



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**EFFECTO DE LA INHALACIÓN DE PENTÓXIDO DE  
VANADIO EN EL MODELO DE ADENOMAS PULMONARES  
INDUCIDOS POR URETANO. ESTUDIO EN RATÓN.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A :**

**NELLY LÓPEZ VALDEZ**



**TUTORA:  
DRA. TERESA IMELDA FORTOUL VAN DER GOES**

**2008**



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.

## Hoja de Datos del Jurado

<p>1. Datos del alumno López Valdez Nelly 55 77 58 84 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 301728979</p>
<p>2. Datos del tutor Dra. Teresa Imelda Fortoul van der Goes</p>
<p>3. Datos del sinodal 1 Dra. Laura Colín Barenque</p>
<p>4. Datos del sinodal 2 Dra. Isabel García Peláez</p>
<p>5. Datos del sinodal 3 M. en C. Martha Luz Ustarroz Cano</p>
<p>6. Datos del sinodal 4 M. en C. Adriana Elizabeth González Villalva</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito. Efecto de la inhalación de pentóxido de vanadio en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano. Estudio en ratón. 66 p 2008</p>

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A mis sinodales:**

Dra. Teresa Fortoul van der Goes  
Dra. Laura Colín Barenque  
Dra. Isabel García Peláez  
M. en C. Martha Ustarroz Cano  
M. en C. Adriana González Villalva

### **A todos aquellos que con su colaboración permitieron que se realizara este trabajo:**

Carlos Iván Falcón Rodríguez

### **Por su apoyo en la parte técnica:**

Técnica Académica Verónica Rodríguez Mata  
Técnica Académica Judith Reyes Ruíz

### **Al personal del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM**

Jefe de la Unidad de Bioterio: Dr. Enrique Pinzón Estrada.

### **Y colaboradores:**

Dr. Víctor Manuel Salgado Alfaro.  
Dr. Ismael Torres Saldaña.

### **A la Universidad Nacional Autónoma de México:**

Por los conocimientos que aprendí en las aulas de la Facultad de Ciencias.

Este proyecto fue parcialmente apoyado por PAPIIT, UNAM IN200606

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A mis padres:**

Por haberme dado la confianza y el apoyo en esta larga carrera. Gracias por esperar y estar conmigo en los momentos cruciales de mi vida, este trabajo esta dedicado a ustedes. ¡Los amo!

### **A mis hermanos, Andrea y Jorge:**

Por estar junto a mí en todo tiempo, por todos los momentos de risas y alegría que me han brindado y porque son parte importante de mi vida. ¡Los quiero mucho!

### **A Tere:**

Por la confianza, el apoyo y todas las enseñanzas que he tenido de Ti, por todas las oportunidades que me brindas, por trabajar contigo. Eres una gran maestra y sin tu ayuda el camino hubiera sido más complicado. ¡Gracias!

### **A Carlos:**

Por ser mi compañero y amigo, por todos los momentos de alegría que hemos compartido y también los momentos difíciles. Gracias Carlitos por todo lo que me has enseñado y apoyado.

### **A Mónica:**

Por todos los momentos que hemos compartido, por tu sinceridad y tus consejos. ¡Gracias!

### **A Joel e Iraís:**

Por ser mis amigos. Porque con sus palabras de aliento han sido parte de este camino, por los momentos felices y tristes que hemos pasado juntos, por estar junto a mí e impulsarme a seguir adelante. Son una parte muy importante de mi vida. ¡Los quiero muchísimo!

### **A Vianey y Paty:**

Por tomarse el tiempo de revisar este trabajo. Sus consejos y aportaciones fueron muy útiles y valiosas para mí.

### **A mis compañeros y amigos en el laboratorio:**

Sofía, Vianey, Gaby, Marcela, Paola, Carmen, Rubén, Nayeli, Estefanía, por todas las cosas que he aprendido de ustedes, por todos los momentos que hemos compartido, y por ser parte de mi formación profesional. ¡Gracias!

## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN</b> .....	1
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	
<b>2.1 CONTAMINACIÓN</b> .....	2
2.1.1 CONTAMINACIÓN DEL AIRE .....	2
2.1.2 PARTÍCULAS SUSPENDIDAS.....	3
2.1.3 METALES.....	4
<b>2.2. VANADIO</b> .....	6
2.2.1 TOXICOCINÉTICA.....	9
2.2.2 DOSIS-EFECTO.....	10
2.2.3 EFECTOS CONOCIDOS DEL VANADIO.....	10
2.2.4 VANADIO Y CARCINOGENESIS.....	13
<b>2.3 CÁNCER PULMONAR</b> .....	14
2.3.1 MODELOS DE CÁNCER PULMONAR.....	16
2.3.2 MODELO DE ADENOMAS PULMONARES INDUCIDOS POR URETANO.....	17
<b>2.4 HISTOLOGÍA DEL PULMÓN</b> .....	18
2.4.1 BRONQUIO.....	19
2.4.2 BRONQUIOLO.....	19
2.4.3 ALVÉOLOS.....	20
<b>2.5. UNIONES GAP Y CARCINOGENESIS</b> .....	21
2.5.1 GENERALIDADES.....	21
2.5.2 RELACIÓN DE LAS UNIONES GAP CON LA CARCINOGENESIS.....	23
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	25
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	25
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	25
<b>6. MÉTODO</b> .....	26
<b>7. RESULTADOS</b>	
7.1 CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN EL PULMÓN DE RATONES TRATADOS CON URETANO/ V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .....	29
7.2 CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA CX32 EN EL EPITELIO PULMONAR DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .....	34

