

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/02/2024.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Thalles Fernando Rocha Ruiz

**Efeitos tardios da exposição ao bisfenol A na mama de fêmeas de
gerbilos durante o período gestacional e lactacional**

São José do Rio Preto
2022

Thalles Fernando Rocha Ruiz

Efeitos tardios da exposição ao bisfenol A na mama de fêmeas de gerbilos durante o período gestacional e lactacional

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc. 20/01240-9

Orientador: Prof^a. Dr. Sebastião Roberto Taboga

Coorientadora: Prof^a. Dra. Ellen Cristina Rivas Leonel

São José do Rio Preto
2022

R934e Ruiz, Thalles Fernando Rocha

Efeitos tardios da exposição ao bisfenol A na mama de fêmeas de gerbilos durante o período gestacional e lactacional / Thalles Fernando Rocha Ruiz. -- São José do Rio Preto, 2022

140 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Sebastião Roberto Taboga

Coorientadora: Ellen Cristina Rivas Leonel

1. Morfologia. 2. Histologia. 3. Biologia da Reprodução. 4. Endocrinologia. 5. Glândula Mamária. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Thalles Fernando Rocha Ruiz

Efeitos tardios da exposição ao bisfenol A na mama de fêmeas de gerbilos durante o período gestacional e lactacional

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: FAPESP – Proc.. 20/01240-9

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Sebastião Roberto Taboga
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Alexandre Bruni Cardoso
USP - Instituto de Química

Prof. Dr. Manoel Francisco Biancardi
UFG – Câmpus de Goiânia

São José do Rio Preto
25 de fevereiro de 2022

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade e companhia durante todo esse tempo. Até aqui o Senhor me guiou.

Aos meus pais, Rosângela e Luiz Fernando, que me instruíram e me incentivaram em sempre trilhar o caminho acadêmico. Com muito amor e esforço me formaram e me aconselharam; apesar das dificuldades, pesares e perdas, sempre houve amor.

Ao meu orientador, Professor Sebastião Taboga, que me acolheu como verdadeiro filho e me instruiu como verdadeiro cientista. Sempre tive uma admiração profissional e pessoal que só aumentaram ao vir trabalhar aqui em Rio Preto. Ao senhor só tenho agradecimentos por ter aceito o desafio de me orientar durante esses anos.

À minha coorientadora, Professora Ellen Leonel, por todos os momentos vividos desde que cheguei para trabalhar com o grupo. Meu crescimento pessoal e profissional tem muito do que essa maravilhosa pessoa, professora e pesquisadora me ensinou. O meu obrigado eterno não bastará.

Ao Ibilce, pelo crescimento acadêmico, e à Faculdade de Ciências – Unesp Bauru, pelo meu início na ciência. A Unesp sempre estará pronta para sustentar seus filhos.

Aos meus orientadores de iniciação científica, Profa. Irene e Prof. Carlos Vicentini, que me ajudaram a construir parte da pessoa que eu sou hoje, além de me banharem nas águas da morfologia.

Aos meus familiares, em especial minhas tias Rossania e Tânia, que cuidaram de mim a vida toda e sempre se preocuparam com meu bem estar. À minha prima, Lilliam, pelo incentivo e longas conversas sobre pesquisa e vivências. Ao meu tio William pelas risadas e ensinamentos eternos.

Aos meus eternos amigos Lamoanos, Maira, Mário, Mateus e Diego, pela vida que compartilharam comigo e pelas chatices que aguentaram. Em especial um agradecimento à minha melhor amiga, Maira, por ser minha eterna alma gêmea; obrigado pelo caminho trilhado todo esse tempo.

Aos meus amigos da vida e de graduação, Priscila, Mariana (Xablau), Isabella, Bianca, Kayan e Stefany, por serem cúmplices das minhas loucuras diárias. Eu sempre vou amar vocês e sempre estarei aqui quando precisarem.

Aos meus amigos do LMM: Simone, por me aguentar todos os dias, e ainda não ter cansado; Carol, por sempre compartilhar risadas e alegrias; Vitor, por sempre ser parceiro nas situações do laboratório; Nayara, por me ajudar com meus desafios. Vocês são demais e eu os levarei comigo para sempre.

Ao meu amigo e técnico do laboratório, Luiz Falleiros, pelo companherismo em todo cafézinho, toda coloração e todo concurso. Você é um amigo que eu posso confiar em tudo e contar pra tudo. Obrigado pelo cuidado e zelo.

À Professora Patrícia Vilamaior por ter me acolhido à família do laboratório e por me ensinar tantas coisas que talvez você não tenha nem ideia que me ensinou. Seu cuidado e primor são um espelho para o meu trabalho acadêmico.

