



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Carrera de biología

Efecto del acetato de talio (CH_3COOTI) y cloruro de cadmio (CdCl_2) en los fetos de ratones hembra de la cepa CD-1 tratadas en el día siete de gestación

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

NAYANI ISABEL SANTIAGO TOLEDO

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Lucila Álvarez Barrera

ASESORES:

Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava

Dr. Juan José Rodríguez Mercado

Ciudad de México, Febrero 2021



**FES
ZARAGOZA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

En memoria del Dr. Mario Agustín Altamirano Lozano



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
CARRERA DE BIOLOGÍA



Me dirijo a ustedes para informarles que el Director de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza los asignó como **SINODALES** del siguiente trabajo de titulación:

TÍTULO: **Efecto del acetato de talio (CH_3COOTl) y cloruro de cadmio (CdCl_2) en los fetos de ratones hembra de la cepa CD-1 tratadas en el día siete de gestación**

ALUMNO: **SANTIAGO TOLEDO NAYANI ISABEL**

NÚMERO DE CUENTA: **311302633**

MODALIDAD: **TESIS**

Así mismo le informo que de acuerdo con el Reglamento de Operación de las Opciones de Titulación de licenciatura de la FES Zaragoza, cuenta con 15 días naturales para realizar la revisión del trabajo y hacer las observaciones pertinentes.

Nombre del profesor	Fecha de recepción del trabajo	Firma	Fecha de recepción de observaciones	Firma
DR. ALTAMIRANO LOZANO MARIO AGUSTIN (Presidente)	5-ENE-2021			
DRA. ALVAREZ BARRERA LUCILA (Vocal)	7 enero 2021	Alvarez Barrera Lucila.	8 enero 2021	Alvarez Barrera Lucila.
DR. RODRIGUEZ MERCADO JUAN JOSE (Secretario)	5-01-2021	Juan Jos' Rd.	8-01-2021	Juan Jos' Rd.
DR. MATEOS NAVA RODRIGO ANIBAL (Suplente)	7/01/2021		9/01/2021	
DRA. VIEYRA VALDEZ ELIZABETH (Suplente)	5/01/2021		8/01/2021	

Tesis realizada bajo la dirección de la Dra. Lucila Álvarez Barrera y la asesoría del Dr. Juan José Rodríguez Mercado y del Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava en la Unidad de investigación en Genética y Toxicología Ambiental (UNIGEN) L5 1^{er} piso, UMIEZ. FES Zaragoza Campo II, UNAM. Durante el desarrollo de esta investigación se contó con el apoyo de la UNAM-DGAPA-PAPIIT, proyectos IN-225216 y IN-229220.

Agradecimientos

Estoy especialmente agradecida a la Dra. Lucila Álvarez Barrera, por su dirección, apoyo, exigencia, dedicación, crítica y aliento que me brindó en la realización del presente trabajo.

A mis Asesores, el Dr. Juan José Rodríguez Mercado y el Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava, por sus valiosos comentarios, opiniones y tiempo empleado en el desarrollo de esta investigación.

A mis sinodales, el Dr. Mario Agustín Altamirano Lozano y la Dra. Elizabeth Vieyra Valdez, por sus constructivos comentarios y sugerencias en la revisión del escrito.

Al Dr. Román, la Dra. Adriana y todo el personal del bioterio, por confiar en mí, abrirme las puertas y permitirme realizar todo el proceso investigativo.

Finalmente, a Diego Bárcenas, Alexandre Cruz, Diana Becerra, Jocelyn Cruz y Frida Peña, por el apoyo brindado.

Dedico este trabajo con todo cariño

A mis padres Tiany y Adulfo, por su amor, paciencia y esfuerzo en todos estos años y por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria y a lo largo de mi vida.

A mis hermanos Sebastián y Eduardo, por estar siempre presentes, acompañándome y por el apoyo moral que me brindaron a lo largo de esta etapa.

A mi abue Vilma, por ser mi segunda mamá dándome cariño y afecto en todo momento.

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	3
2.1 Talio (Tl).....	4
2.1.1 Usos del talio.....	5
2.1.2 Fuentes de emisión, exposición y distribución en el cuerpo.....	6
2.1.3 Efectos sobre la salud.....	7
2.1.4 Efectos en la reproducción.....	8
2.1.5 Efectos en el desarrollo embrionario.....	9
2.2 Cadmio (Cd).....	12
2.2.1 Fuentes de emisión, exposición y distribución en el cuerpo.....	12
2.2.2 Efectos sobre la salud.....	14
2.2.3 Efectos en la reproducción.....	15
2.2.4 Efectos en el desarrollo embrionario.....	16
2.3 Modelo de experimentación	17
3. Justificación	21
4. Hipótesis	21
5. Objetivos	22
5.1 General.....	22
5.2 Particulares.....	22
6. Materiales y métodos	22
6.1 Compuestos químicos.....	22
6.2 Animales.....	22
6.3 Cruza.....	23
6.4 Tratamiento con talio o cadmio.....	23
6.5 Sacrificio y obtención de fetos.....	23
6.6 Evaluación de la toxicidad embrionaria y fetal.....	23
6.7 Evaluación de anomalías externas.....	24
6.8 Tinción del esqueleto.....	24
6.8.1 Tinción de hueso con rojo de alizarina.....	24

6.8.2 Tinción de hueso-cartílago con rojo de alizarina y azul de alcian.....	24
6.9 Evaluación de anomalías esqueléticas.....	25
6.10 Análisis estadístico.....	25
7. Resultados	26
7.1 Toxicidad materna.....	26
7.2 Toxicidad embrionaria y fetal.....	27
7.3 Anomalías externas.....	28
7.4 Anomalías esqueléticas.....	31
7.4.1 Cráneo.....	31
7.4.2 Esqueleto axial.....	33
7.4.3 Esqueleto distal.....	35
7.4.3.1 Huesos de las extremidades superiores.....	35
7.4.3.2 Huesos de las extremidades inferiores.....	36
8. Discusión	40
8.1 Toxicidad materna.....	40
8.2 Toxicidad embrionaria y fetal.....	41
8.3 Anomalías externas.....	42
8.4 Anomalías esqueléticas.....	44
9. Conclusiones	49
10. Referencias	50
11. Anexo	57

1. Resumen

El talio (Tl) es altamente tóxico y se considera uno de los metales más dañinos para los mamíferos, es comparable con elementos como arsénico (As), cadmio (Cd), níquel (Ni), mercurio (Hg) o plomo (Pb). Se sabe que el Tl puede cruzar la barrera placentaria, en trabajos previos realizados en el laboratorio de teratogénesis utilizando ratones hembra preñadas de la cepa CD-1, a las cuales se les administró acetato de Tl(I) (CH_3COOTl) en dosis de 4.62, 9.25 y 18.5 mg/kg de manera intraperitoneal (ip), se encontró que el mayor porcentaje de fetos que presentaron anomalías externas fue en las dosis de 4.62 y 9.25 mg/kg (53 y 72%, respectivamente). Por lo anterior en este trabajo se decidió aplicar una dosis de CH_3COOTl de 5.28 mg/kg a ratonas preñadas en el día 7 de gestación, que es una dosis intermedia entre las concentraciones ya trabajadas y se esperaba encontrar un porcentaje entre el 53 y 72% de los fetos de las hembras tratadas que presentarían anomalías (dosis-dependiente). También se administró cloruro de Cd(II) (CdCl_2) como testigo positivo, el cual se sabe produce efectos teratógenos.

Se formaron 3 grupos de 10 ratonas preñadas de la cepa CD-1, el primer grupo se trató con agua inyectable, el segundo con 5.28 mg/kg de CH_3COOTl y el tercero con 3 mg/kg CdCl_2 , se administró una dosis única en el día 7 de gestación por vía ip. Las hembras fueron sacrificadas en el día 18 de gestación por dislocación cervical, se extrajeron los fetos, se fijaron en alcohol al 70% y se revisaron externamente. Por último, cada camada se dividió en tres partes, 50% se fijaron en solución Bouin, 25% se tiñó en rojo de alizarina para la revisión del esqueleto óseo y 25% en rojo de alizarina y azul de alcian para la revisión del tejido óseo y cartilaginoso (hueso-cartílago).

En el grupo de hembras tratadas con CH_3COOTl no se encontraron signos de toxicidad materna, pero sí toxicidad embrionaria y fetal ya que aumentó el número de reabsorciones y disminuyó el peso de la camada. En la revisión externa de los fetos se encontró fontanelas más abiertas de lo normal, canal en la espalda, hematomas, tronco de lado, variaciones en extremidades y cola. En el análisis esquelético se observó que los fetos presentaron osificación incompleta en cráneo, variaciones en costillas, esternebras y falanges, comparado con el grupo testigo.

En el grupo de hembras tratadas con CdCl_2 se encontró toxicidad materna ya que hubo disminución de la ganancia del peso corporal materno, así como toxicidad embrionaria y fetal ya que el total de reabsorciones y el número de fetos muertos aumentó, mientras que los fetos vivos por camada, el peso de la camada y la longitud de los fetos fue menor. En la revisión externa se encontró excencefalia, tronco de lado, variaciones en extremidades y cola. En la evaluación esquelética se observó efecto sobre la formación del sistema óseo, los fetos presentaron osificación incompleta y ausencia de los huesos del cráneo, variaciones en las vértebras, costillas, esternones y falanges, comparado con el grupo testigo.

Con base en lo anterior se puede mencionar que la administración de 5.28 mg/kg de CH_3COOTI en el día 7 de gestación a ratones hembra de la cepa CD-1, produce toxicidad embrionaria, fetal, anormalidades externas y esqueléticas, no obstante, falta realizar más experimentos para saber si estos efectos comprometen la supervivencia del organismo en desarrollo. Mientras que el Cd se confirma que es un buen testigo positivo para la inducción de efectos teratogénicos.

2. Introducción

La exposición a metales pesados va aumentando debido a la contaminación procedente de la industrialización (Caserta *et al.*, 2013), los productos industriales y los desechos electrónicos pueden contaminar el suelo y el agua y después ser absorbidos por las plantas y los animales que son consumidos por los seres humanos, entre ellos, las mujeres embarazadas (**Figura 1**) (Vimalraj *et al.*, 2017). Los metales pesados son elementos naturales que tienen un peso atómico elevado y una densidad superior de 5 g/cm^3 (Tchounwou *et al.*, 2012).

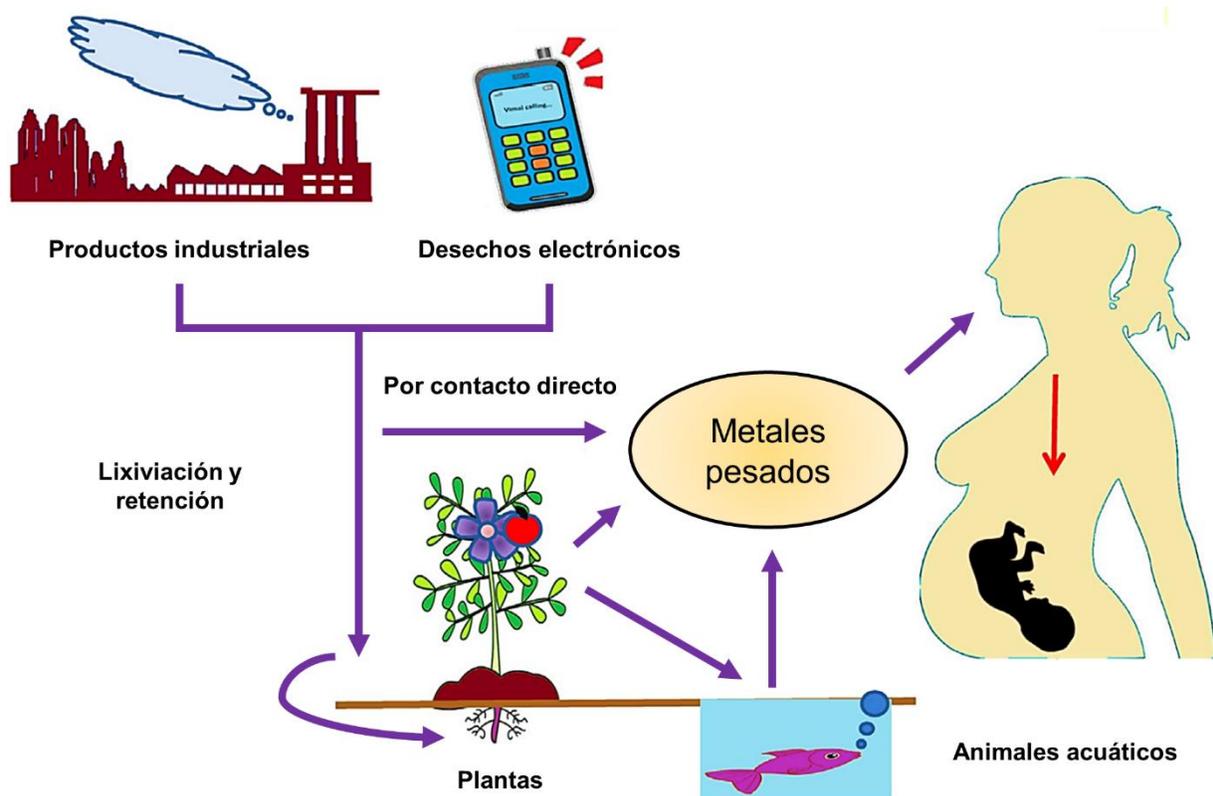


Figura 1. Diagrama de la exposición a metales pesados que muestra cómo ingresa al humano y llega al embrión o feto, produciendo efectos en el crecimiento y el desarrollo (modificado de Vimalraj *et al.*, 2017).

Después de que los metales son absorbidos, estos ingresan al torrente sanguíneo, se distribuyen hacia diversos órganos y tejidos como el hígado, riñón, hueso, tejido mamario y adiposo, páncreas y cerebro, donde se metabolizan y pueden estar involucrados en varios procesos fisiológicos. Se ha demostrado que la barrera placentaria no es completamente impermeable al paso de agentes tóxicos, entre ellos, algunos metales pesados (Caserta *et al.*, 2013), por lo que la exposición embrionaria o fetal se produce a través del líquido amniótico, la placenta y el cordón umbilical. Una vez que logran atravesar esta barrera pueden interferir con la función placentaria, en particular con el transporte de elementos traza esenciales para el crecimiento y desarrollo fetal (Osman *et al.*, 2000; Kippler *et al.*, 2010).

Se ha reportado que mujeres embarazadas expuestas a metales pesados presentan aborto espontáneo, productos con anomalías congénitas, parto prematuro, mortalidad, discapacidades del desarrollo, trastorno del comportamiento y predisposición a desarrollar tumores en los productos (Vimalraj *et al.*, 2017). En concentraciones altas o no habituales, inducen cambios a nivel molecular, celular, tisular y orgánico, debido a que los organismos no pueden adaptarse a su presencia (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013). Algunos metales que han ganado atención especial debido a su toxicidad son el talio (Tl) y el cadmio (Cd).

2.1 Talio (Tl)

El Tl es un metal brillante, dúctil, maleable de color gris azulado (IPCS, 1996), descubierto por Sir William Crookes en 1861. Es un metal pesado con peso atómico de 204.4, número atómico 81, densidad 11.9 g/cm³, punto de fusión 303.5 °C y punto de ebullición 1,457 °C (Blain y Kazantzis, 2015). Este metal no se encuentra puro en la naturaleza ya que es elemento traza en algunos minerales como la crookesita, hutchinsonita, vrbaíta, lorandita, feldespatos, micas, rocas volcánicas y asociado principalmente con potasio (K) y rubidio (Rb) (Galván-Arzate y Santamaría, 1998; Repetto y del Peso, 2012).