7.3 CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA CX43 EN EL EPITELIO PULMONAR DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> .....	38
--	----

## **8. DISCUSIÓN**

8.1 EFECTO ANTIPROLIFERATIVO DEL PENTÓXIDO DE VANADIO.....	42
--	----

8.2 EFECTO DEL URETANO SOBRE LAS CONEXINAS.....	49
---	----

8.3 EFECTO DEL PENTÓXIDO DE VANADIO SOBRE LAS CONEXINAS.....	51
--	----

<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>53</b>
-----------------------------	-----------

<b>10. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>53</b>
------------------------------	-----------

<b>11. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>54</b>
------------------------------	-----------

## 1. RESUMEN

El pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ ) es un compuesto considerado un contaminante ambiental, emitido a la atmósfera principalmente por la combustión de gasolinas. Este compuesto ha sido asociado a una gran cantidad de efectos adversos en la salud, de los cuales destacan los del tracto respiratorio, por ser la principal vía de exposición. Uno de los procesos en los que los efectos del vanadio causan mayor controversia es el de la carcinogénesis, dado que el cáncer es una patología de importancia a nivel mundial. De manera particular, el  $V_2O_5$  ha sido asociado al desarrollo de adenomas y carcinomas en ratones y ratas. Sin embargo el mecanismo de acción del vanadio y sus compuestos en el desarrollo de un proceso carcinogénico no está bien establecido.

Este estudio tiene como finalidad analizar el efecto del  $V_2O_5$  en un modelo de carcinogénesis pulmonar establecido (Modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano). Para ello se utilizaron 80 ratones macho de la cepa CD-1, distribuidos en dos grupos. Cada grupo se subdividió de la siguiente manera: 10 animales control, 10 uretano y 20 uretano/  $V_2O_5$ . Los animales de los grupos uretano se inyectaron con una dosis de 1 mg/g de peso del animal, mientras que los del grupo uretano/  $V_2O_5$  fueron inyectados con la misma dosis y expuestos a inhalación de  $V_2O_5$  1hr/2 veces a la semana.

Después de 8 semanas se sacrificó el primer grupo de 40 animales, se extrajeron los pulmones, se hicieron cortes seriados que fueron teñidos con tinción tricrómica de Masson, se analizaron con la finalidad de establecer una relación de comparación entre los grupos uretano y uretano/  $V_2O_5$ , en cuanto a número y tamaño de los adenomas. Este mismo procedimiento se repitió a las 13 semanas de exposición.

Los resultados muestran que los animales del grupo uretano/ $V_2O_5$  presentan adenomas más pequeños y menos frecuentes en relación con el grupo uretano, en ambos tiempos. Ligado al efecto sobre el tamaño y la frecuencia de los adenomas, se analizó también el efecto que el  $V_2O_5$  presenta sobre las conexinas, proteínas de uniones Gap, que han sido relacionadas con procesos de carcinogénesis disminuyendo su expresión y funcionalidad cuando se desarrolla un proceso de este tipo. Para ello se realizó inmunohistoquímica para Cx32 y Cx43, las cuales se presentan de manera normal en el pulmón. En el grupo uretano/  $V_2O_5$  se observó una acumulación de estas proteínas en el citoplasma de las células del epitelio pulmonar, que no se presentó en el grupo uretano. Esto fue confirmado por análisis de densitometría. Después de analizar los datos concluimos que el  $V_2O_5$  presenta un efecto de disminución en el tamaño y frecuencia de los adenomas en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano, cuando se administró de manera conjunta con el carcinógeno. Al parecer este compuesto podría estar interfiriendo de alguna forma aún no establecida con el mecanismo de acción del carcinógeno.

En cuanto a las conexinas, este compuesto favorece la acumulación de estas proteínas en el citoplasma celular, lo que puede contribuir a una disminución en la proliferación de los neumocitos, manteniendo hasta donde sea posible, la homeostasis del tejido.



## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 CONTAMINACIÓN**

La contaminación ambiental es uno de los problemas más importantes que afectan a nivel mundial y surge cuando se produce un desequilibrio, como resultado de la adición de cualquier sustancia al medio ambiente, en cantidad tal, que cause efectos adversos en el hombre, en los animales, vegetales o materiales expuestos a dosis que sobrepasen los niveles aceptables en la naturaleza.

La contaminación puede surgir a partir de fuentes naturales o bien por fuentes antropogénicas, que conforman las actividades de la vida diaria y puede afectar de manera importante los recursos naturales, tales como el agua, el suelo y el aire, entre otros.

Un aspecto importante a considerar es el deterioro de la calidad del aire como uno de los principales problemas ambientales en muchas ciudades de América Latina, tales como la Ciudad de México, Sao Paulo, Santiago y Buenos Aires, por mencionar algunas (Onursal y Gautam, 1997).

#### **2.1.1 CONTAMINACIÓN DEL AIRE**

La contaminación del aire ocurre cuando sustancias emitidas por actividades antropogénicas se encuentran en una concentración suficientemente alta para provocar daño directo o indirecto a humanos, plantas, animales y otras formas de vida (Jacobson, 2002). Estas sustancias contaminantes pueden ser gases y partículas (Onursal y Gautam, 1997; Harrison, 2001).

Estos contaminantes pueden provenir de fuentes naturales, tales como los incendios forestales, la erosión del suelo y las erupciones volcánicas. Sin embargo, la mayor parte de los contaminantes que son emitidos a la atmósfera, son producto de actividades humanas, tales como la quema de combustibles en la industria y por los vehículos automotores, siendo estos últimos los de mayor contribución a la contaminación (Onursal y Gautam, 1997).

Algunas ciudades en donde en la última década se han presentado altos niveles de contaminantes en el aire son: México, Río de Janeiro, Milán, Ankara,

Melbourne, Búfalo, Tokio y Moscú. En especial, la zona metropolitana del Valle de México es una de las más contaminadas del mundo, debido a la gran cantidad de industrias y automóviles que circulan en ella, así como sus condiciones geográficas (Riveros-Rosas et al., 1997; Rosales-Castillo, 2001).

La ciudad de México es considerada como una de las más grandes del mundo, y la zona metropolitana es considerada como el área mas poblada de Latinoamérica con una tasa de crecimiento anual del 3%, en la que se encuentran una gran cantidad de industrias y un parque vehicular de más de 3 millones de automóviles (Onursal y Gautam, 1997; Harrison, 2001).

Se calcula que en los últimos años, la cantidad de automóviles que se integran a la circulación crece en un 10 % anual, y su circulación genera una elevada cantidad de contaminantes por el combustible consumido. Se ha estimado que el 75% de los contaminantes que se emiten a la atmósfera provienen de la combustión de los motores de los vehículos e industrias (Yip y Madl, 2002).

### **2.1.2 PARTÍCULAS SUSPENDIDAS**

Una forma de contaminación del aire son las partículas suspendidas que se forman por la erosión del suelo, la quema de combustibles fósiles y gasolinas y la generación de energía. Estas partículas son de distinto tamaño, forma y composición (Harrison y Yin, 2000; Cormier et al., 2006; Mossman et al., 2007).

Existen varias propiedades importantes a considerar para determinar los efectos tóxicos que las partículas pueden tener en los organismos. Estas características incluyen el tamaño de la partícula y su composición química (Harrison y Yin, 2000). En cuanto al tamaño de las partículas, Mossman y cols (2007) proponen la siguiente clasificación:

- Partículas suspendidas totales (PST): con un diámetro aerodinámico mayor a 10  $\mu\text{m}$ .
- Partículas menores a 10  $\mu\text{m}$  (PM10). Dentro de esta clase de partículas encontramos tres fracciones distintas:
  - Fracción gruesa. Con un tamaño entre 2.5 y 10  $\mu\text{m}$
  - Fracción fina. Con un tamaño entre 2.5 y 0.1  $\mu\text{m}$
  - Fracción ultrafina. Con un tamaño menor a 0.1  $\mu\text{m}$

Las partículas correspondientes a la fracción ultrafina son de particular importancia ya que constituyen más de la mitad de la masa de partículas en la atmósfera (Brunekreef y Forsberg 2005). Estas partículas tienen la capacidad de penetrar a la región alveolar del sistema respiratorio con gran eficiencia, al igual que el intersticio pulmonar (Harrison y Yin, 2000).

En cuanto a la composición química de las partículas en general, la evidencia epidemiológica apunta a que ésta influye de manera importante en la toxicidad de las mismas, ya que se ha reportado que los metales traza son responsables de algunos de sus efectos tóxicos (Harrison y Yin, 2000).