Aos meus colaboradores que fizeram esse Mestrado tornar-se real. Nenhum artigo, dissertação ou resumo na ciência se faz sozinho. Todo companheirismo de vocês foram necessários para a construção científica escrita aqui.

Ao Professor Alexandre Bruni Cardoso e Professor Manoel Francisco Biancardi por aceitarem avaliar meu trabalho. Agradeço à Professora Cristiane Damas Gil e Professor Luiz Fernando Barbisan pelas contribuições durante a qualificação. Agradeço também os membros suplentes de ambas etapas: Professora Fernanda Alcântara, Professora Silvana Campos e Professora Ana Paula Perez.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, atual Biodiversidade, pelo apoio durante o período do Mestrado.

Agradeço à FAPESP pela concessão da bolsa de pesquisa, sob o processo nº 20/01240-9, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Por fim, agradeço às minhas mães gerbilos que possibilitaram que eu pudesse contribuir com a Ciência e me permitiram apaixonar pelo modelo e pelos resultados.

“Tudo flui, para fora e para dentro; tudo tem suas marés; todas as coisas se levantam e caem; a oscilação do pêndulo se manifesta em tudo; a medida da oscilação à direita é a medida da oscilação à esquerda; o ritmo compensa.”

Hermes Trismegisto (1978, p. 91)

RESUMO

As glândulas mamárias apresentam grande plasticidade morfológica devido ao seu remodelamento associado à modulação por hormônios durante as fases da vida. O estabelecimento do câncer de mama vem sendo relacionado com compostos chamados desreguladores endócrinos. O bisfenol A (BPA), um xenoestrógeno disseminado nos ambientes, é alvo de estudos aprofundados sobre seu potencial cancerígeno devido à sua atuação em diversos níveis dos sistemas biológicos. Ainda, a exposição à este desregulador endócrino causa efeitos persistentes nos organismos observados tardiamente. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial desregulador do BPA nas glândulas mamárias de fêmeas senis expostas durante duas janelas de remodelamento mamário, a gestação e lactação. Foram utilizados gerbilos da Mongólia (*Meriones unguiculatus*) como modelo experimental devido seu potencial para o desenvolvimento espontâneo de neoplasias. Vinte fêmeas foram divididas em 4 grupos experimentais: controle (gavadas com água); veículo (gavadas com óleo de milho); BPA (50 µg/kg/dia); e BPA (5000 µg/kg/dia). As fêmeas foram expostas durante 39 dias (gestação e lactação) e eutanasiadas aos 18 meses de idade (senis). Análises histopatológicas demonstraram o início do desenvolvimento tumoral, associados à transição epitélio-mesenquimal (EMT) das células epiteliais. Ainda, a exposição ao BPA apresentou um aumento na expressão de TGF-β1, indicado como marcador do processo de EMT. Um perfil microinvasivo foi observado pela expressão de metaloproteases (MMP-2, MMP-3, MMP-9) pelas células tumorais. O BPA promoveu um microambiente estromal com aumento de fibroblastos associados ao câncer e remodelamento das fibras colágenas e elásticas. Em relação aos receptores, no carcinoma induzido pelo BPA apresentou um aumento expressivo no receptor de estrógeno ERα, e uma perda da expressão dos receptores ERβ, de progesterona e de prolactina. Nas células que expressaram ERα foi co-localizado o marcador epigenético EZH2, relacionado à instalação tumoral ERα-positivo. Ainda, o BPA modulou a localização dos receptores de andrógeno (AR) e HER2/ErbB2 nas células do epitélio mamário. Por fim, a exposição ao BPA promove um microambiente tumoral (TME) que corrobora com o desenvolvimento neoplásico mamário. O recrutamento de elementos como perfis de macrófagos e mastócitos associados ao câncer expressando mediadores inflamatórios foi observado no estroma. Ainda, a expressão de COX-2 e fosfo-STAT3 nas células neoplásicas contribuem com a sinalização epitélio-estroma para o desenvolvimento do TME. Em conclusão, o BPA apresenta-se como um indutor carcinogênico do câncer de mama durante a senilidade após a exposição na janela gestacional/lactacional.

Palavras-chave: Neoplasia. Transição epitélio-mesenquimal. Microambiente. Inflamação. Receptores.