El Tl naturalmente está en bajas concentraciones en el ambiente y no se conoce su necesidad en algún proceso biológico, no es esencial (Galván-Arzate y Santamaría, 1998). Es un elemento incluido en la misma familia que el aluminio (Al), el galio (Ga) y el indio (In). Sus estados de oxidación más comunes son Tl (1+) o Tl (3+), la forma Tl^{3+} se parece al Al, y la forma Tl^{1+} a los metales alcalinos, principalmente el potasio (K^{1+}). La naturaleza tóxica del Tl^{1+} se debe a su similitud con el K^{1+} en el radio iónico y la carga eléctrica (Thompson, 2015). Las formas comerciales más comunes del Tl, es CH_3COOTl , carbonato de Tl (Tl_2CO_3) y sulfato de Tl (Tl_2SO_4), donde el Tl está en el estado de oxidación 1+ o Tl(I) (Galván-Arzate y Santamaría, 1998; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

2.1.1 Usos del talio

El Tl es utilizado en aleaciones resistentes a los ácidos, a la corrosión y antifricción y en diversos equipos eléctricos y electrónicos, por ejemplo, cables de fibra óptica, accesorios de iluminación, instrumentos infrarrojos, equipos láser, medidoras de ozono, fabricación de vidrio, termómetros de baja temperatura y semiconductores. Además, el Tl se utiliza en la fabricación de bisutería, juegos pirotécnicos para crear un color verde, catalizador en la síntesis de compuestos orgánicos, y en la producción de pesticidas y ciertos fertilizantes de fosfato (IPCS, 1996).

En medicina, el Tl se ha usado en el tratamiento de la sífilis, la tuberculosis, la malaria y las enfermedades del cuero cabelludo; sin embargo, estas terapias se han suspendido debido a la alta toxicidad de este metal, actualmente se usa para obtener imágenes del miocardio y de tumores (IPCS, 1996). En medicamentos, productos de salud, pigmento en cosméticos y tratamientos depilatorios. Varios compuestos de Tl tienen aplicaciones tecnológicas e industriales, entre ellos, el CH_3COOTl , que se ha usado en productos farmacéuticos para la eliminación de vello facial e infecciones fúngicas del cuero cabelludo y bactericida. En fechas recientes se utiliza como catalizador en varios procesos químicos industriales (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

2.1.2 Fuentes de emisión, exposición y distribución en el cuerpo

Las plantas generadoras de energía por combustión de carbón, las fábricas de cemento, los procesos de refinación de petróleo y las actividades de fundición de minerales son fuentes de emisión que liberan cantidades pequeñas de TI al aire; otros ejemplos de fuentes de emisión son los sitios de desechos peligrosos y el humo del cigarro (Vimalraj *et al.*, 2017).

Las concentraciones de TI en el aire y en el agua son muy bajas (1 ng/m³ y 1 µg/L, respectivamente), en las grandes ciudades y zonas industriales la concentración en el aire puede alcanzar los 58 ng/m³ (IPCS, 1996). Las mayores exposiciones ocurren cuando se bebe agua o se consumen alimentos, especialmente frutas y vegetales verdes contaminados con TI (Vimalraj *et al.*, 2017). La persona promedio consume menos de 5 µg de TI por día. Se ha detectado TI en alimentos a una concentración media de menos de 100 µg/kg de peso seco, y se han encontrado concentraciones más altas en mariscos, por ejemplo, las concentraciones de TI en la carne roja oscilan entre 50 y 70 µg/kg, y las partes blandas de los moluscos o mariscos y pescados marinos contienen 349-2,930 µg/kg de peso húmedo (IPCS, 1996).

El TI se absorbe por el tracto gastrointestinal, a través de la piel y el tracto respiratorio. Una vez absorbido, se distribuye rápidamente por circulación sistémica en todo el cuerpo a todos los órganos donde en algunos casos se acumula, las concentraciones más altas se encuentran en el riñón después de una exposición aguda. La eliminación es principalmente a través del tracto gastrointestinal (heces), pero también por los riñones, la saliva, el cabello, la piel, las uñas, el sudor y la leche materna (Thompson, 2015). Una porción del TI que se ha acumulado en órganos y tejidos puede regresar gradualmente al torrente sanguíneo (**Figura 2**). El TI(I) se absorbe y distribuye rápidamente debido a su similitud con el catión K¹⁺, pero se acumula en el cuerpo como resultado de su lenta tasa de eliminación (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

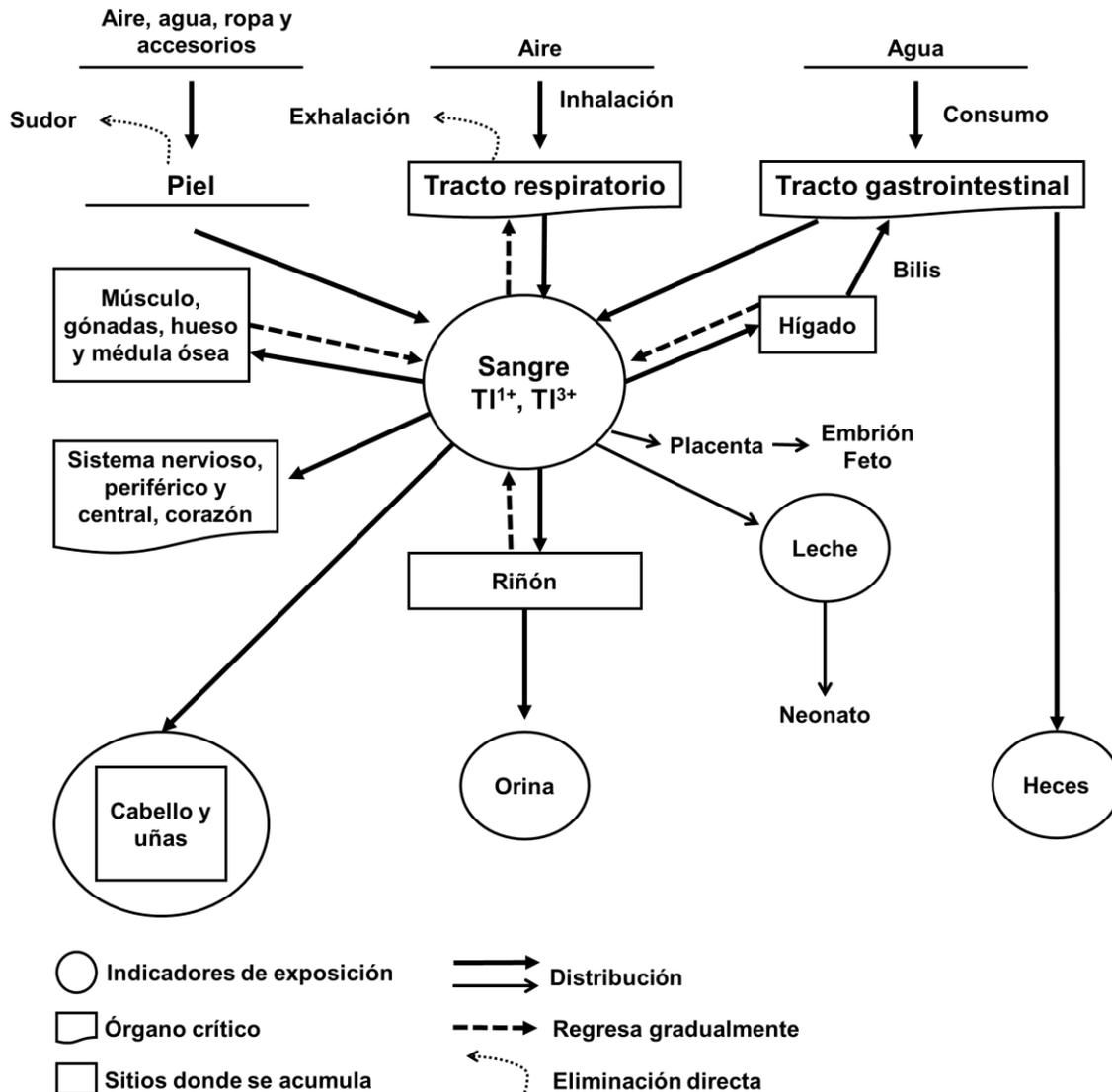


Figura 2. Distribución del TI en el cuerpo humano (modificado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

2.1.3 Efectos sobre la salud

El TI es altamente tóxico, independientemente de la vía de exposición y se considera uno de los metales más dañinos para los mamíferos. Es comparable y en ciertos casos más tóxico que el As, Cd, Ni, Hg o Pb (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013). La Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los EE. UU. lo clasifica como un contaminante ambiental e industrial y un riesgo peligroso para la salud humana y la vida silvestre (EPA, 2019).

El Tl puede ser mortal a dosis bajas (desde 1 g) y la intoxicación aguda se produce a dosis de 8 a 12 mg de Tl/kg de peso corporal en humanos. Este tipo de intoxicación se caracteriza por gastroenteritis con náuseas, vómito, diarrea y dolor abdominal, síntomas que aparecen a las pocas horas después del contacto. A los pocos días, afecta al sistema nervioso y aparecen síntomas como parestesia, dolor y sensibilidad en extremidades, debilidad, confusión mental o delirio y convulsiones, junto con problemas respiratorios y circulatorios que a menudo culmina en la muerte. Cuando el período se extiende más allá de una semana aproximadamente, puede desarrollarse un cuadro neurológico variado, con predominio de cefalea, ataxia, temblor, parestesias y atrofia muscular. Después de una a tres semanas, se desarrolla alopecia en todo el cuerpo (Blain y Kazantzis, 2015).

2.1.4 Efectos en la reproducción

La intoxicación por Tl interfiere con otros aspectos de la salud, incluida la fertilidad en mujeres y hombres que están expuestos a este metal pesado (Hoffman y Hoffman, 2000). Se dispone de datos limitados sobre los efectos de este metal en la reproducción humana, aunque se sabe que después de una intoxicación crónica causa alteraciones en el ciclo menstrual; la libido, la potencia masculina y los espermatozoides (IPCS, 1996).

Se han investigado los efectos del Tl en la reproducción masculina en ratas (Formigli *et al.*, 1986; Gregotti *et al.*, 1992) y ratones (Wei, 1987), estos estudios mostrados en el **Cuadro I**, sugieren que la exposición al Tl puede producir efectos adversos en los testículos y los espermatozoides (EPA, 2009).

Cuadro I. Efectos del Tl en la reproducción

Modelo	Compuesto	Vía de administración	Efectos	Referencias
Ratas macho Wistar	Tl ₂ SO ₄ (10 ppm)	Oral en agua potable durante 30 o 60 días	Desarreglo del epitelio tubular, vacuolación citoplasmática y distensión del retículo endoplásmico liso de las células de Sertoli, actividad testicular reducida de la glucuronidasa, altas concentraciones de Tl en los testículos y disminución de la motilidad del esperma.	Formigli <i>et al.</i> , 1986
Ratones macho Kunming	Tl ₂ CO ₃ (0.001, 0.01, 0.1, 1 y 10 mg/L)	Oral en agua potable durante 6 meses	Mayor número de espermatozoides muertos y deformes, motilidad afectada.	Wei, 1987
Ratas macho Sprague-Dawley (células de Sertoli)	Tl ₂ SO ₄ (35, 7 y 1.4 µg/g de testículo)	<i>In vitro</i>	Cambios ultraestructurales en las células de Sertoli, desprendimiento de las células germinales.	Gregotti <i>et al.</i> , 1992

Tl₂SO₄: Sulfato de Tl(I), Tl₂CO₃: Carbonato de Tl(I).

2.1.5 Efectos en el desarrollo embrionario

La placenta es el punto de contacto entre la circulación materna y fetal. Es el medio por el cual, todos los nutrientes necesarios llegan al feto, actúa como barrera para evitar el paso de sustancias tóxicas, incluidos los metales pesados. Si los metales logran atravesar esta barrera se puede interferir con la función placentaria, en particular el transporte de elementos traza esenciales para el crecimiento y desarrollo fetal (Osman *et al.*, 2000; Kippler *et al.*, 2010). En trabajos realizados con ratas (Rade *et al.*, 1982; Ziskoven *et al.*, 1983) y ratones (Olsen y Jonsen, 1982; Ziskoven *et al.*, 1983) se reportó que los compuestos de Tl son capaces de cruzar la placenta y llegar al feto a los 30 min (Ziskoven *et al.*, 1983), presentando un pico a las 4 h (Olsen y Jonsen, 1982; Rade *et al.*, 1982; Ziskoven *et al.*, 1983).

Los trabajos en ratas (Gibson y Becker, 1970; Rossi *et al.*, 1988; Barroso-Moguel *et al.*, 1992; Barroso-Moguel *et al.*, 1996) y ratones (Álvarez-Barrera *et al.*, 2019) proporcionan evidencia de que la exposición al TI durante el desarrollo puede producir anomalías externas, efectos en el desarrollo del sistema nervioso autónomo vascular, los huesos y reducir el peso corporal fetal (EPA, 2009) como se muestra en el **Cuadro II**.

Cuadro II. Efectos del TI en el desarrollo embrionario

Modelo	Compuesto	Vía de administración	Efectos	Referencias
Ratas Sprague-Dawley	Tl ₂ SO ₄ (2.5 o 10 mg/kg)	Intraperitoneal durante la fase temprana (8,9 y 10) o tardía (12, 13 y 14) de gestación	Reducción del peso corporal, aumento en la incidencia de hidronefrosis y falta de osificación en vértebras.	Gibson y Becker, 1970
Ratas NOS	Tl ₂ SO ₄ (1 mg/dL)	Oral en agua potable del día 1 de gestación hasta el destete Durante 60 días	Alteración del desarrollo del sistema nervioso autónomo vascular con una reducción de la reactividad vasomotora, de los receptores α, β-adrenérgicos y muscarínicos.	Rossi <i>et al.</i> , 1988
Ratas Wistar recién nacidas	CH ₃ COOTI (32 mg/kg)	Intraperitoneal en el día 1 postnatal	Diarrea y alopecia, retraso en la osificación de las extremidades superiores, células cartilaginosa alteradas o muertas, disminución del cartílago y trabéculas óseas escasas.	Barroso-Moguel <i>et al.</i> , 1992
Ratas Wistar recién nacidas	CH ₃ COOTI (16 mg/kg)	Intraperitoneal en el día 1 postnatal	Reducción de la talla, alopecia, diarrea y atrofia muscular progresiva en ambos miembros posteriores.	Barroso-Moguel <i>et al.</i> , 1996
Ratones CD-1	CH ₃ COOTI (18.5, 9.25, 4.62 mg/kg)	Intraperitoneal en el día 7 de gestación	Anormalidades externas (tronco de lado, extremidades superiores e inferiores rotadas, variaciones en cola) y esqueléticas (retraso en la osificación del cráneo, costillas y extremidades).	Álvarez-Barrera <i>et al.</i> , 2019

CH₃COOTI: Acetato de TI(I), Tl₂SO₄: Sulfato de TI(I).

Gibson y Becker (1970) trataron con Tl_2SO_4 (2.5 o 10 mg/kg) por vía ip, durante la fase temprana (días 8, 9 y 10) o tardía (días 12, 13 y 14) de gestación a ratas preñadas de la cepa Sprague-Dawley, y encontraron reducción del peso corporal de los fetos, aumento en la incidencia de hidronefrosis y falta de osificación en vertebras. Por otro lado, Rossi *et al.*, (1988), al administrar en agua potable el mismo compuesto a ratas de manera pre- y postnatal (1 mg/dl del día 1 de gestación hasta el destete), encontraron que el TI altera el desarrollo del sistema nervioso autónomo vascular con una reducción de la reactividad vasomotora, de los receptores α , β -adrenérgicos y muscarínicos.

Barroso-Moguel *et al.*, (1992) administraron 32 mg/kg de CH_3COOTI vía ip en el día 1 postnatal a ratas recién nacidas, sacrificadas en diferentes momentos. Los investigadores observaron diarrea, alopecia, retraso en la osificación de las extremidades superiores y alteraciones en las células cartilagosas, con disminución del cartílago y trabéculas óseas escasas. En otro estudio realizado por el mismo grupo de investigación, la administración de una dosis menor de CH_3COOTI (16 mg/kg), en el día 1 postnatal, produjo una reducción de la talla, alopecia, diarrea y atrofia muscular progresiva en miembros posteriores, durante 50 días posteriores al tratamiento (Barroso-Moguel *et al.*, 1996).