En los últimos años, las partículas suspendidas han cobrado especial importancia. Esto debido a que se han reportado numerosos efectos adversos provocados por éstas, los cuales se manifiestan de manera más importante en el sistema respiratorio, en donde producen enfisema pulmonar, bronquitis crónica, neumonía (Pope, 1991,1995; Gilmour, et al., 1996; Brunekreef y Forsberg, 2005), entre otros. Además se reportan también efectos en el sistema cardiovascular, tales como aterogénesis, trombogénesis y arritmias cardiacas, entre otros efectos (Donaldson et al., 2001; Rosales-Castillo, 2001). Además existe evidencia de los efectos de las partículas suspendidas, en el incremento de la mortalidad en varias ciudades del mundo como Santiago de Chile, Vancouver, Canadá, varias ciudades de los Estados Unidos y la Ciudad de México (Brunekreef y Forsberg, 2005).

Es importante considerar que los metales que forman parte de las partículas suspendidas no son solamente considerados contaminantes ambientales, sino que se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente y constituyen una parte esencial en el funcionamiento de los sistemas biológicos. Por otro lado, se asocian también con efectos tóxicos generados en las células, que se describirán mas adelante.

### **2.1.3 METALES**

La presencia de los metales en los sistemas biológicos es necesaria para el funcionamiento adecuado de las células y la supervivencia de los organismos (Galaris y Evangelou, 2002; Durham y Snow, 2006). Estos regulan una gran cantidad de mecanismos esenciales con gran especificidad y selectividad y las cantidades en las que cada metal se requiere dentro de la célula son muy variadas y esto

dependerá de la utilización que se haga del metal en los sistemas biológicos (Stillman y Presta, 2000).

Los metales considerados como elementos esenciales son requeridos para el mantenimiento de la vida y su deficiencia resulta en el deterioro de una función en la célula; únicamente la administración de estos metales en específico permite el restablecimiento normal de la función. Algunos ejemplos de esta clase de metales son el hierro, manganeso, zinc, selenio, entre otros (Reilly, 2004).

Existen diversas funciones orgánicas en las que los metales están involucrados. Estos constituyen parte de la estructura de metaloenzimas, funcionan como acarreadores respiratorios, como complementos de ciertas vitaminas (cobalto-vitamina B<sub>12</sub>) y hormonas, entre otras funciones (Stillman y Presta, 2000).

Por otro lado existen otros metales considerados elementos traza no esenciales, entre los que encontramos al vanadio. Para este tipo de metales no se ha establecido la existencia de alguna patología asociada a su deficiencia, en mamíferos y son elementos que son requeridos en pequeñas cantidades (Reilly, 2004).

Sin embargo, también se sabe que en concentraciones altas algunos de éstos elementos tienen propiedades genotóxicas y carcinógenas (Durham y Snow, 2006). La asociación de la exposición a metales con el desarrollo de cáncer es un fenómeno bien documentado. Metales como el arsénico, el cadmio, el cromo y el níquel son parte de la lista de metales que han sido formalmente clasificados por la IARC (International Association of Cancer Research) como carcinógenos bien conocidos (IARC 1980, 1990, 1993). Se sabe que estos y otros metales pueden promover cambios en las funciones normales de las células, desencadenando un crecimiento celular descontrolado (Klein et al., 1998).

Los metales capaces de promover un proceso carcinogénico, lo hacen por diversos mecanismos, como los que se mencionan a continuación:

- Formación de radicales libres. Puede generar daños al DNA como mutaciones (Snow, 1992; Klein et al., 1998; Ding y Shi, 2002; Galaris y Evangelou, 2002).
- Regulación de la actividad de factores de transcripción. Algunos metales como el cromo, el níquel, el vanadio y el plomo son capaces de activar factores de transcripción como NF-κB, AP-1 y p53, que pueden permitir la promoción y progresión de tumores (Ye et al., 1995; Shi et al., 1998; Chen et al., 2000, 2002; Wang et al., 2000).

- Efectos sobre las vías de transducción de señales. Diferentes metales como el cromo, el vanadio y el arsénico, por mencionar algunos tienen la capacidad de afectar la regulación de la vía de las MAP cinasas (MAPKs), principalmente a las cinasas ERK, p38 y JNK (Chen et al., 2000; Liu et al., 2001; Galaris y Evangelou, 2002). Los metales pueden activar o inhibir estas vías dependiendo de las dosis, y esto tener repercusiones en el crecimiento de las células, y la progresión del ciclo celular. El entendimiento de cómo los metales intervienen en la vía de las MAPKs es crucial para estudiar la carcinogénesis inducida por los metales (Leonard et al., 2004).
- Efectos sobre la reparación del DNA. Algunos metales como el arsénico, níquel, cromo y cadmio han mostrado efectos sobre los mecanismos de reparación del DNA (Scicchitano y Pegg, 1987; Durham y Snow, 2006). La interferencia de los metales con los distintos mecanismos celulares de reparación del DNA pueden llevar a la acumulación de mutaciones potenciales (Jin et al., 2003; Durham y Snow, 2006).