ABSTRACT

Mammary glands present a great morphological plasticity due to their remodeling associated to hormonal modulation during the phases of life. The establishment of breast cancer has been related to compounds called endocrine disruptors. Bisphenol A (BPA), a xenoestrogen widespread in environments, is the target of in-depth studies on its carcinogenic potential due to its action on several levels of biological systems. Furthermore, exposure to this endocrine disruptor causes persistent effects in organisms observed in long term. Thus, the aim of the present study was to evaluate the deregulatory potential of BPA in the mammary glands of aged females exposed during two windows of mammary remodeling, pregnancy and lactation. Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) were used as an experimental model due to their potential for the spontaneous development of neoplasias. Twenty females were divided into 4 experimental groups: control (gavaged with water); vehicle (gavaged with corn oil); BPA (50 µg/kg/day); and BPA (5000 µg/kg/day). Females were exposed for 39 days (pregnancy and lactation) and euthanized at 18 months of age (aging). Histopathological analyses demonstrated the onset of tumor development, associated with epithelial-mesenchymal transition (EMT) of epithelial cells. Also, exposure to BPA showed an increase in the expression of TGF-β1, indicated as a marker of the EMT process. A microinvasive profile was observed by the expression of metalloproteases (MMP-2, MMP-3, MMP-9) by the tumor cells. BPA promoted a stromal microenvironment with increased cancer-associated fibroblasts and remodeling of collagen and elastic fibers. Regarding receptors, BPA-induced carcinoma showed an expressive increase in the estrogen receptor ERα, and a loss of expression of ERβ, progesterone and prolactin receptors. In cells expressing ERα, was observe co-localization of the epigenetic marker EZH2, related to ERα-positive tumor establishment. Also, BPA modulated androgen receptor (AR) and HER2/ErbB2 localization in the mammary epithelial cells. Finally, BPA exposure promotes a tumor microenvironment (TME) that corroborates with mammary neoplastic development. Recruitment of elements, such as cancer-associated phenotypes of macrophage and mast cells, that express inflammatory mediators was observed in the stroma. Also, COX-2 and phospho-STAT3 expression in neoplastic cells contribute to epithelium-stroma signaling for TME development. In conclusion, BPA presents as a carcinogenic inducer of mammary cancer during aging, especially when exposure occurs in the gestational/lactational window.

Keywords: Neoplasia. Epithelial-mesenchymal transition. Microenvironment. Inflammation. Receptors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ação hormonal no remodelamento da glândula mamária durante a gestação, lactação e involução.	14
Figura 2 – Disrupção multinível nos sistemas biológicos pelo BPA.	18
Figura 3 – Delineamento dos grupos experimentais e tempo experimental dos grupos expostos ao BPA.	22
 <i>Capítulo 1</i>	
Figure 1. Experimental design.	32
Figure 2. Tissue compartments and carcinoma features.	36
Figure 3. Mammary epithelial lesions, myoepithelial layer, and p63 expression.	38
Figure 4. Proliferative and apoptotic activity, and TGF- β 1 expression.	39
Figure 5. Stromal fibers in disrupted MG.	40
Figure 6. Metalloproteinases expression and FAP-positive cells BPA-exposed MG.	42
Figure 7. Graphical illustration of BPA-induced disruption in three stages of tumorigenesis in gerbil mammary gland.	48
 <i>Capítulo 2</i>	
Figure 1. Incidence of ER α , ER β , and PR expression (percentages) in normal and hyperplastic tissues and carcinoma regions of mammary gland exposed to BPA.	64
Figure 2. ER α , ER β , and PR expression in mammary gland from different groups.	65
Figure 3. PRL-R and HER2/ErbB2 expression in BPA-disrupted mammary gland.	66
Figure 4. AR expression and localization in mammary gland.	67
Figure 5. EZH2 expression.	69
Figure 6. Role of hormonal receptor expression in aged gerbil mammary gland under BPA disruption.	71

Capítulo 3

Figure 1. Inflammatory markers in mammary gland exposed to BPA.	92
Figure 2. Macrophages in MG of aged females exposed to BPA during pregnancy/lactation window.	94
Figure 3. MC in MG of aged females exposed to BPA during pregnancy/lactation window.	96
Figure 4. Tumor microenvironment in MG from aged females exposed to BPA.	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Anticorpos Primários – Imunohistoquímica e imunofluorescência.	22
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKT/ERK	<i>Protein kinase B/ extracellular signal-regulated kinase</i>
AR	Receptor de andrógeno
Areg	Anfiregulina
BPA	Bisfenol A
COX-2	Ciclooxigenase 2
DE	Desregulador endócrino
EDC	<i>Endocrine disruptor chemical</i>
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
EGF	Fator de crescimento epidermal
EMT	<i>Epithelial-mesenchymal transition/</i> transição epitélio-mesenquimal
ERα	Receptor de estrógeno alfa
ERβ	Receptor de estrógeno beta
EZH2	potenciador do zeste homólogo 2/ <i>enhancer of zeste homolog 2</i>
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
GH	Hormonio do crescimento/ <i>growth hormone</i>
HER2/ErbB2	<i>Human epidermal receptor 2</i> (humano/roedor)
HGF	Fator de crescimento hepático
IL6	Interleucina 6
MAPK	<i>Mitogen Activated Protein Kinases</i>
MC	Mastócito
MG	<i>Mammary gland/</i> glândula mamária
MMP	Metaloprotease
NF-κB	<i>Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
PR	Receptor de progesterone
PRL	Prolactina
p-STAT3	<i>Phospho-signal transducer and activator of transcription 3</i>
TGFβ1	Fator de crescimento transformador beta 1
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
α-SMA	<i>Alpha smooth muscle actin</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Glândula Mamária: morfologia e fisiologia	13
1.2. Biologia da Glândula Mamária: Janelas de Desenvolvimento	15
1.3. Desreguladores Endócrinos	17
1.4. BPA: Exposição e Efeitos	18
1.5. Modelo Experimental e Justificativa do Estudo	19
2. OBJETIVO	21
2.1. Objetivos específicos	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. Delineamento Experimental	22
3.2. Estudos histológicos e histoquímicos	23
3.3. Imunohistoquímica	24
3.4. Imunofluorescência	25
3.5. Western Blotting	26
3.6. Análises estatísticas	27
4. RESULTADOS	28
4.1. Capítulo 1: Mammary carcinoma in aged gerbil mothers after endocrine disruption in pregnancy and lactation	29
4.2. Capítulo 2: Hormone receptor expression in aging mammary tissue and carcinoma from a rodent model after xenoestrogen disruption	59
4.3. Capítulo 3: Mammary tumor microenvironment after xenoestrogen disruption: inflammatory response and phenotypic cell polarization	86
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES	107
6. REFERÊNCIAS	106