En trabajos previos realizados en el laboratorio de teratogénesis de la FES-Zaragoza, Álvarez-Barrera *et al.*, (2019) encontraron que la administración de 4.62, 9.25 y 18.5 mg/kg de CH_3COOTI , aplicado vía ip a ratonas preñadas de la cepa CD-1 en el día 7 de gestación, provocó anomalías externas y esqueléticas en la descendencia. En la dosis de 18.5 el porcentaje de fetos con anomalías (en tronco, cola y extremidades) fue del 46%. En la dosis de 9.25 el porcentaje de fetos con variaciones en extremidades fue del 72%. Finalmente, el 53% de los fetos obtenidos en la dosis de 4.62 presentaron variaciones en cola y extremidades. Con lo anterior se observa que los mayores porcentajes de fetos con anomalías externas se encontraron en las dosis de 4.62 y 9.25 (53 y 72%, respectivamente). Respecto a la evaluación esquelética el 100% de los fetos reportó retraso en la osificación de los huesos del cráneo en la dosis más alta, 90% en la dosis de 9.25 y un porcentaje de 96% en la dosis más baja.

Con base en lo mencionado anteriormente, en este trabajo siguiendo el mismo protocolo, se aplicó la dosis de 5.28 mg/kg de CH₃COOTI, que es una dosis intermedia entre las concentraciones donde se encontró mayor efecto, para conocer los efectos que pueda inducir el TI(I) sobre el desarrollo embrionario y fetal.

2.2 Cadmio (Cd)

El Cd (número atómico 48; peso atómico 112.40) es un metal blanco ligeramente azulado descubierto por el químico alemán F. Strohmeier en 1817, no se encuentra naturalmente en estado libre, siendo la greenockita (sulfuro de Cd) el único mineral de Cd (Londoño-Franco *et al.*, 2016). Es un elemento natural de la corteza terrestre que generalmente está en minerales combinado con otros elementos tales como oxígeno (óxido de Cd), cloro (CdCl₂) o azufre (sulfato de Cd, sulfuro de Cd) (Zurera-Cosano y Amaro-López, 2003). En la naturaleza está presente en bajas concentraciones, principalmente en asociación con los minerales de sulfuro de zinc (Zn), Pb y cobre (Cu) (Thompson y Bannigan, 2008). El Cd se usa en pinturas, plásticos, pilas, baterías, abonos, soldaduras, asbestos, pigmentos, barras (reactores nucleares), farmacéutica, fotografía, vidrio, porcelana, entre otros (Londoño-Franco *et al.*, 2016).

2.2.1 Fuentes de emisión, exposición y distribución en el cuerpo

La deposición atmosférica de Cd en el aire por las diferentes industrias, las actividades mineras, la aplicación de fertilizantes que lo contienen y el lodo de aguas residuales en las tierras de cultivo pueden conducir a la contaminación de los suelos y al aumento del consumo de Cd (Järup y Åkesson, 2009). Lo que lo convierte en un contaminante ambiental muy tóxico presente prácticamente en todos los alimentos, también se encuentra en casi todo lo que bebemos y respiramos, los suelos y rocas, incluso el carbón y abonos minerales contienen algo de Cd (Olsson *et al.*, 2002).

Las concentraciones de Cd en los alimentos varían en gran medida, según el tipo de alimento y el nivel de contaminación ambiental. En los moluscos y crustáceos, por ejemplo, las ostras y otros moluscos bivalvos, cefalópodos y cangrejos están presentes altas concentraciones. Asimismo, se encuentran cantidades elevadas en vísceras

(hígado y riñón), semillas oleaginosas, granos de cacao y ciertos hongos silvestres. Los cereales (arroz y trigo), los vegetales de hoja verde, la papa, la zanahoria y el apio, contienen mayor concentración de Cd que la carne, el huevo, la leche, los productos lácteos y el músculo de pescado (Järup y Åkesson, 2009).

La concentración determinada "segura" por la OMS para la ingesta humana de Cd se ha estimado en 500 µg/semana (Thompson y Bannigan, 2008). La ingesta promedio de Cd de los alimentos generalmente varía entre 8 y 25 µg por día (Järup y Åkesson, 2009). Los mejillones, las vieiras y las ostras son una fuente importante de Cd y contienen de 100 a 1000 µg/kg, las carnes y frutas contienen de 1 a 50 µg/kg (Ara *et al.*, 2016). Otra fuente de exposición es el tabaco, debido a que las hojas acumulan Cd. Un cigarrillo puede contener aproximadamente 1 a 2 µg de Cd (Järup y Åkesson, 2009).

El Cd tiene una vida media biológica extremadamente larga que, esencialmente, la convierte en una toxina acumulativa con un componente rápido de 75–128 días y un componente lento de 7.4–26.0 años. Alrededor del 5% de una dosis dada de Cd se absorbe desde el tracto gastrointestinal aumentando a 20-30% en algunos individuos (Thompson y Bannigan, 2008) y el 90% de una dosis depositada en el pulmón es absorbida (Waalkes, 2000).

Una vez absorbido se acumula en varios tejidos y su concentración en sangre disminuye; el hígado y el riñón generalmente constituyen la mayor parte de la carga corporal total de Cd. La acumulación hepática y renal puede deberse a la capacidad de estos órganos para producir grandes cantidades de metalotioneína (MT), una proteína de unión a metales con alta afinidad por el Cd. La presencia de MT celular disminuye notablemente los efectos adversos del Cd. Sin embargo, probablemente como consecuencia de la unión a la MT, el Cd se elimina lentamente del cuerpo (Waalkes, 2000).

2.2.2 Efectos sobre la salud

La Agencia de Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR, por sus siglas en inglés) y la EPA de los Estados Unidos clasifican al Cd en el 7° lugar en la lista de prioridades de sustancias peligrosas. La exposición de Cd en humanos por inhalación e ingesta provoca efectos gastrointestinales agudos con vómitos, diarrea y afecta al sistema respiratorio (Nordberg, 2009). La exposición crónica daña a diferentes órganos como el riñón, corazón, pulmón, huesos, placenta, el sistema nervioso central y periférico (Nava-Ruiz y Méndez-Armenta, 2011), aumenta el riesgo de desarrollar cáncer (Kippler *et al.*, 2012) y en el peor de los casos conduce a la muerte (Järup y Åkesson, 2009). Los estudios en roedores han demostrado que la inhalación crónica de Cd causa adenocarcinomas pulmonares (Waalkes, 2000).

Las mujeres pueden verse más afectadas ya que se ha encontrado que presentan mayores concentraciones de Cd en sangre, orina y riñones que los hombres. Estudios epidemiológicos indican que las mujeres tienen mayor riesgo de padecer trastornos óseos inducidos por el Cd. Un ejemplo es la enfermedad de Itai-itai que es una combinación de daño renal, osteomalacia y osteoporosis, a menudo con múltiples fracturas óseas espontáneas, es la forma más avanzada de daño óseo inducido por Cd, la cual afecta casi exclusivamente a mujeres ancianas y multíparas. La disminución de la densidad mineral ósea y el mayor riesgo de fracturas se correlacionaban con la exposición al Cd a largo plazo en mujeres posmenopáusicas (Vahter *et al.*, 2007).

2.2.3 Efectos en la reproducción

El Cd funciona como un disruptor endocrino (Johnson *et al.*, 2003; Ali *et al.*, 2010) y puede afectar la reproducción (Henson y Chedrese, 2004; Kippler *et al.*, 2012). Existe gran cantidad de trabajos que describen los efectos sobre la gametogénesis tanto en hombres y en mujeres (Thompson y Bannigan, 2008). Algunos de estos trabajos se muestran en el **Cuadro III**.

Cuadro III. Efectos del Cd en la reproducción

Modelo	Compuesto	Vía de administración	Efectos	Referencias
Ratas macho Sprague-Dawley	CdCl ₂ (100 o 150 mg/kg)	Oral Dosis única	Necrosis testicular focal y reducción de la espermatogénesis.	Kotsonis y Klaassen, 1977
Hámster hembra dorado	CdCl ₂ (5 o 10 mg/kg)	Subcutánea Dosis única	Se inhibió la ovulación y se asoció con necrosis, hemorragia ovárica y disminución de la concentración de progesterona en suero.	Saksena y Salmonsén, 1983
Ratas macho	CdCl ₂ (7 mg/kg)	Subcutánea Dosis única	Hemorragia testicular y edema.	El-Ashmawy y Youssef, 1999
Ratas hembra Sprague-Dawley	CdCl ₂ (3 o 5 mg/kg)	Subcutánea Dosis única (día del diestro)	Supresión de la esteroidogénesis ovárica, provocada por la disminución de la concentración inicial de progesterona, testosterona, y el estradiol.	Piasek y Laskey, 1994 Piasek <i>et al.</i> , 2002
Ratas macho Sprague-Dawley	CdCl ₂ (0,6 mg/kg)	Subcutánea durante 6 semanas	Acumulación de Cd en los testículos, en las espermatogonias y espermatocitos, lo que resultó en la reducción de estos tipos celulares.	Aoyagi <i>et al.</i> , 2002

CdCl₂: Cloruro de Cd (II).

2.2.4 Efectos en el desarrollo embrionario

Estudios con animales han confirmado que el Cd induce efectos teratogénicos y embriotóxicos (**Cuadro IV**). Se ha observado que los efectos que produce, dependen de la cepa y especies investigadas, la dosis y vía de administración, así como de la etapa de la embriogénesis (Thompson y Bannigan, 2008).

Cuadro IV. Efectos del Cd en el desarrollo embrionario (una sola aplicación)

Modelo	Compuesto	Vía de administración	Efectos	Referencias
Hámster dorado	CdSO ₄ (2 mg/kg)	Intravenosa Día 8 o 9 (temprano y al final del día) de gestación	Embrioletalidad, exencefalia y defectos oculares (temprano el día 8 de gestación). Defectos de las costillas y las extremidades superiores (final del día 8). Defectos de las extremidades inferiores (Temprano y al final del día 9).	Ferm, 1971
Ratones CD-1	CdSO ₄	Intraperitoneal Día 9 de gestación	Malformaciones de las extremidades, la cara, el tronco y la cola.	Layton y Layton, 1979
Hámsteres	CdSO ₄ (2 mg/kg)	Intravenosa Día 8 de gestación	Anormalidades externas, internas y esqueléticas como exencefalia, microftalmia, labio leporino, paladar hendido, agenesia renal y costillas fusionadas.	Gale y Layton, 1980
Ratón C57BL/6J	CdCl ₂ (4 mg/kg)	Intraperitoneal Día 7, 8, 9 o 10 de gestación	Defectos en el tubo neural como exencefalia en el día 7 u 8 (durante la neurulación). Muerte celular ocasionando que el tubo neural se reabriera en el día 9 o 10.	Webster y Messerle, 1980
Ratón C57BL/6J	CdCl ₂ (4 mg/kg)	Intraperitoneal Día 8, 9 o 10 de gestación	Reducción en las extremidades superiores e inferiores, hipertrofia, sindactilia y polidactilia en extremidades inferiores.	Messerle y Webster, 1982

CdSO₄: Sulfato de Cd (II), CdCl₂: Cloruro de Cd (II).

Ferm (1971) al administrar CdSO_4 en el día 8 o 9 de gestación en hámster dorado, encontró que los animales tratados temprano durante el octavo día de gestación, tuvieron mayor número de anomalías y reabsorciones, disminuyendo cuando los animales fueron tratados el noveno día de gestación. Por otra parte, Gale y Layton (1980) al administrar el mismo compuesto en el día 8 de gestación en seis cepas de hámster, encontraron que todas exhibieron los mismos tipos de efectos adversos, como muerte embrionaria, anomalías externas, internas y del sistema esquelético, pero observaron algunas diferencias entre cepas en la respuesta embriotóxica. Concluyendo que el daño producido por el Cd, depende del momento de la administración durante el período de gestación y de la cepa.

Layton y Layton (1979) al administrar CdSO_4 a ratonas preñadas en el día 9 de gestación, encontraron que el Cd indujo una alta incidencia de malformaciones, concluyendo que el efecto producido depende del período de gestación, la dosis y de una serie de variables embrionarias y maternas, algunas bajo control genético. Webster y Messerle (1980) reportaron que la administración de CdCl_2 a ratonas preñadas en el día 7 u 8 de gestación, afecta las células precursoras del tubo neural, provocando la exencefalia y en el día 9 o 10 de gestación, causó que el tubo neural se reabriera. Por otro lado, Messerle y Webster (1982) encontraron que la aplicación del mismo compuesto en el día 8, 9 o 10 de gestación, aumenta la formación de citolisosomas y afecta las células del tubo neural, mesodermo y ectodermo, provocando los efectos en las extremidades.

2.3 Modelo de experimentación

El ratón común, *Mus musculus* (**Figura 3**) como organismo modelo en la ciencia sigue vigente por su estrecha relación evolutiva con los seres humanos, además de presentar distintas ventajas que incluyen un tiempo de maduración sexual de 8 a 9 semanas, se adapta bien a la vida en el laboratorio, se conservan y crían en jaulas que requiere poco espacio y tiene un bajo costo de manutención comparado con otros mamíferos (Pierce, 2005).

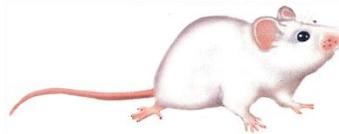
Los ratones tienen camadas grandes (12 crías en promedio), son dóciles y fáciles de manejar. La producción de gametos y los procesos reproductivos del ratón es muy similar a la de los seres humanos, solo que los tiempos son diferentes. En el ratón el periodo de gestación dura 19-21 días, alcanza la pubertad entre la quinta y sexta semana después del nacimiento y pueden vivir más de 2 años, dependiendo de la cepa. El genoma de ratón, está distribuido en 19 pares de cromosomas autosómicos y un par de cromosomas sexuales y tiene gran semejanza con el genoma humano (Pierce, 2005).



El ratón
Mus musculus

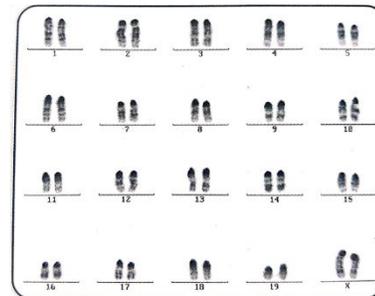
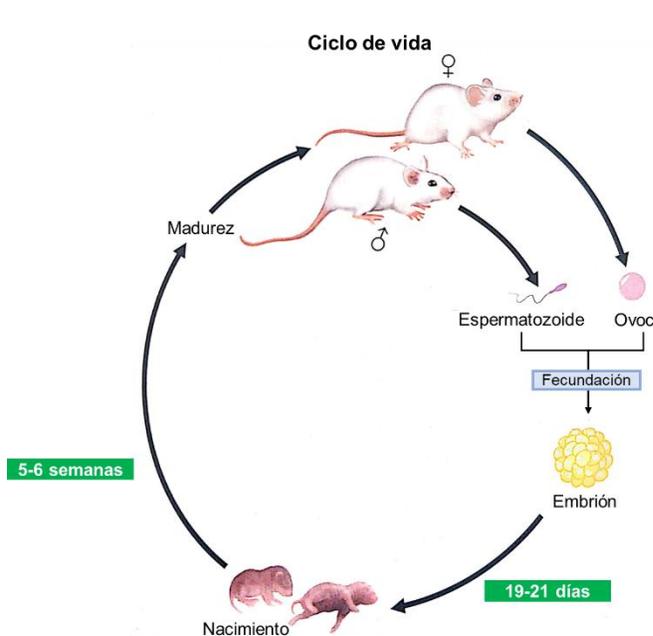
VENTAJAS

- Estrechamente relacionado con los seres humanos
- Tamaño pequeño
- Reproducción rápida
- Fácil de criar en el laboratorio
- Tolera la endogamia



CARACTERÍSTICAS

- Taxonomía: Mamíferos
- Tamaño: 5-7.6 cm
20 gramos
- Anatomía: Características corporales típicas de los roedores
- Hábitat: Campos, casas y otras construcciones humanas



Cromosomas

GENOMA

- Cromosomas: 19 pares de cromosomas autosómicos y 1 par de cromosomas sexuales ($2n=40$)
- Cantidad de DNA: 2.600 millones de pares de bases
- Número de genes: 26.762
- Porcentaje de genes en común con los seres humanos: 99%
- Tamaño aprox. del gen: 40.000 pares de bases
- Genoma secuenciado en el año: 2002

Figura 3. Características del ratón *Mus musculus* que permite utilizarlo como modelo experimental (tomada de Pierce, 2005).

