9384(73)90223-0)
- Lawal, A. O., y Ellis, E. M. (2012). Phospholipase C Mediates Cadmium-Dependent Apoptosis in HEK 293 Cells. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 110(6), 510–517. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2011.00843.x>
- Leazer, T. M., Liu, Y., y Klaassen, C. D. (2002). Cadmium absorption and its relationship to divalent metal transporter-1 in the pregnant rat. *Toxicology and applied pharmacology*, 185(1), 18–24. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12460733>
- Lee, C. K., Lee, J. T., Yu, S. J., Kang, S. G., Moon, C. S., Choi, Y. H., Kim, J. H., Kim, D. H., Son, B. C., Lee, C. H., Kim, H. D., y Ahn, J. H. (2009). Effects of cadmium on the expression of placental lactogens and Pit-1 genes in the rat placental trophoblast cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 298(1–2), 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.09.028>
- Lewis, G. P., Coughlin, L. L., Jusko, W. J., y Hartz, S. (1972). Contribution of cigarette smoking to cadmium accumulation in man. *Lancet (London)*,

England), 1(7745), 291–2. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4109933>

Llusiá, J. B., y Tresguerres, J. A. F. (1996). *Hormonas, instintos y emociones*. Editorial Complutense. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=wO3jNUYFmUsCypgis=1>

Lucio, R., Tlachi, J., Lopez, A., Zempoalteca, R., y Velázquez-Moctezuma, J. (2009). Análisis de los parámetros del eyaculado en la rata Wistar de laboratorio: descripción de la técnica Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: technical description. *Vet Mex*, 40(4), 405–416.

Luo, X., Li, L., Ma, M., y Li, R. (2015). Effects of low-dose cadmium exposure during gestation and lactation on development and reproduction in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14), 10569-10579. <http://doi.org/10.1007/s11356-015-4249-5>

Manna, P., Sinha, M., y Sil, P. C. (2008). Cadmium induced testicular pathophysiology: Prophylactic role of taurine. *Reproductive Toxicology*, 26(3–4), 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.09.009>

Méndez-Armenta M., y Ríos C. (2007) Cadmium neurotoxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 23: 350-356. <http://doi.org/10.1016/j.etap.2006.11.009>

Min, K.-S., Sano, E., Ueda, H., Sakazaki, F., Yamada, K., Takano, M., y Tanaka, K. (2015). Dietary Deficiency of Calcium and/or Iron, an Age-Related Risk Factor for Renal Accumulation of Cadmium in Mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 38(10), 1557–1563. <https://doi.org/10.1248/bpb.b15-00341>

Montes, S., Juárez-rebollar, D., Nava-ruíz, C., Sánchez-garcía, A., Heras-romero, Y., Rios, C., y Méndez-armenta, M. (2015). Immunohistochemical Study of

Nrf2-Antioxidant Response Element as Indicator of Oxidative Stress Induced by Cadmium in Developing Rats, 2015. <http://doi.org/10.1155/2015/570650>

Moralí, G., y Beyer, C. (1992). Motor Aspects of Masculine Sexual Behavior in Rats and Rabbits. *Advances in the Study of Behavior*, 21, 201–238. [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(08\)60145-X](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(08)60145-X)

Moya, J., Phillips, L., Sanford, J., Wooton, M., Gregg, A., y Schuda, L. (2014). A review of physiological and behavioral changes during pregnancy and lactation: Potential exposure factors and data gaps. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 24(5), 449–458. <https://doi.org/10.1038/jes.2013.92>

Muntau, H., y Baudo, R. (1992). Sources of cadmium, its distribution and turnover in the freshwater environment. *IARC Scientific Publications*, (118), 133–48. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1303936>

Nampoothiri, L. P., y Gupta, S. (2008). Biochemical effects of gestational coexposure to lead and cadmium on reproductive performance, placenta, and ovary. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 22(5), 337–344. <https://doi.org/10.1002/jbt.20246>

Nelson, R. J., y Kriegsfeld, L. J. (2017). *An introduction to behavioral endocrinology*.