1. INTRODUÇÃO

1.1. Glândula Mamária: morfologia e fisiologia

A glândula mamária constitui uma das glândulas anexas ao sistema reprodutor feminino que apresenta secreção exócrina e é influenciada pelo sistema endócrino (PAWLINA; ROSS, 2016; TOPPER; FREEMAN, 1980). Este órgão apresenta grande importância para os mamíferos uma vez que produz e secreta o leite para nutrição da prole (INMAN et al., 2015). Estruturalmente são glândulas túbulo alveolares constituídas por um epitélio simples circundado por um estroma conjuntivo (DAWSON; VISVADER, 2021; WISEMAN; WERB, 2002). As principais células presentes nos alvéolos mamários são as células secretoras, seguidas pelas células basais proliferativas e as mioepiteliais, estas apresentando função contrátil (INMAN et al., 2015; MAN; SANG, 2004). Já o estroma apresenta grandes quantidades de fibras colágenas, elásticas e proteoglicanos, assim como fibroblastos, células de defesa, adipócitos, vasos sanguíneos e linfáticos (CUNHA; COOKE; KURITA, 2004; WISEMAN; WERB, 2002). A interação entre estes compartimentos, epitélio e estroma, em indivíduos adultos e senis vem sendo estudados e divulgados na literatura para a compreensão dos mecanismos associados às glândulas anexas (NIETO; RIDER; CRAMER, 2014).

Alterações estruturais e funcionais são observadas em diferentes etapas da vida reprodutiva e se relacionam às mudanças hormonais de acordo com o ciclo estral/menstrual (INMAN et al., 2015; RUSSO; RUSSO, 1996). Ainda, a glândula mamária apresenta plasticidade morfológica relacionada ao remodelamento dos compartimentos epitelial e estromal durante a gestação, lactação e involução (RODGERS et al., 2018; TERRY et al., 2019). Vários hormônios e fatores de crescimento do sistema endócrino interferem na dinâmica tecidual: hormônios esteróides femininos, como estrógenos e progesterona; hormônios hipofisários-hipotalâmicos, como a prolactina e ocitocina; adipocinas, como a leptina e adiponectina; e fatores de crescimento, como o fator de crescimento transformador (TGF β). Estes são modulados em diferentes fases promovendo efeitos em janelas de remodelamento tecidual (Figura 1), também chamadas janelas de susceptibilidade, uma vez que estas drásticas alterações morfológicas propiciam microambientes pré-neoplásicos (TERRY et al., 2019).