Como se mencionó es capaz de inducir algunos de los mecanismos relacionados con el desarrollo de un proceso carcinogénico, por lo que se describen sus características de manera puntual.

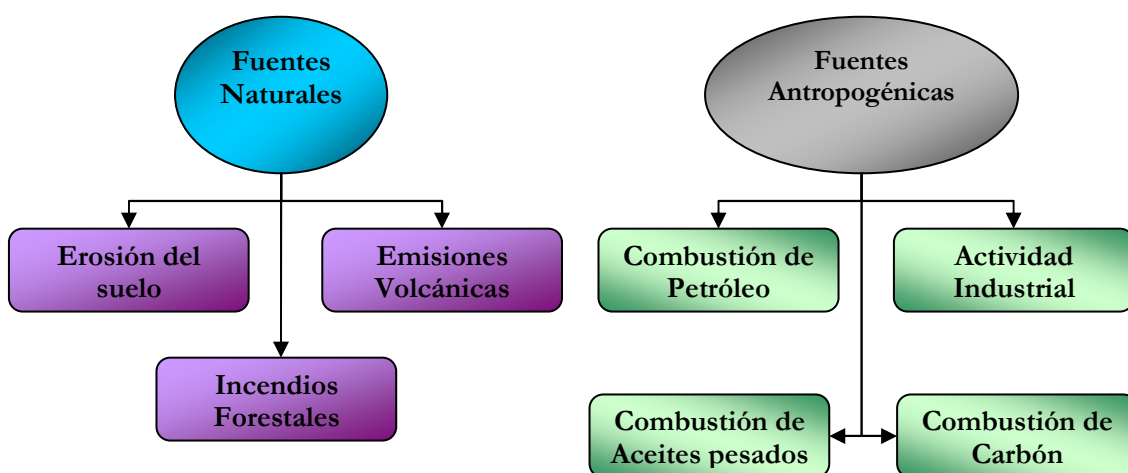
## **2.2 VANADIO**

El vanadio (V) es un metal de color grisáceo, es el primer elemento de transición del grupo VB, tiene como número atómico 23 y un peso atómico de 50.95, presenta diferentes estados de oxidación que van de -1 a +5, pero los estados más comunes van del +3 al +5. En la corteza terrestre ocupa el lugar 22 de abundancia (Barceloux D, 1999; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

En la naturaleza el V no se encuentra de forma pura, ya que debido a sus propiedades es propenso a reaccionar con otros elementos (Barceloux, 1999). De manera natural, el vanadio se encuentra formando parte de diferentes minerales como la carnotita, patronita y vanadinita (Grayson 1983; ATSDR, 1997), además de ser un componente de rocas ricas en azufre y encontrarse en depósitos de petróleo crudo (ATSDR, 1997). Por otro lado se encuentra también en pequeñas cantidades en ciertos alimentos como la pimienta negra, algunos hongos, espinacas y en mariscos. Podemos encontrarlo también en cuerpos de agua, en los que las concentraciones pueden variar dependiendo de la filtración que haya de las rocas

hacia estos depósitos naturales de agua y de su cercanía con fuentes antropogénicas de este elemento (Barceloux, 1999).

Existen entonces distintas fuentes de emisión de vanadio a la atmósfera, tales como las que se describen en la figura 1. El reciclaje global de vanadio en la atmósfera implica su liberación a través de fuentes naturales y antropogénicas hacia el aire, el agua y el suelo (Barceloux, 1999).



**Figura 1.** Fuentes de emisión de vanadio a la atmósfera. Las fuentes naturales incluyen la erosión del suelo, las emisiones volcánicas y los incendios forestales. Las fuentes antropogénicas, son las que constituyen la mayor emisión de V a la atmósfera e incluyen la combustión de petróleo, aceites pesados y carbón, junto con la actividad industrial.

La liberación natural de vanadio a la atmósfera a través de la erosión del suelo e intemperismo de la roca, al igual que de los incendios forestales, está lejos de los niveles de liberación por fuentes antropogénicas. Por ejemplo se ha detectado que en los ríos de la meseta de Colorado, Estados Unidos, los niveles de vanadio son de aproximadamente  $220 \mu\text{g/V L}$  de agua, mientras que actividades como la limpieza de calentadores puede liberar hasta  $500 \text{ mg/V m}^3$  al aire (Barceloux, 1999).