El ratón es utilizado en las pruebas de toxicología del desarrollo, debido a que su proceso reproductivo es muy similar a la de los seres humanos, incluyendo los mecanismos básicos ocurridos durante el desarrollo embrionario (Bolon, 2015). El desarrollo embrionario y fetal del ratón está comprendido por varios periodos principales que son: la concepción, pre-implantación, implantación, organogénesis, y crecimiento fetal, cada periodo puede ser dividido en varios eventos importantes mostrados en el **Cuadro V**.

El periodo de mayor sensibilidad a la inducción de alteraciones morfológicas es la organogénesis, ya que es el periodo donde se originan y desarrollan los órganos y sistemas, por medio de la multiplicación y diferenciación celular. Al inicio de la organogénesis (día 7.0), comienza el desarrollo del sistema nervioso, donde la placa neural es el primer órgano embrionario que se especifica, la cual se plegará sobre sí misma y comenzará a fusionarse dando lugar al tubo neural, en un proceso llamado neurulación, que a través del crecimiento y diferenciación finalmente se desarrolla en el cerebro y la médula espinal (Bolon y Ward, 2015; Chen *et al.*, 2017).

Cuadro V. Desarrollo embrionario y fetal del ratón	
Eventos	Día gestacional (GD)
Concepción	0.5
Cigoto	0.5-1.0
Pre-implantación	1-0
Mórula	1.5-2.5
Blastocisto	3.0-4.0
Implantación	4.5-5.0
Gastrulación	6.0-6.5
Inicio de la organogénesis	7.0-7.25
Placa neural (primordio del sistema nervioso central)	7.0-7.5
Pliegues neurales	7.5
Tubo cardiaco (primordio del corazón)	7.75
Pares de somita no.1	7.75-8.0
Pares de somitas no. 4-5 (formación del tubo neural)	8.5
Diferenciación de la cresta neural	8.5
Formación de las tres vesículas cerebrales primarias (prosencefalo, mesencefalo, rombencefalo)	9.0
Brote de la extremidad anterior	9.5-9.75
Brote de cola	9.5-10.0
Brote de extremidad superior	10.0-10.3
Meato auditivo (canal auditivo)	12.0-13.0
Pinnas	13.0-14.0
Fin de la organogénesis	15.0
Cierre de la hernia umbilical	15.5-16.0
Crecimiento fetal	16.0-19-0
Nacimiento	19.0

Datos tomados de Bolon y Ward, 2015; Chen *et al.*, 2017

3. Justificación

El TI es un contaminante ambiental y se considera peligroso para los mamíferos, en particular para la salud humana ya que es altamente tóxico independientemente de la vía de exposición. Las mujeres embarazadas pueden estar en contacto con el TI por los alimentos, el aire, el agua y el humo de cigarrillos, además se sabe que el TI es capaz de atravesar la barrera placentaria y llegar al organismo en desarrollo.

En estudios recientes en el laboratorio de teratogénesis de la FES-Zaragoza realizados con CH_3COOTI administrado en ratones hembra preñadas, se encontró que el TI produce anomalías externas en los fetos descendientes de las hembras tratadas ip en el día 7 de gestación, donde el mayor porcentaje de fetos que presentaron anomalías externas se presentó en los grupos a los cuales se les administró las dosis de 4.62 y 9.25 mg/kg (53 y 72%, respectivamente), por lo que en este trabajo se aplicó una dosis de 5.28 mg/kg, que es una dosis intermedia entre las concentraciones ya trabajadas, a ratones hembra preñadas en el día 7 de gestación y se evaluó las anomalías externas y esqueléticas en los fetos. Por otra parte, se administró Cd como testigo positivo, el cual se sabe produce efectos teratogénicos (defectos del tubo neural como exencefalia) y embriotóxicos cuando se administra 3 mg/kg a ratonas preñadas en el día 7 u 8 de gestación.

4. Hipótesis

Se sabe que el TI atraviesa la barrera placentaria y provoca efectos en el desarrollo embrionario y fetal cuando se aplica en el día 7 de gestación a ratonas preñadas, además, produce anomalías externas en las dosis de 4.62 y 9.25 mg/kg, por lo tanto, si se administra 5.28 mg/kg de CH_3COOTI a ratones hembra preñadas de la cepa CD-1 en el día 7 de gestación, se espera encontrar un porcentaje entre el 53 y 72% de fetos que presenten anomalías externas y óseas (dosis-dependiente).

5. Objetivos

5.1 General

Evaluar los efectos sobre el desarrollo embrionario y fetal causados por el CH₃COOTI (5.28 mg/kg) y CdCl₂ (3 mg/kg) en los fetos de ratones hembra preñadas de la cepa CD-1 tratadas en el día 7 de gestación.

5.2 Particulares

- Evaluar la toxicidad materna de las hembras tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂.
- Evaluar la embriotoxicidad y fetotoxicidad de los descendientes de las hembras tratadas.
- Evaluar las anormalidades externas de los fetos obtenidos.
- Evaluar las anormalidades esqueléticas óseas y cartilaginosas de los fetos obtenidos.

6. Materiales y métodos

6.1 Compuestos químicos

Provenientes de Sigma-Aldrich: Acetato de TI(I) (CH₃COOTI; CAS no. 563-68-8; Munich, Germany; pureza del 97%), hidróxido de potasio (KOH) (CAS1310-58-3; Suiza; pureza del 85%), azul alcian (CAS75881-23-1; India) y cloruro de Cd(II) (CdCl₂; CAS no. 790-78-5; Munich, Germany). Adquiridos de Pisa: agua inyectable (CAS no. 75592). Obtenidos de HYCEL de México: rojo de alizarina (CAT 922; México).

6.2 Animales

Se utilizaron ratones hembras y machos de la cepa CD-1 de dos meses y medio a tres meses de edad (entre 30-35 g de peso) proporcionados por el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Campus II, UNAM. Se mantuvieron en condiciones controladas de bioterio con libre disposición de agua y alimento, a 12 horas luz/12 horas oscuridad (6 am/6 pm), a temperatura de 20 ± 5 °C y 50 ± 5 % de humedad.

6.3 Cruza

La crusa se llevó a cabo colocando dos hembras con un macho, posteriormente se revisó durante 5 días la presencia de tapón vaginal, el cual está formado por semen gelificado que persiste de 18 a 24 horas, la presencia de éste se consideró como el día 0 del periodo de gestación.

6.4 Tratamiento con talio o cadmio

Se formaron tres grupos de diez hembras preñadas, el primer grupo se trató con agua inyectable, el segundo con 5.28 mg/kg de CH_3COOTI y el tercero con 3 mg/kg de CdCl_2 , a los cuales se les administró vía ip una dosis única en el día 7 de gestación a las 08.00 am.

Se llevó un seguimiento diario del peso, así como una evaluación física de la madre para registrar cualquier anomalía.

6.5 Sacrificio y obtención de fetos

Independientemente del grupo (agua inyectable, tratados con CH_3COOTI o CdCl_2), las hembras fueron sacrificadas por dislocación cervical en el día 18 de gestación; se retiraron y pesaron los cuernos uterinos de cada hembra, se procedió a la extracción de los fetos y se revisó su estatus vivo o muerto, así como la presencia de reabsorciones tempranas y tardías, clasificando por cuerno; se pesaron los fetos por cuerno uterino de cada hembra (peso de la camada). Al terminar, los fetos se colocaron en frascos de vidrio con alcohol al 70% para ser fijados durante dos semanas.

6.6 Evaluación de la toxicidad embrionaria y fetal

Se registró el número de fetos totales (por cada cuerno uterino), implantes totales, fetos vivos, fetos muertos, reabsorciones tempranas y tardías y el peso fetal por camada.

6.7 Evaluación de anomalías externas

Para la evaluación de anomalías externas se midió la longitud y se determinó el género de cada feto, posteriormente se revisó en el estereoscopio (Nikon SMZ645) cualquier anomalía encontrada en la cabeza, cuello, tronco, cola y extremidades superiores e inferiores.

6.8 Tinción del esqueleto

Después de la revisión externa cada camada se dividió en tres partes, 50% se fijaron en solución Bouin, 25% se tiñó en rojo de alizarina para la revisión esquelética, tinción simple (TS) y 25% en rojo de alizarina y azul de alcian para la revisión de hueso-cartílago, doble tinción (DT).

6.8.1 Tinción de hueso con rojo de alizarina

Los fetos fueron eviscerados y posteriormente se dejaron cinco días en una solución que contenía rojo de alizarina (12 mg/L) e KOH al 1% (10g/L), después se colocaron en una solución de alcohol etílico-glicerina 1:1; por último, se transfirieron a glicerina pura para su posterior evaluación.

6.8.2 Tinción de hueso-cartilago con rojo de alizarina y azul de alcian

Se extrajeron las vísceras de los fetos. Se preparó la solución de azul de alcian (100 mg/L disuelto en 800 mL de etanol al 95% y 200 mL de ácido acético glacial), la cual se calentó y agitó durante 1 hora para homogeneizar, los fetos se colocaron en esta solución durante 21 días (dos cambios de la solución, por semana), terminado este proceso se dejaron teñir 5 días en solución que contenía rojo de alizarina (12 mg/L) e KOH al 1% (10g/L), después se colocaron en solución de alcohol etílico-glicerina 1:1; por último, se transfirieron a glicerina pura para su posterior evaluación.

6.9 Evaluación de anomalías esqueléticas

Para la evaluación de anomalías esqueléticas se procedió a revisar en el estereoscopio (Nikon SMZ645) los huesos de la cabeza y del esqueleto axial y distal de los fetos teñidos, tanto de la TS de rojo de alizarina (hueso) como de la DT de rojo de alizarina y azul de alcian (hueso-cartílago).

La revisión se llevó a cabo de la siguiente manera:

- a) **De la cabeza se revisó:** huesos del cráneo (mandíbula, maxilar superior, temporal, nasal, frontal, parietal, interparietal, supraoccipital, exoccipital), el hueso hioides y hueso del oído (anillo timpánico).

- b) **Del esqueleto axial se revisó:** huesos de la columna (vértebras cervicales y atlas, vértebras torácicas, lumbares, sacras y coccígeas) y huesos de la caja torácica (esternones y costillas).

- c) **Del esqueleto distal se revisó:** huesos de la cintura escapular (clavícula, y escápula), huesos de las extremidades superiores (húmero, cúbito, radio, metacarpos, falanges proximales, medias y distales), huesos de la cintura pélvica (ilion, isquion y pubis) y huesos de las extremidades inferiores (fémur, tibia, peroné, metacarpos, falanges proximales, medias y distales).

6.10 Análisis estadístico

Todos los datos de los tratamientos del grupo de CH_3COOTI o CdCl_2 se compararon contra el grupo testigo. Se utilizó *t de Student*, para encontrar las diferencias significativas en la ganancia de peso de la hembra, peso de la camada, peso de cada feto y la longitud cefalocaudal de los fetos. Para el número de reabsorciones, número de fetos vivos y muertos, anomalías externas y anomalías esqueléticas (huesos de la cabeza, del esqueleto axial y distal) se empleó χ^2 . En todos los casos se consideró significativo cuando presentaban una $p < 0.05$.

7. Resultados

7.1 Toxicidad materna

En el **cuadro VI** se muestran los resultados obtenidos de la diferencia de peso (final menos inicial) de las hembras tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂ por vía ip en el día siete de gestación, donde a pesar de que se registró disminución de peso en el grupo tratado con CH₃COOTI este no fue estadísticamente significativo. Por su parte, en el grupo tratado con CdCl₂ el peso corporal materno disminuyó estadísticamente, donde la diferencia es aproximadamente de 10 gramos.

Cuadro VI. Registro de peso de las hembras tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂ en el día 7 de gestación.

	0 (Testigo)	Tratamiento en mg/kg	
		CH ₃ COOTI	CdCl ₂
Número de hembras	10	10	10
Ganancia de peso (g) $\bar{X} \pm DE$	31.62 \pm 6.25	28.39 \pm 6.88	21.58 \pm 8.84*

Ganancia de peso: peso final menos peso inicial.

$\bar{X} \pm DE$, media \pm desviación estándar.

* P<0.05 vs. Grupo testigo (*t de Student*).

7.2 Toxicidad embrionaria y fetal

En el **cuadro VII** se muestran los resultados obtenidos de las camadas tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂ por vía ip en el día siete de gestación, al momento del sacrificio.

En el grupo tratado con CH₃COOTI se observó aumento en el total de reabsorciones y disminución en el peso de la camada y de cada feto, mientras que en el grupo tratado con CdCl₂, además se observó disminución en el número de fetos vivos por camada y disminución en la longitud de los fetos.

Cuadro VII. Datos de la toxicidad embrionaria y fetal de las camadas tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂ en el día 7 de gestación.

	0 (Testigo)	Tratamiento en mg/kg	
		CH ₃ COOTI	CdCl ₂
Camadas revisadas	10	10	10
Implantes totales ($\bar{X} \pm DE$) por camada	152 (15.2 \pm 2.39)	141 (14.1 \pm 2.42)	127 (12.7 \pm 4.69)
Fetos vivos totales ($\bar{X} \pm DE$) por camada	147 (14.7 \pm 2.35)	127 (12.7 \pm 2.58)	84** (8.4 \pm 5.25)
Fetos muertos totales ($\bar{X} \pm DE$) por camada	0	1 (0.1 \pm 0.31)	8** (0.8 \pm 1.47)
Hembras con reabsorciones (%)	4 (40)	8 (80)	10 (100)
Total de reabsorciones ($\bar{X} \pm DE$)	5 (0.5 \pm 0.7)	13** (1.3 \pm 0.94)	35** (3.5 \pm 3.89)
Peso de la camada $\bar{X} \pm DE$	24.92 \pm 3.62	17.29 \pm 5.5*	13.99 \pm 8.37*
Peso de cada feto $\bar{X} \pm DE$	1.69 \pm 0.12	1.34 \pm 0.29*	1.55 \pm 0.56
Longitud de fetos en cm $\bar{X} \pm DE$	2.4 \pm 0.07	2.2 \pm 0.24	2.1 \pm 0.14*

$\bar{X} \pm DE$, media \pm desviación estándar.

* P<0.05 vs. Grupo testigo (*t de Student*).

** P<0.05 vs. Grupo testigo (*j²*).

7.3 Anormalidades externas

En el **cuadro VIII** se muestran los resultados obtenidos de la revisión externa de los fetos. En la descendencia de las ratonas tratadas con CH₃COOTI se observó aumento significativo en la cantidad de fetos con fontanelas más abiertas de lo normal, tronco de lado, variaciones en cola, extremidades superiores e inferiores, canal en la espalda y hematoma (**Figura 4**), en tanto que en el grupo tratado con CdCl₂ presentó incremento en los fetos con excencefalia, tronco de lado, variaciones en cola, extremidades superiores e inferiores y microtia (**Figura 5**).

Cuadro VIII. Evaluación externa de los fetos obtenidos de las hembras tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂ en el día 7 de gestación.