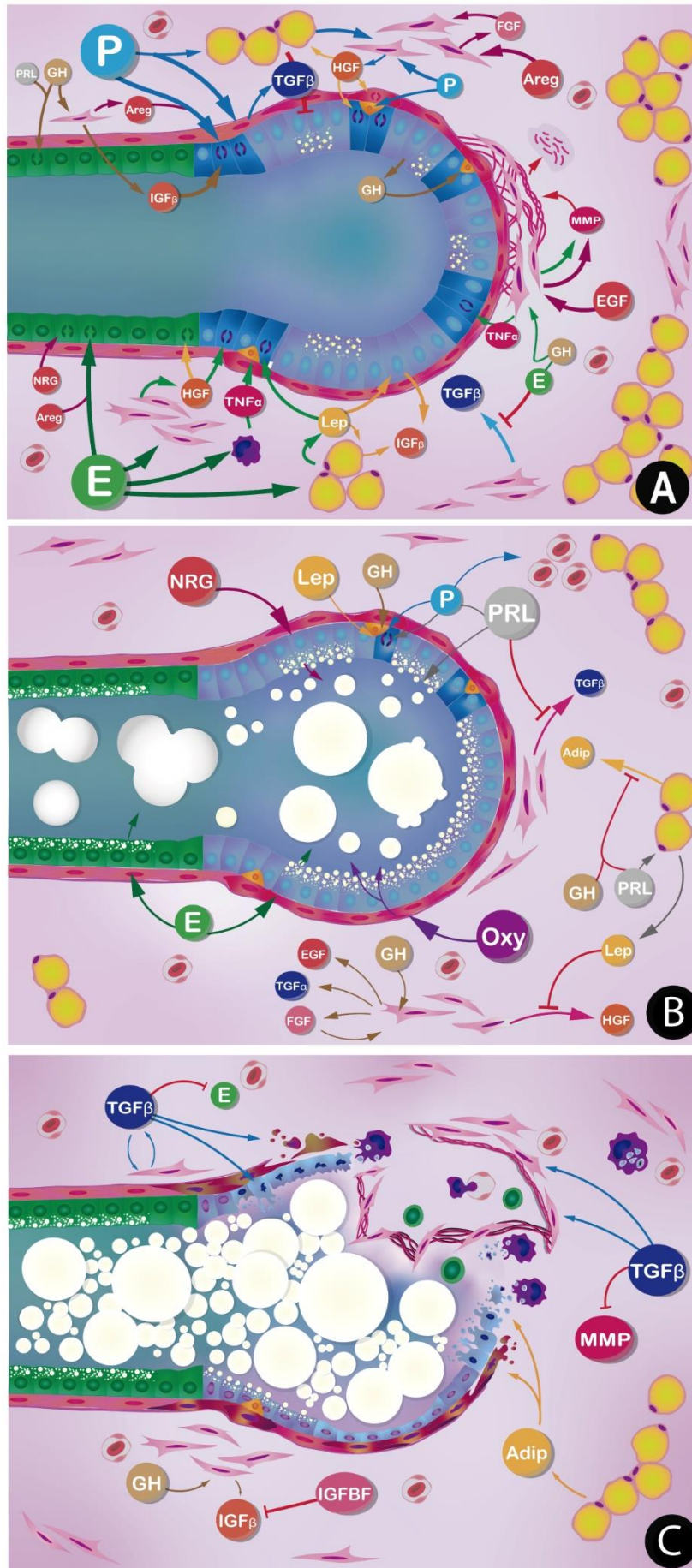


Figura 1. *Ação hormonal no remodelamento da glândula mamária durante a gestação, lactação e involução.* (A) *Gestação.* O estabelecimento da estrutura alveolar durante a gestação ocorre por meio da remodelação estromal e proliferação epitelial induzida pelo estrógeno (E) e progesterona (P). Os estrógenos atuam promovendo a proliferação e modulando a síntese de MMPs. Já a progesterona promove a proliferação epitelial luminal e estimula a síntese de HGF para diferenciação de células do mesmo compartimento. A anfiregulina (Areg) e EGF apresentam importantes funções na diferenciação e remodelamento estromal. (B) *Lactação.* Durante a lactação, a prolactina (PRL) induz a proliferação e secreção das células epiteliais, por vias associadas à progesterona, estrógenos, leptina (Lep) e hormônio do crescimento (GH). Para expelir o leite dos alvéolos, a ocitocina (Oxy) atua nas células mioepiteliais para promover sua contração. No estroma, EGF e FGF são sintetizados pelos fibroblastos, enquanto os adipócitos são estimulados pela prolactina a produzir leptina, inibindo a ação de agentes mitóticos. (C) *Involução.* Durante a involução mamária, o TGF β , assim como o adiponectina (Adip), atuam como promotores apoptóticos, inibindo a ação proliferativa dos estrógenos. O TGF β atua na proliferação de células estromais para aumentar este compartimento, inibindo a ação da MMP e atuando como fator quimiotático para células inflamatórias. O GH atua no compartimento estromal para a proliferação de fibroblastos. Imagens autorais adaptadas de Ruiz et al. (2021).