Es claro que la población en general esta expuesta a niveles bajos de vanadio en los alimentos y el agua de bebida (ATSDR, 1997; Barceloux, 1999) y que la principal fuente de exposición a este metal de transición es a través del aire, cuya liberación es consecuencia de la combustión del petróleo, el carbón y aceites pesados durante la generación de electricidad y calor. Es importante resaltar que existen altos niveles de vanadio (más del 50%) en el petróleo de Irak, Irán, Kuwait, Venezuela y México (Barceloux, 1999).

En zonas urbanas se han detectado concentraciones en el aire que van de 0.15 a 1.4 mg V/m<sup>3</sup> y en áreas rurales cantidades menores a 0.0024 mg V/m<sup>3</sup>. Datos de la Ciudad de México muestran que se encuentran valores de 0.114 mg/m<sup>3</sup> en aeropartículas de 10 µm y 0.093 mg/m<sup>3</sup> en las de 2.5 µm (Gutiérrez-Castillo et al, 2006).

Por otro lado, existen reportes informando que la concentración de V ha aumentado tanto en muestras biológicas, como en las partículas suspendidas en el aire que son retenidas en el tejido pulmonar de los habitantes de la Ciudad de México (Fortoul et al., 2002). En este estudio se reportan concentraciones de aproximadamente 1.38 µgV/g de peso seco de pulmón en autopsias practicadas a residentes de la Ciudad de México que vivieron durante la década de los 90, mientras que en la década de los 60 las concentraciones encontradas en los pulmones de los residentes de ese periodo fueron de 1.04 µgV/g de peso seco de pulmón.

El compuesto que se libera a la atmósfera por las actividades antropogénicas antes mencionadas es el pentóxido de vanadio (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), por lo que se le considera como un contaminante ambiental (ATSDR, 1997; NTP, 2002; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Este compuesto se considera además como el más importante comercialmente; es una sal de color amarillento-rojizo cuyo límite de exposición ocupacional a polvos y humos de 0.05 mg/m<sup>3</sup>. La exposición a este compuesto se da durante la limpieza de calentadores y chimeneas, y la quema de combustibles fósiles y aceites minerales (NTP, 2002).

Estudios previos indican que la absorción de este compuesto ocurre en humanos de manera muy importante a través de la exposición por inhalación (ATSDR, 1997). Se ha visto que los trabajadores expuestos a concentraciones de 0.05 a 5.3 mg/m<sup>3</sup> de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, desarrollan irritación severa del tracto respiratorio, tos, dolor de garganta, disnea y dolor de pecho (NTP, 2002).

Este metal, no solo se encuentra como un contaminante ambiental, si no que además tiene aplicaciones en la industria, entre las que se encuentran la generación de aleaciones no ferrosas, la producción de acero, como catalizador en la producción de ácido sulfúrico, en la oxidación de etanol, producción de envolturas fotográficas, producción de pigmentos amarillos, elaboración de fungicidas e insecticidas, producción de caucho sintético, elaboración de materiales de superconductividad, construcción de maquinaria aérea y tecnología espacial, entre otras. Se ha planteado también su uso como posible terapia contra la diabetes y anemia, como anticonceptivo vaginal (Rodríguez y Altamirano, 2006) y en modelos experimentales,

ciertos compuestos como el metavanadato de amonio, los vanadocenos y el monovanadato de amonio, se han planteado como agentes antineoplásicos (Evangelou 2002, Scior et al 2005).

### **2.2.1 TOXICOCINÉTICA**

Como se mencionó anteriormente, las dos vías principales de exposición a vanadio son la vía inhalada y la oral. El 10% del vanadio que se ingiere, o el 25% que se ha inhalado, es absorbido y transportado a varios tejidos del cuerpo por el torrente sanguíneo. De ambas vías, la mayor fuente de exposición es la oral, mientras que la principal vía de absorción es la inhalada. (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

En los alimentos el vanadio, se encuentra en grasas, aceites, frutas, vegetales, granos, productos de mar, carne (5 a 40 mg/kg), pimienta negra. El promedio de la ingesta diaria es de 13 a 15 mg/ día y algunas veces se pueden alcanzar valores de 60 mg/día (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Los órganos y tejidos que acumulan V son el hígado, el bazo, el riñón y el hueso; en menor cantidad se acumula en testículos y pulmones. Dentro de la célula, el vanadio interactúa con diversas moléculas orgánicas, tales como proteínas, péptidos, aminoácidos, nucleótidos y azúcares (Baran, 2003).

Una vez que entran al organismo, los compuestos de vanadio son transformados a cationes vanadil, que pasan a la sangre, en donde se oxidan a iones vanadato que se unen a la transferrina o a la albúmina para ser transportados (Goc, 2006). Esto se lleva a cabo a través de la membrana plasmática por medio de canales aniónicos. Dentro de las células los iones vanadato se reducen nuevamente a cationes vanadil, con la participación de la glutatión reductasa, ácido ascórbico, las catecolaminas, NADPH y otras sustancias reductoras (Rehder, 2003; Goc, 2006).