	0 (Testigo)	Tratamiento en mg/kg	
		CH ₃ COOTI	CdCl ₂
Camadas revisadas	10	10	10
Fetos revisados	147	127	91
Fetos con anormalidades externas encontradas (%):			
Excencefalia	0	0	68 (74.7)**
Fontanelas abiertas	0	16 (12.5)**	0
Microtia	0	0	24 (26.3)**
Tronco de lado	2 (1.3)	59 (46.4)**	15 (16.4)**
Extremidades superiores rotadas	0	13 (10.2)**	6 (6.59)**
Extremidades inferiores rotadas	19 (12.9)	61 (48)**	66 (72.5)**
Variaciones en cola	2 (1.36)	28 (22)**	10 (10.9)**
Canal en la espalda	0	22 (17.3)**	0
Hematoma	0	23 (18.1)**	0
Fetos con al menos una anormalidad (%)	21 (14.2)	106 (83.4)**	91 (100)**

** P<0.05 vs. Grupo testigo (*j*²).

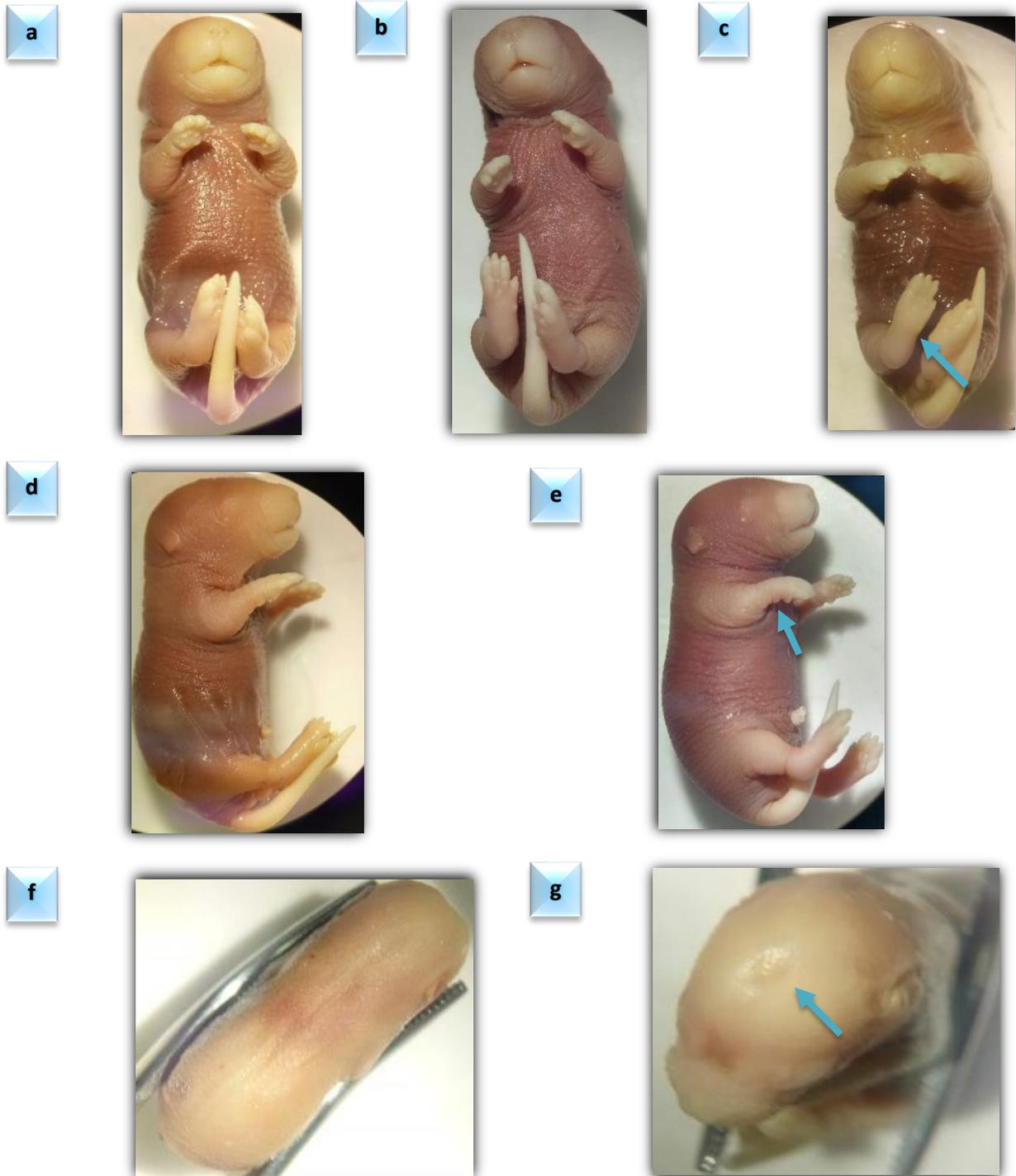


Figura 4. Anormalidades externas observadas en los fetos de hembras tratadas con 5.28 mg/kg de CH₃COOTI en el día 7 de gestación. a) Se muestra el testigo en posición frontal; b) tronco de lado; c) extremidad inferior derecha rotada; d) testigo en posición lateral; e) extremidad superior derecha rotada; f) canal en la espalda; g) fontanelas abiertas.

a**b****c****d****e****f**

Figura 5. Anormalidades externas observadas en los fetos de hembras tratadas con 3 mg/kg de CdCl_2 en el día 7 de gestación. a) Se muestra el testigo en posición frontal; b) extremidad inferior derecha rotada; c) testigo en posición lateral; d) exencefalia; e) extremidad superior izquierda rotada; f) microtia.

7.4 Anormalidades esqueléticas

7.4.1 Cráneo

En el **cuadro IX** se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de los huesos del cráneo de la TS (hueso) y DT (hueso-cartílago) de los fetos de las hembras tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂.

La descendencia tratada con CH₃COOTI presentó aumento significativo en la osificación incompleta del hueso nasal, frontal, parietal, interparietal y supraoccipital (**Figura 6b**), mientras que en el grupo tratado con CdCl₂ se encontró osificación incompleta del hueso frontal, exoccipital, maxilar y hueso temporal, también ausencia del hueso frontal, parietal, interparietal, supraoccipital y hueso temporal (**Figura 7b**).

Cuadro IX. Evaluación de los huesos del cráneo TS y DT de los fetos provenientes de las hembras tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂ en el día 7 de gestación.

		Tratamiento en mg/Kg					
		0 (Testigo)		CH ₃ COOTI		CdCl ₂	
		TS	DT	TS	DT	TS	DT
Fetos revisados		34	41	32	26	23	22
Tipo de variación en el cráneo (%):							
Nasal	OI	0	0	4 (12.5)**	2 (7.69)	1 (4.3)	1 (4.5)
Frontal	OI	0	0	7 (21.8)**	5 (19.2)**	9 (39.1)**	8 (36.3)**
	AU	0	0	0	0	9 (39.1)**	7 (31.8)**
Parietal	OI	0	0	8 (25)**	5 (19.2)**	1 (4.3)	0
	AU	0	0	0	0	17 (73.9)**	15 (68.1)**
Interparietal	OI	0	0	10 (31.2)**	6 (23)**	0	0
	AU	0	0	0	0	17 (73.9)**	15 (68.1)**
Supraoccipital	OI	1 (2.94)	0	19 (59.3)**	15 (57.6)**	3 (13)	0
	AU	0	0	0	0	17 (73.9)**	15 (68.1)**
Exoccipital	OI	0	0	0	1 (3.84)	2 (8.6)	11 (50)**
Maxilar	OI	0	0	0	2 (7.69)	9 (39.1)**	6 (27.2)**
Hueso temporal	OI	0	1 (2.43)	1 (3.12)	3 (11.5)	4 (17.3)**	8 (36.3)**
	AU	0	0	0	0	13 (56.5)**	7 (31.8)**
Fetos con al menos una anomalía (%)		1 (2.9)	1 (2.4)	21 (65.6)**	18 (69.2)**	20 (86.9)**	20 (90.9)**

Tinción simple (TS), Doble tinción (DT), Osificación incompleta (OI), Ausente (AU).

** P<0.05 vs. Grupo testigo (*j*²).

7.4.2 Esqueleto axial

En el **cuadro X** se muestran los resultados obtenidos de la evaluación del esqueleto axial de la TS (hueso) y DT (hueso-cartílago).

La descendencia tratada con CH_3COOTI presentó aumento significativo en costillas rudimentarias y cortas, esternesbras con osificación incompleta, asimétricas, forma de pesa, bipartitas y ausentes (**Figura 6 c, e y f**); mientras que, en el grupo tratado con CdCl_2 se encontró vértebras cervicales y atlas con osificación incompleta y engrosados, vértebras torácicas con osificación incompleta, unilateral, rudimentarias, fusionadas, bipartitas, en forma de pesa, planas y asimétricas, costillas rudimentarias, onduladas, bifurcadas y fusionadas, vértebras lumbares en forma de pesa, esternesbras con osificación incompleta, asimétricas, bipartitas, en forma de pesa, fusionadas y ausentes (**Figura 7 c, e, f, g e i**).

Cuadro X. Evaluación del esqueleto axial TS y DT de los fetos provenientes de las hembras tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂ en el día 7 de gestación.

		Tratamiento en mg/kg					
		0 (Testigo)		CH ₃ COOTI		CdCl ₂	
		TS	DT	TS	DT	TS	DT
Fetos revisados		34	41	32	26	23	22
Tipo de variación en el esqueleto axial (%):							
Vértebras cervicales y atlas	OI	0	0	0	0	0	8 (36.3)**
	ENG	0	0	0	0	13 (56.5)**	9 (40.9)**
Vértebras torácicas	OI	0	0	0	0	4 (17.3)**	0
	RU	0	0	0	0	8 (34.7)**	8 (36.3)**
	FU	0	0	0	0	9 (39.1)**	5 (22.7)**
	BI	0	0	0	0	3 (13.04)**	6 (27.2)**
	FP	0	0	0	0	8 (34.7)**	7 (31.8)**
	PL	0	0	0	0	3 (13.04)**	8 (36.3)**
	AS	0	0	0	0	3 (13.04)**	9 (40.9)**
	OU	0	0	0	0	7 (30.04)**	3 (13.6)**
Costillas	CO	0	1 (2.43)	3 (9.37)	5 (19.2)**	1 (4.3)	1 (4.5)
	RU	2 (5.88)	1 (2.43)	12 (37.5)**	6 (23)**	2 (8.6)	4 (18.1)**
	OND	0	0	0	1 (3.84)	0	3 (13.6)**
	BIF	0	0	0	0	4 (17.3)**	3 (13.6)**
	FU	0	0	0	0	7 (30.4)**	8 (36.3)**
Vértebras lumbares	FP	0	0	0	0	0	4 (18.1)**
Esternebras	OI	1 (2.94)	0	3 (9.37)	4 (15.3)**	5 (21.7)**	1 (4.5)
	AU	0	0	4 (12.5)**	0	5 (21.7)**	5 (22.7)**
	BI	1 (2.94)	1 (2.43)	8 (25)**	3 (11.5)	7 (30.4)**	5 (22.7)**
	AS	3 (8.8)	4 (9.7)	12 (37.5)**	14 (53.8)**	14 (60.8)**	20 (90.9)**
	FP	2 (5.88)	0	0	3 (11.5)**	4 (17.3)	3 (13.6)**
	FU	0	0	0	0	4 (17.3)**	0
Fetos con al menos una anomalía (%)		10 (29.4)	6 (14.6)	25 (78.1)**	22 (84.6)**	23 (100)**	22 (100)**

Tinción simple (TS), Doble tinción (DT), Osificación incompleta (OI), Ausente (AU), Bipartita (BI), Rudimentaria (RU), Asimétrica (AS), Forma de pesa (FP), Corta (CO), Ondulada (OND), Fusión (FU), Engrosado (ENG), Bifurcada (BIF), Plano (PL), Osificación unilateral (OU).

** P<0.05 vs. Grupo testigo (*j*²).

7.4.3 Esqueleto distal

7.4.3.1 Huesos de las extremidades superiores

En el **cuadro XI** se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de los huesos de las extremidades superiores de la TS o DT. Los resultados de las falanges se presentan como número de falanges teñidas observadas en los fetos revisados, entre el número que debe presentar un feto normal multiplicado por el total de fetos revisados.

La descendencia tratada con CH₃COOTI presentó disminución estadísticamente significativa en el número de huesos de las falanges proximales, medias y distales (**Figura 6h**); sin embargo, en el grupo de CdCl₂ a pesar de observar disminución en el número de huesos, este no fue diferente al compararlo con el grupo testigo.

Cuadro XI. Evaluación de huesos de las extremidades superiores TS y DT de los fetos provenientes de las hembras tratadas con CH₃COOT o CdCl₂ en el día 7 de gestación.

		Tratamiento en mg/Kg					
		0 (Testigo)		CH ₃ COOTI		CdCl ₂	
		TS	DT	TS	DT	TS	DT
Fetos revisados		34	41	32	26	23	22
Tipo de variación en extremidades superiores (%):							
Falanges proximales	No. de huesos	136/136 (100%)	156/164 (95.1%)	99/128 (77.3%)	47/104 (45.1%)**	82/92 (89.1%)	64/88 (72.7%)
Falanges medias	No. de huesos	112/136 (82.3%)	108/164 (65.8%)	64/128 (53.1%)**	32/104 (30.7%)**	59/92 (64.1%)	40/88 (45.4%)
Falanges distales	No. de huesos	170/170 (100%)	147/205 (71.7%)	115/160 (71.8%)**	28/130 (19.2%)**	110/115 (95.6%)	65/110 (59.0%)
Fetos con al menos una anomalía (%)		23 (67.6)	26 (63.4)	23 (71.8)	22 (84.6)	16 (69.5)	19 (86.3)

Tinción simple (TS), Doble tinción (DT)

** P<0.05 vs. Grupo testigo (*j*²)

7.4.3.2 Huesos de las extremidades inferiores

En el **cuadro XII** se muestran los resultados obtenidos de la evaluación de los huesos de las extremidades inferiores de la TS y DT.

La descendencia tratada con CH₃COOTI presentó disminución en el número de huesos de las falanges proximales, medias y distales (**Figura 6j**), mientras que en el tratamiento con CdCl₂ resultó solo en la disminución en el número de huesos de las falanges proximales y medias. En la TS del grupo tratado con CdCl₂ se observó que el porcentaje de las falanges distales fue mayor al 100%, esto se debe a que se encontró un feto con polidactilia y por consiguiente dos falanges distales más.

Cuadro XII. Evaluación de huesos de las extremidades inferiores TS y DT de los fetos provenientes de las hembras tratadas con CH₃COOTI o CdCl₂ en el día 7 de gestación.

		Tratamiento en mg/Kg					
		0 (Testigo)		CH ₃ COOTI		CdCl ₂	
		TS	DT	5.28	DT	3	DT
Fetos revisados		34	41	32	26	23	22
Tipo de variación en extremidades superiores (%):							
Falanges proximales	No. de huesos	136/136 (100%)	146/164 (89.0%)	90/128 (70.3%)	46/104 (44.2%)**	69/92 (75%)	50/88 (56.8%)**
Falanges medias	No. de huesos	109/136 (80.1%)	68/164 (41.4%)	58/128 (45.3%)**	24/104 (23.0%)**	25/92 (27.1%)**	13/88 (14.7%)**
Falanges distales	No. de huesos	170/170 (100%)	150/205 (73.1%)	124/160 (77.5%)	22/130 (16.9%)**	117/115 (101.7%)	65/110 (59.0%)
Fetos con al menos una anomalía (%)		15 (44.1)	31 (75.6)	22 (68.7)	23 (88.4)	22 (95.6)	21 (95.4)

Tinción simple (TS), Doble tinción (DT).