Na gestação, estrógenos e progesterona sinergizam para o estabelecimento das estruturas mamárias finais, os alvéolos (MACIAS; HINCK, 2012). Os estrógenos são de grande importância para o aumento da taxa proliferativa do compartimento epitelial e estromal para formação dos alvéolos (CUNHA; COOKE; KURITA, 2004; RUSSO et al., 1999). Durante a fase de amamentação/lactação, o lúmen dos alvéolos mamários altera seu tamanho de acordo com a secreção dos componentes glandulares, sendo este processo mediado principalmente pela ocitocina e progesterona (MASSO-WELCH et al., 2000). Além da ocitocina, as glândulas mamárias são controladas pela testosterona e hormônios adrenais, como o dehidroepiandrosterona (DHEA) (LABRIE et al., 2005). Assim, os receptores destes hormônios sofrem modulações durante as fases de proliferação, diferenciação e produção da glândula (LEONEL et al., 2017). Devido a tais alterações e modulações de receptores no desenvolvimento das mamas e à alta predisposição a patologias na fase senil em fêmeas, os efeitos de desreguladores endócrinos (DE) vêm sendo estudados para compreender a ação destes em diferentes fases de vida.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

A partir do presente estudo considera-se que:

- O BPA atua como agente carcinogênico na glândula mamária durante o envelhecimento, corroborando com estudos anteriores que demonstraram seu potencial, principalmente quando ocorre a exposição durante as janelas de susceptibilidade gestacional/lactacional;
- Ambas as doses de exposição ao BPA apresentaram efeitos histopatológicos semelhantes na glândula mamária, demonstrando um risco à exposição a doses consideradas seguras e que os impactos do BPA não são dose dependentes;
- O desenvolvimento tumoral inicial induzido pelo BPA modula mediadores celulares e teciduais que contribuem com o processo de transição epitélio-mesenquimal, característico do câncer de mama;
- O carcinoma multifocal nas glândulas mamárias de fêmeas expostas ao BPA apresentam um aumento na expressão de ER α e uma perda da expressão dos receptores de ER β , PR e PRL-R, além de atuar na translocação nuclear dos receptores AR e HER2/ErbB2;
- A alta expressão de ER no tecido mamário exposto à disrupção endócrina está associada à expressão do marcador de alterações epigenéticas EZH2, o que confere um fenótipo pró-invasivo e maligno às neoplasias;
- Houve o estabelecimento de um microambiente tumoral que corrobora com o desenvolvimento neoplásico a partir de uma resposta inflamatória das células do carcinoma e elementos estromais;
- A polarização de macrófagos e mastócitos para fenótipos pró-tumorais e pró-inflamatórios foi uma marcante característica nas glândulas mamárias no início da carcinogênese induzida pelo BPA.

Assim, conclui-se que a exposição ao BPA nas janelas gestacional e lactacional apresenta um risco para o desenvolvimento neoplásico tardiamente na fase senil. As repercussões histopatológicas demonstraram o início do processo carcinogênico com características marcantes como a transição epitélio-mesenquimal, um estroma reativo e inflamação que favorece um microambiente tumoral.

6. REFERÊNCIAS

- ACCONCIA, F.; PALLOTTINI, V.; MARINO, M. Molecular mechanisms of action of BPA. **Dose-Response**, v. 13, n. 4, p. 1–9, 2015.
- ACEVEDO, C.; AMAYA, C.; LÓPEZ-GUERRA, J. L. Rare breast tumors: Review of the literature. **Reports of Practical Oncology and Radiotherapy**, v. 19, n. 4, p. 267–274, 2014.
- AKERS, R. M. **Lactation and the Mammary Gland**. [s.l: s.n.].
- ALOISI, A. M. et al. Bisphenol-A differently affects estrogen receptors- α in estrous-cycling and lactating female rats. **Neuroscience Letters**, v. 310, n. 1, p. 49–52, 2001.
- ALONSO-MAGDALENA, P. et al. Bisphenol a exposure during pregnancy disrupts glucose homeostasis in mothers and adult male offspring. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 9, p. 1243–1250, 2010.
- ALONSO-MAGDALENA, P. et al. Bisphenol-A treatment during pregnancy in mice: A new window of susceptibility for the development of diabetes in mothers later in life. **Endocrinology**, v. 156, n. 5, p. 1659–1670, 2015.
- ALONSO-MAGDALENA, P. et al. Effects of gestational exposure to bisphenol-A on the development of diabetes in mothers. **Toxicology Letters**, v. 259, n. 2016, p. S31–S32, 2016.
- BASAK, S.; DAS, M. K.; DUTTARROY, A. K. Plastics derived endocrine-disrupting compounds and their effects on early development. **Birth Defects Research**, v. n/a, n. n/a, jun. 2020.
- BIGSBY, R. et al. Evaluating the effects of endocrine disrupters on endocrine function during development. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, n. SUPPL. 4, p. 613–618, 1999.
- BOUCHER, J. G. et al. In Vitro Effects of Bisphenol A β -D-Glucuronide (BPA-G) on Adipogenesis in Human and Murine Preadipocytes. **Environmental health perspectives**, v. 123, n. 12, p. 1287–1293, 2015.
- BROMER, J. G. et al. Bisphenol-A exposure in utero leads to epigenetic alterations in the developmental programming of uterine estrogen response. **The FASEB Journal**, v. 24, n. 7, p. 2273–2280, fev. 2010.
- CUNHA, G. R.; COOKE, P. S.; KURITA, T. Role of stromal-epithelial interactions in hormonal responses. **Archives of Histology and Cytology**, v. 67, n. 5, p. 417–434, 2004.
- CUSTODIO, A. M. G. et al. Disorders related with ageing in the gerbil female prostate (Skene's paraurethral glands). **International Journal of Experimental Pathology**, v. 91, n. 2, p. 132–143, 2010.
- DAWSON, C. A.; VISVADER, J. E. The Cellular Organization of the Mammary Gland: Insights From Microscopy. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, n. 0123456789, 2021.
- DZIĘGELEWSKA, Ż.; GAJEWSKA, M. Stromal-Epithelial Interactions during Mammary Gland Development. **Stromal Cells - Structure, Function, and**