El vanadio que no es absorbido, es excretado rápidamente por la orina y las heces, con una vida media de aproximadamente 42 días. Si embargo, la mayor parte de este elemento es removido dentro de los dos días siguientes a la absorción (Goc, 2006).



### **2.2.2 RELACIÓN DOSIS-EFECTO**

La toxicidad del vanadio depende, tanto de la ruta de exposición como de la toxicidad inherente del compuesto. La inhalación es la ruta de exposición que produce una toxicidad intermedia, con respecto a la toxicidad que produce la vía de administración oral, que es baja y la que produce una administración parenteral que es mayor que las dos anteriores (Barceloux, 1999). Otro aspecto importante es que la toxicidad esta relacionada con el tiempo de exposición que puede ser aguda, sub-aguda, subcrónica y crónica (Klaassen y Eaton , 2001).

La exposición crónica a un elemento, es por varios meses (3 como mínimo) o años (Klaassen y Eaton, 2001). Tomando en cuenta que el vanadio está adherido a las partículas suspendidas en el aire que constantemente respiramos, nos enfrentamos a una exposición crónica por inhalación.

En general, los compuestos de vanadio son poco tóxicos, aunque se ha registrado que la toxicidad aumenta conforme aumenta la valencia del vanadio en el compuesto, por lo que los compuestos pentavalentes son los más tóxicos (Barceloux, 1999).

Las concentraciones a las que se sabe existe un daño en el humano son distintas y se han asociado con distintos efectos a distintos niveles, como por ejemplo:

- Concentración promedio de  $0.3 \text{ mg/m}^3$  (hasta  $5 \text{ mg/m}^3$ ) se asocia con tos, irritación en nariz, garganta y ojos, rinitis y lengua verde. Estos síntomas desaparecen al cesar la exposición (Lewis et al., 1959; Barceloux, 1999).
- Exposición a polvos de vanadio en concentraciones de  $0.1\text{--}139 \text{ mg/m}^3$  se asocia con un aumento de células polimorfo nucleares en lavado nasal (Hauser et al., 1995; Barceloux, 1999).
- Exposición crónica a polvos de vanadio en un rango de  $5\text{--}150 \text{ mg V/m}^3$  causa rinitis atrófica e inflamación persistente de bronquios (IPCS, 1988; Barceloux, 1999).

### **2.2.3 EFECTOS CONOCIDOS DEL VANADIO**

Los compuestos de vanadio forman parte de los llamados ROFA (Residual Oil Fly Ash), y han sido ligados a diversos efectos en las células y en la salud (Mossman et al., 2007).

El estado de oxidación del vanadio determina en gran manera los efectos biológicos que produce. Estos efectos pueden ser muy diversos y van desde la regulación en la actividad de diversas enzimas, los procesos que implican la formación de radicales libres y la fosforilación/desfosforilación de proteínas (Goc, 2006).

La formación de radicales libres en las células es el mecanismo de acción más importante del vanadio. Estos radicales libres que se forman a través de la reacción de Fenton desencadenan una serie de efectos en la célula, los cuales incluyen la peroxidación de lípidos en las membranas y lipoproteínas, la activación de procesos mutagénicos, la formación de entrecruzamientos de DNA con proteínas, degradación de DNA y necrosis (Altamirano, 1998; Lapenna, 2002).

En cuanto a la fosforilación y desfosforilación de algunas proteínas, algunos compuestos de vanadio como el vanadato, tienen la habilidad de comportarse como moléculas análogas del fosfato. De esta manera, el vanadio interviene en la fosforilación y desfosforilación de proteínas, activándolas e inactivándolas, según sea el caso. Se sabe que complejos de vanadato y peroxovanadio afectan los niveles de fosforilación intracelular, inhibiendo fosfatasas, y por lo tanto afectando diversas cascadas de señalización (Tsiani 1997; Morinville 1998).

Estos mecanismos mencionados, son importantes para explicar muchos de los procesos en los cuales el vanadio interviene a nivel sistémico; por ejemplo sobre la incorporación y el metabolismo de la glucosa. El vanadato estimula estos dos mecanismos en cultivos celulares y tejidos aislados (Shechter 1990; Posner et al. 1990; Scior et al., 2005).

El vanadato también tiene la capacidad de inhibir la lipólisis y estimular la lipogénesis en los adipocitos (Fantus et al. 1989; Shechter 1990) y puede mimetizar la insulina en hepatocitos aislados para inhibir la liberación de lipoproteínas de baja densidad (Jackson et al. 1988).

Diversos datos sugieren que los mecanismos a través de los cuales el vanadio ejerce un efecto parecido al de la insulina es la inhibición de fosfatasas, y por lo tanto la estimulación indirecta de la fosforilación de tirosinas (Shisheva y Shechter 1993; Posner et al., 1994).