** P<0.05 vs. Grupo testigo (*j*²).

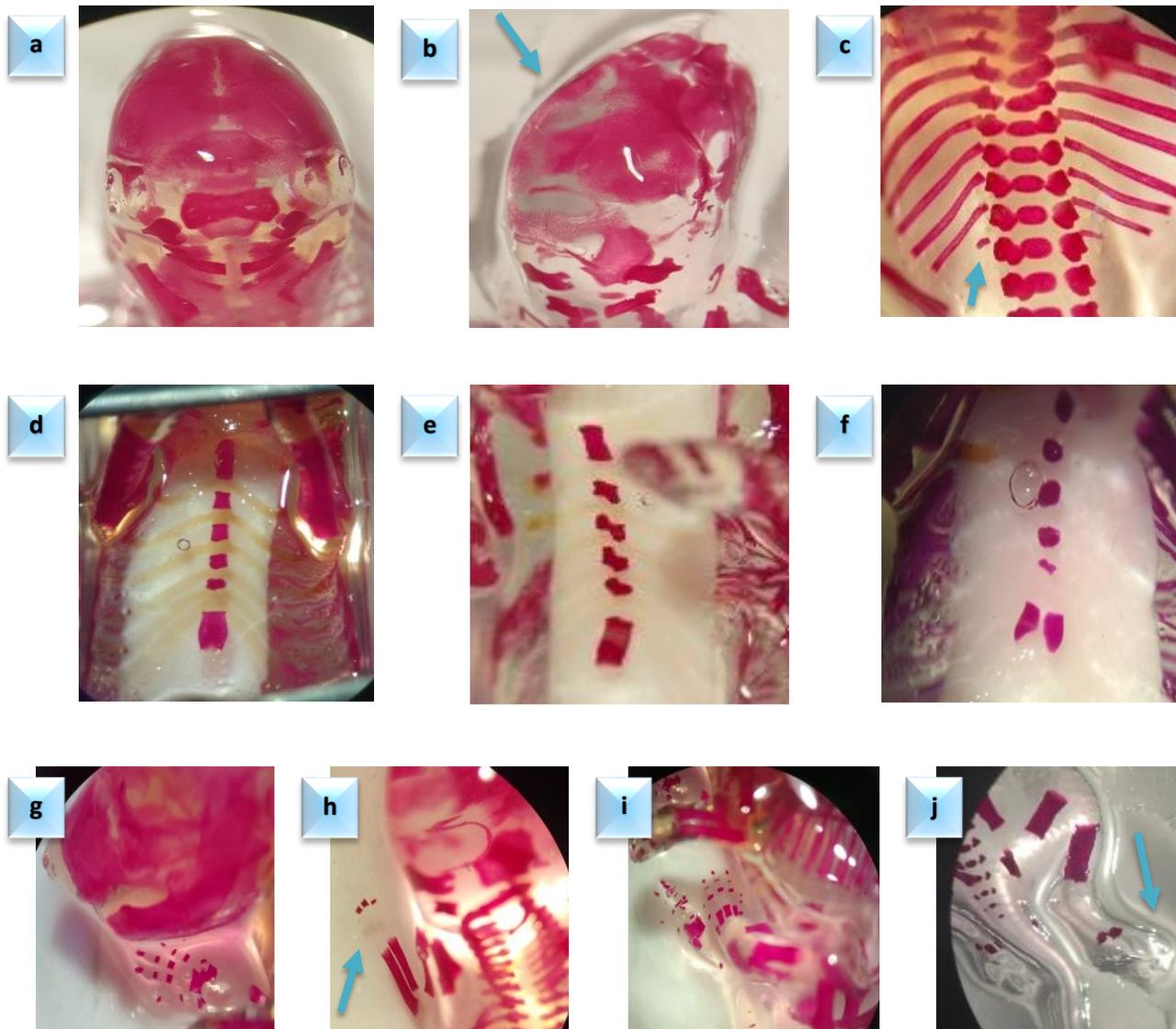


Figura 6. Anormalidades esqueléticas observadas en los fetos de hembras tratadas con 5.28 mg/kg de CH_3COOTI en el día 7 de gestación. a) Se muestra el testigo, huesos del cráneo sin anomalías; b) osificación incompleta en los huesos frontal, parietal, interparietal y supraoccipital; c) costilla rudimentaria; d) testigo, sin anomalías en esternones; e) esternones asimétricos; f) esternón bipartito; g) testigo, sin anomalías en falanges de las extremidades superiores; h) huesos de las falanges de las extremidades superiores sin teñir; i) testigo, sin anomalías en falanges de las extremidades inferiores; j) huesos de las falanges de las extremidades inferiores sin teñir.

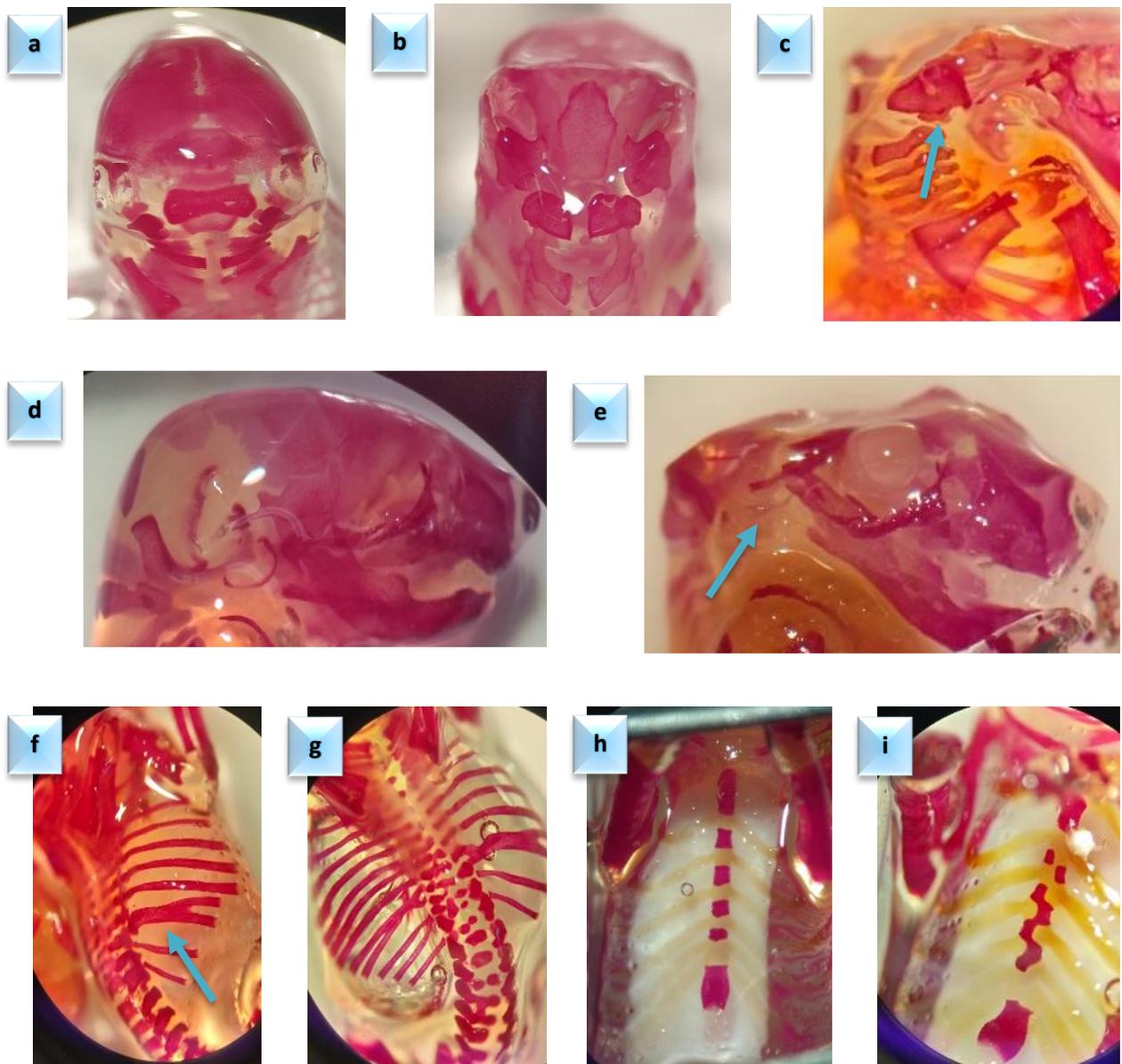


Figura 7. Anormalidades esqueléticas observadas en los fetos de hembras tratadas con 3 mg/kg de CdCl_2 en el día 7 de gestación. a) Se muestra el testigo, huesos del cráneo sin anomalías; b) huesos frontal, parietal, interparietal y supraoccipital ausentes; c) atlas engrosado; d) testigo, sin anomalías en huesos del cráneo; e) hueso temporal ausente; f) costilla fusionada; g) vertebras con anomalías; h) testigo, sin anomalías en esternebbras; i) esternebra bipartita, asimétrica y fusionada.

En la **Figura 8** se muestra el porcentaje de fetos con al menos una anomalía en los huesos del cráneo, esqueleto axial y esqueleto distal (extremidades superiores e inferiores) tanto de la TS de hueso (rojo de alizarina) como de la DT de hueso-cartílago (rojo de alizarina y azul de alcian), de los grupos tratados con 5.28 mg/kg de CH₃COOTI o 3 mg/kg de CdCl₂.

En estos resultados se puede observar aumento estadísticamente significativo en los fetos con al menos una anomalía en los huesos del cráneo y esqueleto axial en ambas tinciones en los grupos tratados con los compuestos metálicos, siendo el CdCl₂ el que presenta valores más altos. Por otra parte, en las extremidades superiores e inferiores de ambos grupos tratados y ambas tinciones, también se observa aumento en el porcentaje de fetos con al menos una anomalía en hueso comparados con el grupo testigo, aunque estos últimos no fueron significativos.

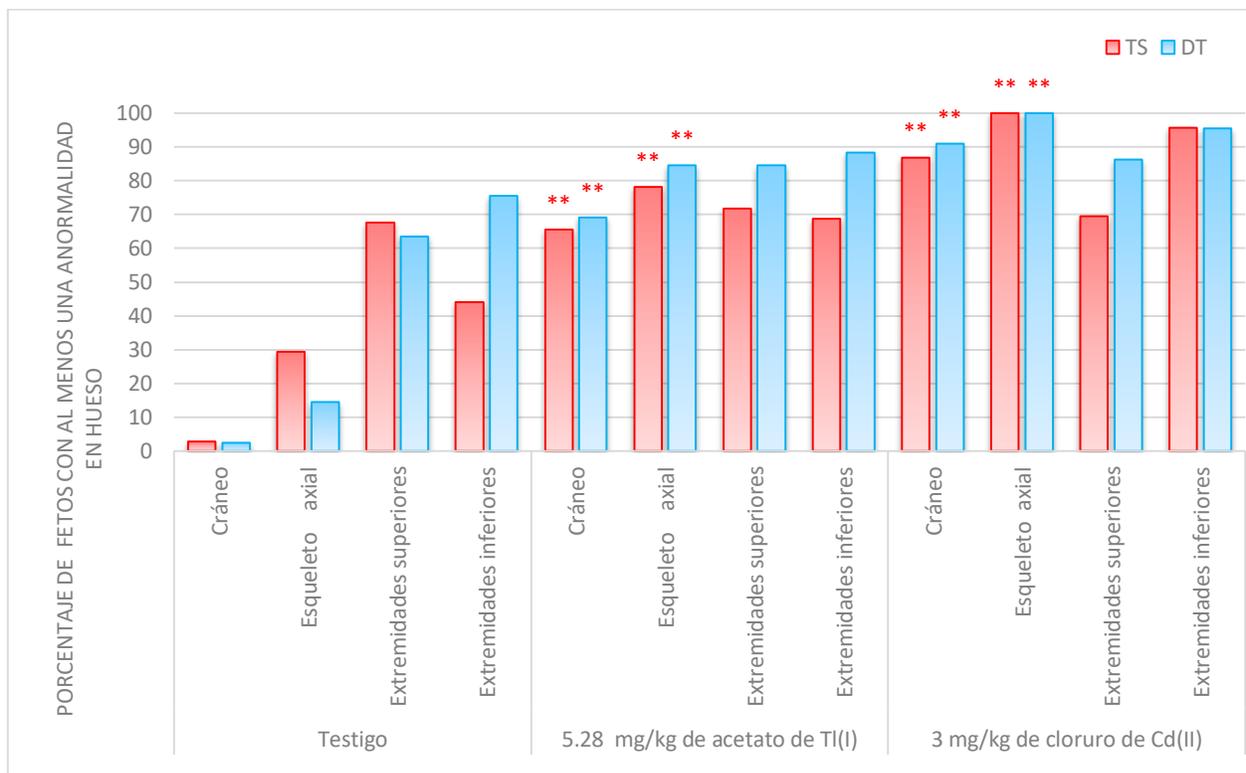


Figura 8. Porcentaje de fetos con al menos una anomalía en hueso, en el día 18 de gestación, en los grupos tratados con 5.28 mg/kg de CH₃COOTI o 3 mg/kg de CdCl₂ comparados con el grupo testigo. TS, tinción simple (rojo alizarina); DT, doble tinción (rojo alizarina y azul alcian). **P<0.05 vs. Grupo testigo (*j*²).

8. Discusión

El incremento de la exposición de Tl en la población ha aumentado la preocupación por la salud humana, particularmente en los efectos adversos asociados con la etapa prenatal, ya que se sabe que el organismo en desarrollo en las primeras etapas es más vulnerable a exposiciones químicas exógenas debido a su rápido desarrollo y actividades metabólicas incompletas (Xia *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2018). El Tl es uno de los 13 metales contaminantes prioritarios, en los mamíferos es considerado por algunos autores más tóxico que el Cd (Xiao *et al.*, 2012). Debido a la contaminación industrial, se han registrado altas concentraciones de Tl durante el embarazo, que se asocia a un mayor riesgo de anomalías congénitas (Xia *et al.*, 2016). Los informes de casos epidemiológicos reportaron que la exposición al Tl puede dar lugar a nacimientos prematuros y bajo peso al nacer (Hoffman y Hoffman, 2000).

8.1 Toxicidad materna

La toxicidad materna se define como cualquier tipo de efecto adverso en la madre, por ejemplo, signos clínicos adversos (alopecia, sangrado vaginal, diarrea, vómito, entre otros) reducciones en el peso corporal materno o muerte materna (Danielsson, 2013). Los parámetros de toxicidad materna analizados en este trabajo (peso de la hembra y signos de toxicidad) no mostraron diferencia en las hembras tratadas con CH₃COOTl en comparación con el testigo, por lo cual, podemos decir que no se observó ningún signo de toxicidad materna, al igual que lo reportado por Álvarez-Barrera *et al.*, (2019), que a dosis de 18.5, 9.25 y 4.62 mg/kg de CH₃COOTl administradas ip el día 7 de gestación en ratones hembra preñadas de la cepa CD-1 tampoco encontraron toxicidad materna.

El grupo de hembras tratadas con CdCl₂ presentó toxicidad materna, ya que en la evaluación se observó disminución de la ganancia del peso corporal materno, sin embargo en otros estudios con ratones hembra preñadas de la cepa ICR tratadas vía ip con dosis de 1.5 mg/kg de CdCl₂ en el día 7 de gestación (Argüelles-Velázquez *et al.*, 2013), 2.5 o 5 mg/kg de CdCl₂ en el día 8 de gestación (Zhang *et al.*, 2016) y 4.5 mg/kg CdCl₂ en el día 9 de gestación (Wang *et al.*, 2012), no reportaron signos de toxicidad materna.

8.2 Toxicidad embrionaria y fetal

La etapa embrionaria ocurre desde la gestación hasta el final de la organogénesis (formación de los órganos), mientras que la etapa fetal al término de la organogénesis hasta el nacimiento. La toxicidad embrionaria o fetal de los agentes teratógenos puede abarcar cualquiera de estas dos etapas y ocasionar letalidad embrionaria o fetal la cual se obtienen al examinar el número y la estructura de los sitios de implantación y/o la descendencia dentro del útero materno. Las mediciones comunes abordan tanto la cantidad de fetos por camada como su calidad (número de fetos vivos o muertos, malformados, números de sitios de implantación viables y reabsorciones tempranas o tardías). Otro indicador de toxicidad embrionaria o fetal es la disminución del peso corporal y longitud fetal (Bolon y Rousseaux, 2015).

En el presente trabajo se observó signos de toxicidad embrionaria y fetal en la descendencia por la administración del CH_3COOTI , lo anterior se refleja en el aumento del número de hembras que presentaron reabsorciones, así como el total de reabsorciones en más del doble, también por la disminución en el peso de la camada y en el peso de cada feto. Gibson y Becker (1970) al tratar vía ip ratas preñadas con 2.5 mg/kg de Ti_2SO_4 , durante la fase temprana (días de gestación 8, 9 y 10), observaron reducción del peso corporal de los fetos. Lo mismo que Barroso-Moguel *et al.*, (1996), quienes encontraron reducción de la talla cuando administraron vía ip 16 mg/kg de CH_3COOTI en el día 1 postnatal. Sin embargo, Álvarez-Barrera *et al.*, (2019), no reportaron disminución del peso fetal, al administrar vía ip en el día 7 de gestación, en ninguna de las tres dosis aplicadas.