Oliveira, H., Spanò, M., Santos, C., y Pereira, M. de L. (2009). Adverse effects of cadmium exposure on mouse sperm. *Reproductive Toxicology*, 28(4), 550–555. <http://doi.org/10.1016/j.reprotox.2009.08.001>

Onatra, W. (1998). LIPOPROTEINAS, OBESIDAD Y RIESGO CARDIOVASCULAR. Retrieved March 2, 2016, from https://encolombia.com/medicina/revistas-medicas/menopausia/vol-3197/lipo_meno3-1/#comment-14251

Pant, N., Kumar, G., Upadhyay, A.D., Patel, D.K., Gupta, Y.K., Chaturvedi, P.K. (2014). Reproductive toxicity of lead, cadmium, and phthalate exposure in

men. *Environ Sci Pollut Res Int.* 21(18):11066-74. doi: 10.1007/s11356-014-2986-5

Petrochelli Banzato, T., Godinho, A. F., da Silva Zacarin, E. C. M., Perobelli, J. E., Dal Bianco Fernandez, C., Favareto, A. P. A., y De Grava Kempinas, W. (2012). Sperm quality in adult male rats exposed to cadmium in utero and lactation. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 75(16-17), 1047-58. <http://doi.org/10.1080/15287394.2012.697831>

Pillai, A., y Gupta, S. (2005). Effect of gestational and lactational exposure to lead and/or cadmium on reproductive performance and hepatic oestradiol metabolising enzymes. *Toxicology Letters*, 155(1), 179-186. <http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.09.015>

Pillai, P., Pandya, C., Bhatt, N., y Gupta, S. S. (2012). Biochemical and reproductive effects of gestational/lactational exposure to lead and cadmium with respect to testicular steroidogenesis, antioxidant system, endogenous sex steroid and cauda-epididymal functions. *Andrologia*, 44(2), 92–101. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2010.01109.x>

Plant, T. M., Zeleznik, A. J., y O'Shaughnessy, P. (2015). Testicular Development. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Ed)*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397175-3.00014-4>

Pollock, B., y Machin, K. L. (2008). Effects of cadmium, mercury, and selenium on reproductive indices in male lesser scaup (*Aythya affinis*) in the western boreal forest. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(4), 730-739. <http://doi.org/10.1007/s00244-007-9066-5>

Qing, X., Redecha, P. B., Burmeister, M. A., Tomlinson, S., D'Agati, V. D., Davisson, R. L., y Salmon, J. E. (2011). Targeted inhibition of complement activation prevents features of preeclampsia in mice. *Kidney International*, 79(3), 331–339. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.393>

- Robinson, J. F., Yu, X., Hong, S., Griffith, W. C., Beyer, R., Kim, E., y Faustman, E. M. (2009). Cadmium-Induced Differential Toxicogenomic Response in Resistant and Sensitive Mouse Strains Undergoing Neurulation. *Toxicological Sciences*, 107(1), 206–219. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn221>
- Román, T. R. N., De Lima, E. G., Azoubel, R., y Batigália, F. (2004). RENAL MORPHOMETRY OF FETUSES RATS TREATED WITH CADMIUM. *International Journal of Morphology*, 22(3), 231–236. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022004000300010>
- Ronco, A. M., Urrutia, M., Montenegro, M., y Llanos, M. N. (2009). Cadmium exposure during pregnancy reduces birth weight and increases maternal and foetal glucocorticoids. *Toxicology Letters*, 188(3), 186–191. <https://doi.org/10.1016/J.TOXLET.2009.04.008>
- Saldivar de R., L., Luna, M., Reyes, E., Soto, R., y Fortoul, T. I. (1991). Cadmium determination in Mexican-produced tobacco. *Environmental Research*, 55(1), 91–96. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(05\)80143-4](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(05)80143-4)
- Salvatori, F., Talassi, C. B., Salzgeber, S. a, Spinosa, H. S., y Bernardi, M. M. (2004). Embryotoxic and long-term effects of cadmium exposure during embryogenesis in rats. *Neurotoxicology and teratology*, 26(5), 673-80. <http://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.05.001>
- Senbel, A. M., Saad, E. I., Taha, S. S., y Mohamed, H. F. (2016). Different mechanisms for lead acetate, aluminum and cadmium sulfate in rat corpus cavernosum. *Toxicology*, 340, 27-33. <http://doi.org/10.1016/j.tox.2015.12.004>
- Siu, E. R., Mruk, D. D., Porto, C. S., y Cheng, C. Y. (2010). Cadmium-induced Testicular Injury, 238(3), 240–249. <http://doi.org/10.1016/j.taap.2009.01.028>. Cadmium-induced
- Sonawane, B. R., Nordberg, M., Nordberg, G. F., y Lucier, G. W. (1975). Placental transfer of cadmium in rats: influence of dose and gestational age.