Therapeutic Implications, 2019.

ENGLUND, J. I. et al. Laminin alpha 5 is Necessary for Mammary Epithelial Growth and Function by Maintaining Luminal Epithelial Cell Identity. **bioRxiv**, p. 2019.12.27.889451, 2019.

FEINBERG, T. Y. et al. Functional roles of mmp14 and mmp15 in early postnatal mammary gland development. **Development (Cambridge)**, v. 143, n. 21, p. 3956–3968, 2016.

FERNANDEZ, S. V.; RUSSO, J. Estrogen and Xenoestrogens in breast cancer. **Toxicologic Pathology**, v. 38, n. 1, p. 110–122, 2010.

GASSMAN, N. R. Induction of Oxidative Stress by Bisphenol A and Its Pleiotropic Effects. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 58, n. 2, p. 60–71, 2017.

GOLOUBKOVA, T.; SPRITZER, P. M. Xenoestrogênios: o exemplo do bisfenol-A. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 44, n. 4, p. 323–330, 2000.

GREEN, K. A.; STREULI, C. H. Apoptosis regulation in the mammary gland. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 61, n. 15, p. 1867–1883, 2004.

HASS, U. et al. Low-dose effect of developmental bisphenol A exposure on sperm count and behaviour in rats. **Andrology**, v. 4, n. 4, p. 594–607, 2016.

HYTTEL, P.; SINOWATZ, F.; VEJLSTED, M. **Embriologia veterinária**. [s.l.] Elsevier Brasil, 2012.

INMAN, J. L. et al. Mammary gland development: Cell fate specification, stem cells and the microenvironment. **Development (Cambridge)**, v. 142, n. 6, p. 1028–1042, 2015.

LABRIE, F. et al. Is dehydroepiandrosterone a hormone? **Journal of Endocrinology**, v. 187, n. 2, p. 169–196, 2005.

LEONEL, E. C. R. et al. Perinatal exposure to bisphenol A impacts in the mammary gland morphology of adult Mongolian gerbils. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 113, n. January, p. 104374, 2020.

LEONEL, E. C. R. R. et al. Histological and immunohistochemical characterization of the Mongolian gerbil's mammary gland during gestation, lactation and involution. **Acta Histochemica**, v. 119, n. 3, p. 273–283, 2017.

MACIAS, H.; HINCK, L. Mammary gland development. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology**, v. 1, n. 4, p. 533–557, abr. 2012.

MAFFINI, M. V. et al. Endocrine disruptors and reproductive health: The case of bisphenol-A. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 254–255, n. August, p. 179–186, 2006.

MALLER, O.; MARTINSON, H.; SCHEDIN, P. Extracellular matrix composition reveals complex and dynamic stromal-epithelial interactions in the mammary gland. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 15, n. 3, p. 301–318, 2010.

MAN, Y. G.; SANG, Q. X. A. The significance of focal myoepithelial cell layer disruptions in human breast tumor invasion: A paradigm shift from the “protease-centered” hypothesis. **Experimental Cell Research**, v. 301, n. 2, p. 103–118, 2004.

MASSO-WELCH, P. A. et al. A developmental atlas of rat mammary gland histology.

- Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 5, n. 2, p. 165–185, 2000.
- MEANEY, M. J.; SZYF, M.; SECKL, J. R. Epigenetic mechanisms of perinatal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function and health. **Trends in Molecular Medicine**, v. 13, n. 7, p. 269–277, 2007.
- MELI, R. et al. Oxidative stress and BPA toxicity: An antioxidant approach for male and female reproductive dysfunction. **Antioxidants**, v. 9, n. 5, 2020.
- MORI, H. et al. Transmembrane/cytoplasmic, rather than catalytic, domains of Mmp14 signal to MAPK activation and mammary branching morphogenesis via binding to integrin β 1. **Development (Cambridge)**, v. 140, n. 2, p. 343–352, 2013.
- NEVILLE, M. C. et al. The Mammary Fat Pad. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 3, n. 2, p. 109–116, 1998.
- NIETO, C. M.; RIDER, L. C.; CRAMER, S. D. Influence of stromal-epithelial interactions on androgen action. **Endocrine-Related Cancer**, v. 21, n. 4, 2014.
- NISHINO, N.; TOTSUKAWA, K. **Study on the Estrous Cycle in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*)** *Experimental Animals*, 1996.
- NORRIS, M. L.; ADAMS, C. E. Incidence of cystic ovaries and reproductive performance in the mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. **Laboratory Animals**, v. 6, n. 3, p. 337–342, 1972.
- PAMARTHY, S. et al. The V-atpase a2 isoform controls mammary gland development through notch and TGF- β signaling. **Cell Death and Disease**, v. 7, n. 11, p. 1–13, 2016.
- PAWLINA, W.; ROSS, M. **Histologia: texto e atlas**. [s.l.: s.n.].
- RODGERS, K. M. et al. Environmental chemicals and breast cancer: An updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms. **Environmental Research**, v. 160, p. 152–182, 2018.
- RUBIN, B. S. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 127, n. 1–2, p. 27–34, 2011.
- RUIZ, T. F. R.; TABOGA, S. R.; LEONEL, E. C. R. Molecular mechanisms of mammary gland remodeling: A review of the homeostatic versus bisphenol a disrupted microenvironment. **Reproductive Toxicology**, v. 105, n. May, p. 1–16, out. 2021.
- RUSSO, I. H.; RUSO, J. Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, n. 9, p. 938–967, 1996.
- RUSSO, J. et al. Pattern of distribution of cells positive for estrogen receptor a and progesterone receptor in relation to proliferating cells in the mammary gland. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 53, n. 3, p. 217–227, 1999.
- SETA, D. DELLA et al. Bisphenol-A exposure during pregnancy and lactation affects maternal behavior in rats. **Brain Research Bulletin**, v. 65, n. 3, p. 255–260, 2005.
- SHAFEI, A. et al. Stop eating plastic, molecular signaling of bisphenol A in breast cancer. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 24, p. 23624–23630, 2018.
- SILVA, J. P. A. et al. Bisphenol-S promotes endocrine-disrupting effects similar to

those promoted by bisphenol-A in the prostate of adult gerbils. **Reproductive Toxicology**, v. 85, n. September 2018, p. 83–92, 2019.

STAPLES, C. A. et al. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. **Chemosphere**, v. 36, n. 10, p. 2149–2173, 1998.

TERRY, M. B. et al. Environmental exposures during windows of susceptibility for breast cancer: A framework for prevention research. **Breast Cancer Research**, v. 21, n. 1, p. 1–16, 2019.

TOPPARI, J. Environmental endocrine disrupters. **Sexual Development**, v. 2, n. 4–5, p. 260–267, 2008.

TOPPER, Y. J.; FREEMAN, C. S. Multiple hormone interactions in the developmental biology of the mammary gland. **Physiological reviews**, v. 60, n. 4, p. 1049–1106, 1980.

TRISMEGISTRO, H. **O Caibalion**: Estudo da filosofia hermética do antigo Egito e da Grécia. 2ª (Padrão). Pensamento, 1908.

UNSWORTH, A.; ANDERSON, R.; BRITT, K. Stromal fibroblasts and the immune microenvironment: Partners in mammary gland biology and pathology? **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 19, n. 2, p. 169–182, 2014.

VIÑAS, R.; JENG, Y. J.; WATSON, C. S. Non-genomic effects of xenoestrogen mixtures. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 9, n. 8, p. 2694–2714, 2012.

VISVADER, J. E.; STINGL, J. Mammary stem cells and the differentiation hierarchy: Current status and perspectives. **Genes and Development**, v. 28, n. 11, p. 1143–1158, 2014.

WANG, Q. A.; SCHERER, P. E. Remodeling of Murine Mammary Adipose Tissue during Pregnancy, Lactation, and Involution. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 24, n. 3, p. 207–212, 2019.

WANG, X. et al. A complex 3D human tissue culture system based on mammary stromal cells and silk scaffolds for modeling breast morphogenesis and function. **Biomaterials**, v. 31, n. 14, p. 3920–3929, 2010.

WISEMAN, B. S.; WERB, Z. Development: Stromal effects on mammary gland development and breast cancer. **Science**, v. 296, n. 5570, p. 1046–1049, 2002.

WISNIEWSKI, P. et al. Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic-pituitary-testicular axis. **Toxicology**, v. 329, p. 1–9, 2015.

YANG, Y. J. et al. Bisphenol A exposure is associated with oxidative stress and inflammation in postmenopausal women. **Environmental Research**, v. 109, n. 6, p. 797–801, 2009.