En el grupo tratado con CdCl_2 se observó signos de toxicidad embrionaria y fetal ya que todas las hembras presentaron reabsorciones, el total de reabsorciones y el número de fetos muertos aumentó, además disminuyeron los fetos vivos por camada, el peso de la camada y la longitud de los fetos. En estudios con ratonas preñadas de la cepa ICR tratadas vía ip con CdCl_2 se reportó toxicidad embrionaria y fetal al administrar una dosis de 1.5 mg/kg en el día 7 de gestación (Argüelles-Velázquez *et al.*, 2013). Por su parte, Zhang *et al.*, (2016) reportaron aumento de los fetos muertos y disminución del peso y la

longitud de los fetos en dosis de 2.5 o 5 mg/kg en el día 8 de gestación. Por último, Wang *et al.*, (2012) empleando el mismo modelo murino reportaron disminución del peso y la longitud de los fetos al aplicar una dosis de 4.5 mg/kg de CdCl₂ en el día 9 de gestación.

8.3 Anormalidades externas

Las anormalidades se pueden definir como trastornos estructurales o funcionales que se producen durante la vida intrauterina. Las anomalías mayores (malformaciones) son cambios estructurales permanentes que afectan adversamente la supervivencia o la salud de la especie investigada, mientras que las anomalías menores (variaciones) se considera que tiene un efecto perjudicial pequeño o no tiene (Rojas y Walker, 2012; Chahoud *et al.*, 2015; DeSesso y Scialli, 2018).

En la revisión externa de los fetos obtenidos de CH₃COOTI se encontró que el 83.4% de los fetos presentaron al menos una anomalía externa; por ejemplo, las encontradas en tronco (46%), extremidades superiores (10%) e inferiores (48%), las fontanelas más abiertas de lo normal (12%), canal en la espalda (17%) y hematoma (18%). Las anomalías encontradas como fontanelas más abiertas de lo normal, canal en la espalda y hematomas las consideramos variaciones, debido a que no se conoce bien si son permanentes, dañen la calidad de vida del producto o lo pongan en riesgo.

Álvarez-Barrera *et al.*, (2019) empleando el mismo protocolo experimental y el mismo compuesto, pero diferentes dosis (18.5, 9.25 y 4.62 mg/kg), mostraron que el porcentaje de los fetos que presentaron anomalías fue menor (46, 72 y 53%, respectivamente), en comparación con la dosis administrada en el presente trabajo (83.4%). Asimismo, no observaron fontanelas más abiertas de lo normal, canal en la espalda, ni hematoma.

El aumento del 54% de las extremidades inferiores rotadas y estiradas, así como el aumento del 50% de las extremidades superiores estiradas, que son las variaciones con mayor frecuencia encontradas en este trabajo, se pueden deber a atrofia muscular progresiva que es capaz de inducir el TI de acuerdo con lo reportado por Barroso-Moguel

et al., (1996), quienes administraron una dosis de 16 mg/kg de CH₃COOTI en el día 1 postnatal a ratas recién nacidas.

Por otro lado, en los fetos revisados tratados con CdCl₂ también se encontró que el 100% de los fetos presentaron al menos una anomalía en tronco, extremidades superiores e inferiores, cola, excencefalia y microtia (16, 6, 72, 10, 74 y 26 %, respectivamente). Una de las anomalías encontradas con mayor frecuencia fue la excencefalia la cual está clasificada dentro de las malformaciones que es considerada anomalía mayor, la cual compromete la supervivencia y es un cambio estructural permanente.

En la literatura existen diversos estudios que respaldan la inducción de anomalías externas por el Cd cuando se administra durante el desarrollo. Zhang *et al.*, (2016) reportaron aumento de los fetos con defectos del tubo neural después de tratar ratones hembra preñadas de la cepa ICR vía ip, el 33% en una dosis de 2.5 mg/kg y el 75% en una dosis de 5 mg/kg de CdCl₂ en el día 8 de gestación, Argüelles-Velázquez *et al.*, (2013) reportaron excencefalia en los fetos descendientes de ratonas preñadas tratadas vía ip con dosis de 1.5 mg/kg de CdCl₂ en el día 7 de gestación. Por otro lado, Wang *et al.*, (2012) no encontraron defectos del tubo neural al tratar ratonas preñadas de la cepa ICR vía ip con dosis de 4.5 mg/kg de CdCl₂ en el día 9 de gestación.

Webster y Messerle (1980) reportaron que la administración vía ip de 4 mg/kg de CdCl₂ en el ratón produce defectos en el tubo neural como excencefalia cuando se administra en el día 7 u 8 de gestación; Los mismos autores en 1982 encontraron que la administración con el mismo compuesto y la misma dosis en el día 8, 9 o 10 de gestación produce reducción en las extremidades superiores e inferiores, hipertrofia, sindactilia y polidactilia en extremidades inferiores; por último, Layton y Layton (1979) reportaron que la administración de CdSO₄ ip a ratones CD-1 en el día 9 de gestación provocó malformaciones de las extremidades, la cara, el tronco y la cola.

8.4 Anormalidades esqueléticas

La tinción del esqueleto fetal es un método importante en el desarrollo de estudios toxicológicos, ya que permite una observación rápida y detallada de los huesos (Menegola *et al.*, 2001). La diafanización o transparentación es una técnica de conservación anatómica que transparenta (despigmenta o aclara) los tejidos blandos para equilibrar el índice de refracción de la luz dentro de un organismo y fuera de este, y que tiñe (pigmenta) los tejidos mineralizados para visualizar los componentes óseos y cartilagosos (Sandoval *et al.*, 2016).

En el presente trabajo con CH₃COOTI se observó anormalidades esqueléticas en cráneo (65%), esqueleto axial (78%) y distal. Por lo que 5.28 mg/kg de CH₃COOTI produce principalmente osificación incompleta en los huesos del cráneo y anormalidades en costillas, esternes y falanges. Álvarez-Barrera *et al.*, (2019), encontraron anormalidades esqueléticas como retraso en la osificación en los huesos del cráneo, esqueleto axial (esternes y costillas) y distal al administrar ip diferentes dosis de CH₃COOTI a ratones hembra preñadas de la cepa CD-1 tratadas en el día 7 de gestación; Barroso-Moguel *et al.*, (1992) reportaron efectos sobre el desarrollo esquelético al tratar ip ratas recién nacidas con 32 mg/kg de CH₃COOTI en el día 1 postnatal, por ejemplo, retraso en la osificación de las extremidades superiores, además encontraron que las células cartilaginosas estaban alteradas o muertas, con disminución del cartílago y trabéculas óseas escasas.

Gibson y Becker (1970) encontraron falta de osificación en vertebras al tratar vía ip ratas preñadas de la cepa Sprague-Dawley con 2.5 mg/kg de Ti₂SO₄, durante la fase temprana (días de gestación 8, 9 y 10). Hall (1972) reportó retraso en la osificación en embriones de pollo, donde se redujo el crecimiento de los huesos largos y se formaron áreas de cartílago necrótico, al administrar 0.6 mg/huevo de Ti₂SO₄ en el día 7 de incubación. Este autor en 1977 observó que la administración de 0.6 mg/huevo de Ti₂SO₄ en una dosis única el día 5, 6, 7 u 8 de incubación, provoca crecimiento reducido de la tibia, angulación tibial y necrosis condrocítica.

Es interesante señalar que en el grupo tratado con CH_3COOTI los 16 fetos que presentaron fontanelas más abiertas de lo normal, de los cuales 3 se tiñeron con TS y 4 con DT, al mismo tiempo presentaban osificación incompleta en los huesos frontal, parietal, interparietal y supraoccipital (**Figura 4g y Figura 6b**), pero no podemos saber si estos efectos son permanentes y dañen la calidad de vida o pongan en riesgo al organismo, se tendrían que hacer estudios postnatales para comprobar que el TI es un agente teratogénico.

Por otro lado, en los fetos de las hembras tratadas con CdCl_2 también se observó anomalías esqueléticas en cráneo (86%), esqueleto axial (100%) y distal. Por lo que se puede decir que el Cd afecta el proceso de osificación en los fetos de las hembras tratadas con 3 mg/kg de CdCl_2 . Gale y Layton (1980) reportaron anomalías esqueléticas como costillas fusionadas en hámsteres tratados por vía intravenosa en una sola dosis con 2 mg/kg de CdSO_4 en el día 8 de gestación; Ferm (1971) reportó defectos de las costillas en hámsteres dorados tratados con CdSO_4 en el día 8 o 9 de gestación.

Es interesante señalar que en el grupo tratado con CdCl_2 los fetos que presentaron excencefalia, tenían ausencia de los huesos frontal, parietal, interparietal, supraoccipital (**Figura 5d y Figura 7b**), lo que confirma la falta de huesos craneales que contengan la masa cefálica. Esta es una malformación permanente que afecta la supervivencia del organismo, por lo que se comprueba que el Cd es un agente teratogénico.

Se han sugerido varios mecanismos por los cuales el Cd produce efectos teratogénicos, que incluyen mimetismo iónico y molecular ya que el Cd puede interactuar con transportadores de membrana involucrados en la absorción de calcio (Ca), hierro (Fe) y Zn a través de un proceso de "mimetismo iónico". Se cree que los canales de Ca están involucrados en la absorción de Cd en ciertos tejidos, debido a la similitud de los radios iónicos entre Cd y Ca. Se ha estimado que entre el 30 y el 50% del Cd ingresa a las células a través de los canales de Ca. Además de interferir con los procesos de transporte celular, también el Cd puede sustituir a los metales nutritivos en varias enzimas y

moléculas de adhesión celular. Otros mecanismos sugeridos son el estrés oxidativo, apoptosis, genotoxicidad y alteración del ciclo celular (Thompson y Bannigan, 2008).

Los efectos tóxicos observados en los fetos pueden ser resultado de la distribución y acumulación fetal de Cd y de alteraciones placentarias. El Cd induce concentraciones más bajas de micronutrientes en los fetos que puede afectar el desarrollo normal, asimismo, influir en el recambio óseo al interrumpir la absorción de Ca debido a la competencia por sus transportadores. Los cambios placentarios desempeñan un papel fundamental en la toxicidad prenatal porque modifican su capacidad de producir hormonas y alterar su función en la transferencia de oxígeno y nutrientes (Jacobo-Estrada *et al.*, 2017).

La deficiencia inducida por Cd en la transferencia materna de nutrientes, por ejemplo, la glucosa y elementos esenciales como Cu, Ca, sodio (Na), K, Zn y Fe, induce reducción del peso corporal y la muerte fetal, esta transferencia reducida puede deberse a la disminución en los niveles de proteínas de los transportadores y la competencia entre el Cd y otros metales por sus transportadores. Los defectos del tubo neural, entre ellos, la excencefalia, inducidos por el Cd pueden ser el resultado de un menor contenido de folato en los embriones, desencadenado por la disminución de la expresión de transportadores de folato en la placenta. La evidencia muestra que Cd puede alterar la expresión de entre 20 y 30 genes involucrados en el desarrollo del SNC en dos cepas de ratones (Swiss y C57BL / 6J) (Jacobo-Estrada *et al.*, 2017).

Los mecanismos por los cuales el TI produce anormalidades no se conocen tan bien en comparación con los del Cd, se sabe que el TI al ingresa al organismo, es absorbido y distribuido fácilmente por todo el cuerpo debido a la similitud que tiene con los iones de potasio K^{1+} , también puede atravesar la barrera placentaria y producir efectos tóxicos en el desarrollo embrionario y fetal.

Las anomalías producidas en los fetos tratados pueden deberse a que el TI afecta la división celular e induce daño en el ADN y los cromosomas, además de modificar la expresión de proteínas, lo que inhibe las transiciones del ciclo celular induciendo la detención celular o la apoptosis celular, también disminuye la síntesis de glicosaminoglicanos, por lo tanto, retrasa el depósito en la matriz extracelular (Álvarez-Barrera *et al.*, 2019).

Respecto a cómo produce anomalías en los huesos, el TI podría estar reduciendo la proliferación celular o podría bloquear las células, perjudicando el crecimiento óseo y afectando el hueso osteoclástico y las células osteoblásticas, interfiriendo con los procesos de remodelación ósea mediante la reducción de osteocitos, a través de la disminución de la capacidad de síntesis de estas células al inhibir la formación de los osteoblastos, que son los principales responsables de la producción y la mineralización de matriz ósea (Álvarez-Barrera *et al.*, 2019).

Comparando los efectos producidos por el CH₃COOTI y CdCl₂ que se muestra en el **Cuadro XIII**, todos los parámetros analizados en este trabajo indican que el Cd es más tóxico que el TI, ya que el grupo tratado con CdCl₂ sí presentó toxicidad materna y toxicidad embrionaria y fetal con signos severos como muerte fetal y mayor número de reabsorciones, el porcentaje de anomalías externas fue del 100% y los porcentajes de las anomalías esqueléticas fueron altos (100%), donde se encontró ausencia de los huesos del cráneo en los fetos que presentaron excencefalia, la cual es una malformación que compromete la supervivencia y es un cambio estructural permanente. En comparación en el grupo tratado con CH₃COOTI solo se encontró toxicidad embrionaria y fetal, el porcentaje de anomalías externas fue menor que los tratados con CdCl₂ y también los porcentajes de anomalías esqueléticas fueron altos, pero no se presentó ninguna anomalía mayor.

Cuadro XIII. Comparación de los efectos sobre el desarrollo embrionario y fetal en los grupos tratados con CH₃COOTI y CdCl₂ en el día 7 de gestación.

	Toxicidad materna	Toxicidad embrionaria y fetal	Anormalidades externas (%)	Anormalidades esqueléticas (%)							
				Cabeza		Esqueleto axial		Esqueleto distal (falanges de las extremidades)			
								Superiores		Inferiores	
				TS	DT	TS	DT	TS	DT	TS	DT
Datos obtenidos de Álvarez-Barrera <i>et al.</i> , (2019) con CH ₃ COOTI											
4.62 mg/kg	NO	NO	53	96	96	96	96	Np	Np	Np	Np
9.25 mg/kg	NO	NO	72	90	95	87	75	Np	Np	Np	Np
18.5 mg/kg	NO	NO	46	100	95	100	95	Np	Np	Np	Np
Resultados del tratamiento con CH ₃ COOTI											
5.28 mg/kg	NO	SI	83.4	65	69	78	84	71	84	68	88
Resultados del tratamiento con CdCl ₂											
3 mg/kg	SI	SI	100	86	90	100	100	69	86	95	95

Np (Dato no presentado).

9. Conclusiones

- La administración de CH_3COOTI en una concentración de 5.28 mg/kg en el día 7 de gestación, no provocó toxicidad materna; sin embargo, produce embriotoxicidad y fetotoxicidad, efecto evidenciado por el aumento de reabsorciones, la disminución en el peso de la camada y de cada feto.
- El CH_3COOTI causó variaciones externas en el 83.4% de los fetos, se encontró aumento en el número de fetos con fontanelas más abiertas de lo normal, canal en la espalda y hematomas, estas anormalidades son variaciones, ya que no se sabe si son permanentes y pongan en riesgo al organismo, también se observaron anormalidades en tronco, extremidades y cola. Además de causar osificación incompleta en los huesos de la cabeza y anormalidades en costillas, esternones y falanges.
- La administración de CdCl_2 en una concentración de 3 mg/kg en el día 7 de gestación, provocó toxicidad materna, embriotoxicidad y fetotoxicidad. Lo anterior evidenciado por el aumento de reabsorciones, muerte fetal, disminución en el peso de la camada y en la longitud de los fetos.
- El CdCl_2 causó variaciones externas en el 100% de los fetos, se encontró aumento en el porcentaje de fetos con excencefalia, la cual se clasifica como malformación, ya que es permanente y compromete la supervivencia del organismo, también se observaron anormalidades en tronco, extremidades y cola. Además, produce trastornos sobre la formación del sistema óseo, tal como ausencia de los huesos de la cabeza en los fetos que presentaban excencefalia y anormalidades en vertebras, costillas, esternones y falanges. Estos datos confirman que el Cd es un buen inductor de efectos teratogénicos.
- Finalmente, consideramos que falta realizar más experimentos para saber si estos efectos inducidos por el TI comprometen la supervivencia del organismo en desarrollo.