Environmental Health Perspectives, Vol. 12(December), 97–102.
<http://doi.org/10.1289/ehp.751297>

Storm, T., Christensen, E. I., Christensen, J. N., Kjaergaard, T., Uldbjerg, N., Larsen, A., Honoré, B., y Madsen, M. (2016). Megalin Is Predominantly Observed in Vesicular Structures in First and Third Trimester Cytotrophoblasts of the Human Placenta. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 64(12), 769–784.
<https://doi.org/10.1369/0022155416672210>

Suzuki, T., Momoi, K., Hosoyamada, M., Kimura, M., y Shibasaki, T. (2008). Normal cadmium uptake in microcytic anemia mk/mk mice suggests that DMT1 is not the only cadmium transporter in vivo. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 227(3), 462–467. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.10.026>

Thévenod, F. (2009). Cadmium and cellular signaling cascades: To be or not to be? *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3), 221–239.
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.01.013>

Thévenod, F. (2010). Catch me if you can! Novel aspects of cadmium transport in mammalian cells. *BioMetals*, 23(5), 857–875. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9309-1>

Thompson, J., y Bannigan, J. (2008). Cadmium: Toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproductive Toxicology*, 25(3), 304-315.
<http://doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.02.001>

Trottier, B., Athot, J., Ricard, A. C., y Lafond, J. (2002). Maternal–fetal distribution of cadmium in the guinea pig following a low dose inhalation exposure. *Toxicology Letters*, 129(3), 189–197. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(02\)00007-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(02)00007-3)

U.S. Department Of Health And Human Services (HHS). (2012). Toxicological Profile for Cadmium. *Public Health*, (September).

Ubuka, T., y Tsutsui, K. (2014). Review: neuroestrogen regulation of socio-sexual behavior of males. *Frontiers in neuroscience*, 8, 323.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00323>

- Vazquez-R, F., y Vazquez-Echeverri, D. (2007). Espermograma y su utilidad clínica
Clinical utility of spermogram. *Salud Uninorte*, 23(2), 220–230. Retrieved
from
<http://rcientificas.uninorte.edu.co/index.php/salud/article/viewArticle/4037/57>
26
- Vesey, D. A. (2010). Transport pathways for cadmium in the intestine and kidney
proximal tubule: Focus on the interaction with essential metals. *Toxicology
Letters*, 198(1), 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.05.004>
- Waalkes, M.P., 2000. Cadmium carcinogenesis in review. *J. Inorg. Biochem.* 79,
241–244.
- Wang, F., Zhang, Q., Zhang, X., Luo, S., Ye, D., Guo, Y., Chen, S., y Huang, Y.
(2014). Preeclampsia induced by cadmium in rats is related to abnormal local
glucocorticoid synthesis in placenta. *Reproductive Biology and Endocrinology*,
12(1), 77. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-77>
- Watanabe, T., Koizumi, A., Fujita, H., Kumai, M., y Ikeda, M. (1984). Role of rice in
dietary cadmium intake of farming population with no known man-made
pollution in Japan. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 144(1), 83–
90. <http://doi.org/10.1620/tjem.144.83>
- Webb, M., y Cain, K. (1982). Functions of metallothionein. *Biochemical
Pharmacology*, 31(2), 137–142. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(82\)90202-7](https://doi.org/10.1016/0006-2952(82)90202-7)
- Webster, W. S. (1988). Chronic cadmium exposure during pregnancy in the mouse:
influence of exposure levels on fetal and maternal uptake. *Journal of
Toxicology and Environmental Health*, 24(2), 183–92.
<http://doi.org/10.1080/15287398809531152>
- World Health Organization (WHO). (2010). Exposure to cadmium: a major public
health concern. *Preventing Disease Through Healthy Environments*, 3–6.
Retrieved from <http://www.who.int/ipcs/features/cadmium.pdf>