10. Referencias

- ♣ Ali, I., Penttinen-Damdimopoulou, P. E., Mäkelä, S. I., Berglund, M., Stenius, U., Åkesson, A., & Halldin, K. (2010). Estrogen-like effects of cadmium in vivo do not appear to be mediated via the classical estrogen receptor transcriptional pathway. *Environ Health Perspect*, 118(10), 1389-1394.
- ♣ Álvarez-Barrera, L., Rodríguez-Mercado, J. J., Mateos-Nava, R. A., Vázquez-Martínez, Y., & Altamirano-Lozano, M. A. (2019). Effect on the offspring of pregnant females CD-1 mice treated with a single thallium (I) application. *Reprod Toxicol*, 90, 1-7.
- ♣ Aoyagi, T., Ishikawa, H., Miyaji, K., Hayakawa, K., & Hata, M. (2002). Cadmium-induced testicular damage in a rat model of subchronic intoxication. *Reprod Med Biol*, 1(2), 59-63.
- ♣ Ara, C., Andleeb, S., Tahir, M., Khan, A. R., & Khan, M. K. A. (2016). Cadmium induced teratogenic effects in developing *Mus musculus*. *Pak J Zool*, 48(1).
- ♣ Argüelles-Velázquez, N., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., & Chamorro-Cevallos, G. (2013). Amelioration of cadmium-produced teratogenicity and genotoxicity in mice given *Arthrospira maxima* (Spirulina) treatment. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013.
- ♣ Barroso-Moguel, R., Villeda-Hernández, J., Méndez-Armenta, M., Rios, C., & Galván-Arzate, S. (1992). Osteochondral lesions in developing rats intoxicated with thallium twenty four hours after birth. *Arch Med Res*, 23(3), 129-133.
- ♣ Barroso-Moguel, R., Villeda-Hernández, J., Méndez-Armenta, M., Rios, C., & Galván-Arzate, S. (1996). Experimental neuromyopathy induced by thallium in rats. *J Appl Toxicol*. 16(5), 38-59.
- ♣ Blain, R., & Kazantzis, G. (2015). Thallium (4th Edition). In: Nordberg, G. F., Fowler, B. A., & Nordberg, M. (Eds.). In *Handbook on the Toxicology of Metals* (Vol. 2, pp. 1229-1240). USA: Elsevier BV.
- ♣ Bolon, B. (2015). The case for developmental pathology and developmental pathologists. In: Bolon, B. (Ed.). *Pathology of the Developing Mouse: A Systematic Approach* (pp. 27-38). Boca Raton FL: CRC Press, Taylor & Francis group.

- ♣ Bolon, B., & Rousseaux, C. G. (2015). Essential terminology for mouse developmental pathology studies. In: Bolon, B. (Ed.). *Pathology of the Developing Mouse: A Systematic Approach* (pp. 3-9). Boca Raton FL: CRC Press, Taylor & Francis group.
- ♣ Bolon, B., & Ward, J. M. (2015). Anatomy and physiology of the developing mouse and placenta. In: Bolon, B. (Ed.). *Pathology of the Developing Mouse: A Systematic Approach* (pp. 39-98). Boca Raton FL: CRC Press, Taylor & Francis group.
- ♣ Caserta, D., Graziano, A., Monte, G. L., Bordi, G., & Moscarini, M. (2013). Heavy metals and placental fetal-maternal barrier: a mini-review on the major concerns. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 17(16), 2198-2206.
- ♣ Chahoud, I., Talsness, C. E., Walter, A., & Grote, K. (2015). Postnatal investigation of prenatally induced effects on the vertebral column of rats reduces the uncertainty of classification of anomalies. *Reprod Toxicol*, 58, 15-23.
- ♣ Chen, V. S., Morrison, J. P., Southwell, M. F., Foley, J. F., Bolon, B., & Elmore, S. A. (2017). Histology Atlas of the Developing Prenatal and Postnatal Mouse Central Nervous System, with Emphasis on Prenatal Days E7.5 to E18.5. *Toxicol Pathol*, 45(6), 705–744.
- ♣ Danielsson, B. R. (2013). Maternal toxicity. In *Teratogenicity Testing* (pp. 311-325). Humana Press, Totowa, NJ.
- ♣ DeSesso, J. M., & Scialli, A. R. (2018). Bone development in laboratory mammals used in developmental toxicity studies. *Birth Defects Res*, 110(15), 1157-1187.
- ♣ El-Ashmawy, I. M., & Youssef, S. A. (1999). The antagonistic effect of chlorpromazine on cadmium toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*, 161(1), 34-39.
- ♣ EPA, US Environmental Protection Agency. (2009). Toxicological review of thallium and compounds. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System. Whashington, D.C.
- ♣ Ferm, V. H. (1971). Developmental malformations induced by cadmium. *Neonatology*, 19(1-3), 101-107.
- ♣ Formigli, L., Scelsi, R., Poggi, P., Gregotti, C., Di Nucci, A., Sabbioni, E., & Manzo, L. (1986). Thallium-induced testicular toxicity in the rat. *Environ Res*, 40(2), 531-539.

- ♣ Gale, T. F., & Layton, W. M. (1980). The susceptibility of inbred strains of hamsters to cadmium-induced embryotoxicity. *Teratol*, 21(2), 181-186.
- ♣ Galván-Arzate, S., & Santamaría, A. (1998). Thallium toxicity. *Toxicol Lett*, 99(1), 1-13.
- ♣ Gibson, J. E., & Becker, B. A. (1970). Placental transfer, embryotoxicity, and teratogenicity of thallium sulfate in normal and potassium-deficient rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 16(1), 120-132.
- ♣ Gregotti, C., Di Nucci, A., Costa, L. G., Manzo, L., Scelsi, R., Bertè, F., & Faustman, E. M. (1992). Effects of thallium on primary cultures of testicular cells. *J Toxicol Environ Health A Crit Rev*, 36(1), 59-69.
- ♣ Hall, B. K. (1972). Thallium-induced achondroplasia in the embryonic chick. *Dev Biol*, 28(1), 47-60.
- ♣ Hall, B. K. (1977). Thallium-induced achondroplasia in chicken embryos and the concept of critical periods during development. *Teratol*, 15(1), 1-15.
- ♣ Henson, M. C., & Chedrese, P. J. (2004). Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Exp Biol Med*, 229(5), 383-392.
- ♣ Hoffman, R. S., & Hoffman, R. (2000). Thallium poisoning during pregnancy: a case report and comprehensive literature review. *J Toxicol: Clin Toxicol*, 38(7), 767-775.
- ♣ IPCS, International Programme on Chemical Safety. (1996). Thallium. *World Health Organization, Ginebra*, No. 182.
- ♣ Jacobo-Estrada, T., Santoyo-Sánchez, M., Thévenod, F., & Barbier, O. (2017). Cadmium handling, toxicity and molecular targets involved during pregnancy: lessons from experimental models. *Int J Mol Sci*, 18(7), 1590.
- ♣ Järup, L., & Åkesson, A. (2009). Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol*, 238(3), 201-208.
- ♣ Johnson, M. D., Kenney, N., Stoica, A., Hilakivi-Clarke, L., Singh, B., Chepko, G., & Reiter, R. (2003). Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat med*, 9(8), 1081-1084.
- ♣ Kim, S., Eom, S., Kim, H. J., Lee, J. J., Choi, G., Choi, S., & Suh, E. (2018). Association between maternal exposure to major phthalates, heavy metals, and

- persistent organic pollutants, and the neurodevelopmental performances of their children at 1 to 2 years of age-CHECK cohort study. *Sci Total Environ*, 624, 377-384.
- ♣ Kippler, M., Hoque, A. W., Raqib, R., Öhrvik, H., Ekström, E. C., & Vahter, M. (2010). Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients to the fetus. *Toxicol Lett*, 192(2), 162-168.
 - ♣ Kippler, M., Tofail, F., Gardner, R., Rahman, A., Hamadani, J. D., Bottai, M., & Vahter, M. (2012). Maternal cadmium exposure during pregnancy and size at birth: a prospective cohort study. *Environ Health Perspect*, 120(2), 284–289.
 - ♣ Kotsonis, F. N., & Klaassen, C. D. (1977). Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. *Toxicol Appl Pharmacol*, 41(3), 667-680.
 - ♣ Layton, W. M., & Layton, M. W. (1979). Cadmium induced limb defects in mice: strain associated differences in sensitivity. *Teratol*, 19(2), 229-235.
 - ♣ Londoño-Franco, L. F., Londoño-Muñoz, P. T., & Muñoz-García, F. G. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145-153
 - ♣ Menegola, E., Broccia, M. L., & Giavini, E. (2001). Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. *Teratol*, 64(3), 125-133.
 - ♣ Messerle, K., & Webster, W. S. (1982). The classification and development of cadmium-induced limb defects in mice. *Teratol*, 25(1), 61-70.
 - ♣ Nava-Ruiz, C., & Méndez-Armenta, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivo de Neurociencias*, 16(3), 140-147.
 - ♣ Nordberg, G. F. (2009). Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol*, 238(3), 192-200.
 - ♣ Olsen, I., & Jonsen, J. (1982). Whole-body autoradiography of ²⁰⁴Tl in embryos, fetuses and placentas of mice. *Toxicol*, 23(4), 353-358.
 - ♣ Olsson, I. M., Bensryd, I., Lundh, T., Ottosson, H., Skerfving, S., & Oskarsson, A. (2002). Cadmium in blood and urine--impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking--association of renal effects. *Environ Health Perspect*, 110(12), 1185-1190.

- ♣ Osman, K., Åkesson, A., Berglund, M., Bremme, K., Schütz, A., Ask, K., & Vahter, M. (2000). Toxic and essential elements in placentas of Swedish women. *Clin Biochem*, 33(2), 131-138.
- ♣ Piasek, M., & Laskey, J. W. (1994). Acute cadmium exposure and ovarian steroidogenesis in cycling and pregnant rats. *Reprod Toxicol*, 8(6), 495-507.
- ♣ Piasek, M., Laskey, J. W., Kostial, K., & Blanuša, M. (2002). Assessment of steroid disruption using cultures of whole ovary and/or placenta in rat and in human placental tissue. *Int Arch Occup Environ Health*, 75(1), 36-44.
- ♣ Pierce, B. A. (2009). *Genética: Un enfoque conceptual* (3^a. ed.). Quintanapalla Madrid: Médica Panamericana.
- ♣ Rade, J. E., Marafante, E., Sabbioni, E., Gregotti, C., Di Nucci, A., & Manzo, L. (1982). Placental transfer and retention of 201Tl-thallium in the rat. *Toxicol Lett*, 11(3-4), 275-280
- ♣ Repetto, G., & del Peso, A. (2012). Gallium, indium, and thallium (6th Edition). In: Bingham, E., & Cochrane, B. (Eds.). *Patty's Toxicol* (Vol. 1, pp. 257-354). New York: John Wiley & Sons.
- ♣ Rodríguez-Mercado, J. J., & Altamirano-Lozano, M. A. (2013). Genetic toxicology of thallium: a review. *Drug Chem Toxicol*, 36(3), 369-383.
- ♣ Rojas, M., & Walker, L. (2012). Malformaciones Congénitas: Aspectos Generales y Genéticos. *Int J Morphol*, 30(4), 1256-1265.
- ♣ Rossi, F., Marrazzo, R., Berrino, L., De Santis, D., Lisa, M., Susanna, V., Montanaro, C., Fici, F. & Marmo, E. (1988). Prenatal and postnatal thallium exposure in rats: effect on development of vasomotor reactivity in pups. *Teratog Carcinog Mutagen*. 8(1):13-23.
- ♣ Saksena, S. K., & Salmonsén, R. (1983). Effects of cadmium chloride on ovulation and on induction of sterility in the female golden hamster. *Biol Reprod*, 29(1), 249-256.
- ♣ Sandoval, D., Téllez, J., García, A., Rivera, G., Moreno, S., & Moreno, F. (2016). Técnica de diafanización para describir el desarrollo embrionario del sistema óseo. Revisión de la literatura. *Universitas Médica*, 57(4), 488-501.

- ♣ Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Exp suppl*, 101, 133–164.
- ♣ Thompson, J., & Bannigan, J. (2008). Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reprod Toxicol*, 25(3), 304-315.
- ♣ Thompson, L. J. (2015). Thallium (2nd edition). In: Gupta, C. (Ed.). *In Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents* (pp. 167-170). USA: Elsevier BV.
- ♣ Vahter, M., Åkesson, A., Liden, C., Ceccatelli, S., & Berglund, M. (2007). Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environ Res*, 104(1), 85-95.
- ♣ Vimalraj, S., Sumantran, V. N., & Chatterjee, S. (2017). MicroRNAs: impaired vasculogenesis in metal induced teratogenicity. *Reprod Toxicol*, 70, 30-48.
- ♣ Waalkes, M. P. (2000). Cadmium carcinogenesis in review. *J Inorg Biochem*, 79(1-4), 241-244.
- ♣ Wang, Z., Wang, H., Xu, Z. M., Ji, Y. L., Chen, Y. H., Zhang, Z. H., & Xu, D. X. (2012). Cadmium-induced teratogenicity: association with ROS-mediated endoplasmic reticulum stress in placenta. *Toxicol Appl Pharmacol*, 259(2), 236-247.
- ♣ Webster, W. S., & Messerle, K. (1980). Changes in the mouse neuroepithelium associated with cadmium-induced neural tube defects. *Teratol*, 21(1), 79-88.
- ♣ Wei, Q. Y. (1987). Studies on the spermotoxicity of thallium carbonate in drinking water and its effect on the reproductive function of mice. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi*, 21(3), 141.
- ♣ Xia, W., Du, X., Zheng, T., Zhang, B., Li, Y., Bassig, B. A., & Yao, Y. (2016). A case–control study of prenatal thallium exposure and low birth weight in China. *Environ Health Perspect*, 124(1), 164-169.
- ♣ Xiao, T., Yang, F., Li, S., Zheng, B., & Ning, Z. (2012). Thallium pollution in China: a geo-environmental perspective. *Sci Total Environ*, 421, 51-58.
- ♣ Zhang, G. B., Wang, H., Hu, J., Guo, M. Y., Wang, Y., Zhou, Y., & Xu, D. X. (2016). Cadmium-induced neural tube defects and fetal growth restriction: Association with disturbance of placental folate transport. *Toxicol Appl Pharmacol*, 306, 79-85.

- ♣ Ziskoven, R., Achenbach, C., Schulten, H. R., & Roll, R. (1983). Thallium determinations in fetal tissues and maternal brain and kidney. *Toxicol Lett*, 19(3), 225-231
- ♣ Zurera-Cosano, G., & Amaro-López, M. A. (2003). CADMIUM| Properties and Determination (2nd Edition). In: Caballero, B. (Ed.). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 733-239). USA: Academic press.

11. Anexo

Éste trabajo fue presentado parcialmente en:

Evento: XV Congreso de Investigación de la Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, UNAM.

Título de ponencia: Efectos del talio y cadmio en los fetos de ratones hembra de la cepa CD-1 tratadas en el día siete de gestación.

Autores: Santiago-Toledo N.I., Rodríguez-Mercado J.J., Mateos-Nava R.A., Altamirano-Lozano M.A. y Álvarez-Barrera L.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

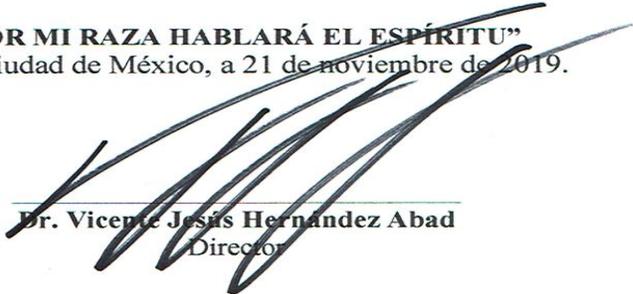
CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a *Nayani Isabel Santiago Toledo, Juan José Rodríguez Mercado,
Rodrigo Anibal Mateos Nava, Mario Agustín Altamirano
Lozano, Lucila Álvarez Barrera*

Por la presentación del trabajo: **Efectos del talio y cadmio en los fetos de ratones hembra de la cepa CD-1 tratadas en el día siete de gestación**, durante el XV Congreso de Investigación, organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación de esta Facultad, del 15 al 17 de octubre del año en curso.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, a 21 de noviembre de 2019.


Br. Vicente Jesús Hernández Abad
Director