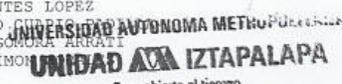
- Wu, H. M., Lin-Tan, D. T., Wang, M. L., Huang, H. Y., Wang, H. S., Soong, Y. K., y Lin, J. L. (2008). Cadmium level in seminal plasma may affect the pregnancy rate for patients undergoing infertility evaluation and treatment. *Reproductive Toxicology*, 25(4), 481-484. <http://doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.04.005>
- Xu, D.-X., Shen, H.-M., Zhu, Q.-X., Chua, L., Wang, Q.-N., Chia, S.-E., y Ong, C.-N. (2003). The associations among semen quality, oxidative DNA damage in human spermatozoa and concentrations of cadmium, lead and selenium in seminal plasma. *Mutation research*, 534(1-2), 155-63. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12504764>.
- Yoshimura, S., Yamaguchi, H., Konno, K., Ohsawa, N., Noguchi, S., y Chisaka, A. (2005). Observation of Preputial Separation is a Useful Tool for Evaluating Endocrine Active Chemicals. *Journal of Toxicologic Pathology*, 18(3), 141–157. <https://doi.org/10.1293/tox.18.141>
- Zhang, W., Yang, L., Kuang, H., Yang, P., Aguilar, Z. P., Wang, A., Fu, F., y Xu, H. (2016). Acute toxicity of quantum dots on late pregnancy mice: Effects of nanoscale size and surface coating. *Journal of Hazardous Materials*, 318, 61–69. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2016.06.048>
- Zhang, X., Xu, Z., Lin, F., Wang, F., Ye, D., y Huang, Y. (2015). Increased Oxidative DNA Damage in Placenta Contributes to Cadmium-Induced Preeclamptic Conditions in Rat. *Biological Trace Element Research*, 170(1), 119–127. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0438-9>
- Zhou, X., Hao, W., Shi, H., Hou, Y., & Xu, Q. (2015). Calcium Homeostasis Disruption - a Bridge Connecting Cadmium-Induced Apoptosis, Autophagy and Tumorigenesis. *Oncology Research and Treatment*, 38(6), 311–315



EFFECTOS DE LA EXPOSICIÓN GESTACIONAL AL CADMIO SOBRE LOS INDICES DE PUBERTAD, LA CONDUCTA SEXUAL Y LA FERTILIDAD EN LA DESCENDENCIA MASCULINA DE LA RATA WISTAR

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 21 del mes de septiembre del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. SERGIO MONTES LOPEZ
M. EN C. PEDRO CUAPIO PADILLA
DR. PORFIRIO GOMORA ARRATI
DRA. OFELIA LIMON MORALES



01 OCT 2018

COORDINACIÓN DE SISTEMAS ESCOLARES

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaría la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL

DE: DARLA JULIANA MARQUEZ AGUILUZ



DARLA JULIANA MARQUEZ AGUILUZ
ALUMNA

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

Aprobar

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

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTE

DR. SERGIO MONTES LOPEZ

VOCAL

M. EN C. PEDRO CUAPIO PADILLA

VOCAL

DR. PORFIRIO GOMORA ARRATI

SECRETARIA

DRA. OFELIA LIMON MORALES