Por otro lado, es importante señalar que los efectos sobre el sistema respiratorio del V son importantes, dado que, como se mencionó, la inhalación es la

principal vía de absorción de este metal, y sobre todo a  $V_2O_5$ . Se ha reportado que después de la inhalación de  $V_2O_5$  se produce remodelación de las vías respiratorias en ratones, incluyendo metaplasia celular y fibrosis (Rice et al., 1999). En ratas se ha encontrado que puede ocurrir también una remodelación de las vías respiratorias, similar a la observada en individuos con asma y bronquitis crónica (Bonner, 2000).

Otros efectos que se han atribuido a diversos compuestos de vanadio, en mamíferos, incluyendo al ser humano son: cambios en los órganos del sistema respiratorio como: rinitis, bronquitis, laringitis y faringitis; alteraciones bioquímicas en sangre, trombocitosis, cambios en la concentración de albúmina y colesterol y alteraciones neurodegenerativas (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Se sabe también que distintos compuestos de vanadio, administrados en distintas dosis causan efectos genotóxicos. Particularmente se ha encontrado que el  $V_2O_5$  es capaz de inducir estos daños en distintas células como los que se refieren en la tabla 1.

**Tabla 1.** Efecto del  $V_2O_5$  en estudios *in vitro* e *in vivo*.

Tipo Celular	Dosis de $V_2O_5$	Efecto Genotóxico	Referencia
Linfocitos	2,4 y 6 $\mu\text{g/ml}$	Aberraciones cromosómicas y retrasos en la cinética del ciclo celular	Roldán y Altamirano, 1990
Leucocitos y linfocitos	0.5, 54 y 540 $\mu\text{g/ml}$	Rupturas de cadena sencilla en el DNA	Rojas <i>et al.</i> , 1996
Linfocitos	0.001, 0.01 y 0.1 $\mu\text{g/ml}$	Aberraciones cromosómicas numéricas	Ramírez <i>et al.</i> , 1997
Linfocitos y células de la mucosa nasal	0.06-0.47 mM	Rupturas de cadena sencilla en el DNA	Kleinsasser <i>et al.</i> , 2003
Medula ósea de rata	4 mg/kg vía oral 21 días	Reducción del índice mitótico	Giri <i>et al.</i> , 1979
Médula ósea ratón (CD-1)	5.75, 11.5 y 23 mg/kg vía intraperitoneal	Rupturas de cadena sencilla, reducción del índice mitótico,	Altamirano <i>et al.</i> , 1993, 1996, 1999
Médula ósea ratón (kunming albino)	0.5, 2 y 8 $\text{mg/m}^3$ inhalación de polvos	Incremento en la frecuencia de micronúcleos	Sun, 1987

No existen datos contundentes que demuestren que el pentóxido de vanadio sea un compuesto carcinogénico; sin embargo la posibilidad de que así sea permanece dado que puede provocar daños al DNA que pueden dirigir al desarrollo de un proceso carcinogénico (Barceloux, 1999; Ress et al., 2003). Por otro lado, la IARC ha clasificado al pentóxido de vanadio como un posible carcinógeno para humanos (IARC, 2006).

#### **2.2.4. VANADIO Y CARCINOGENESIS**

No se ha reconocido plenamente que el V posea actividad carcinogénica en humanos. Sin embargo este metal tiene la capacidad de promover ciertos mecanismos que podrían relacionarse con procesos carcinogénicos. El V promueve mutaciones en ciertas células, “fosforila” cinasas como ERK-1, ERK-2, p70 y p90 (Pandey et al., 1995) y posiblemente tenga un efecto sobre oncogenes, como Ras (Ress et al., 2003; Fukuda et al., 2004). Además los estudios referidos anteriormente sobre los efectos genotóxicos de este metal son también evidencia de lo anterior.

Por estos mecanismos, la carcinogénesis es uno de los procesos en los que se ha estudiado el efecto de los distintos compuestos de vanadio. Esta exploración ha arrojado resultados contradictorios en cuanto a los efectos que este elemento tiene en el desarrollo de este proceso, los cuales se mencionan a continuación.

Por un lado, se ha encontrado que ciertos compuestos de vanadio, en su mayoría sales, tienen un efecto antiproliferativo y antitumoral. Numerosos estudios en modelos animales muestran los efectos antiproliferativos del vanadio.

Thompson y cols., (1984) utilizan un modelo de carcinogénesis mamaria inducida por 1-metil-1-nitrosurea (MNU-1), que al añadir vanadil sulfato al alimento de las ratas, se reduce la incidencia de tumores de mama. Efectos similares se reproducen en otro modelo de carcinogénesis mamaria inducida por 7,12-dimetilbenzo antraceno (DMBA). Estos estudios indican que al utilizar monovanadato de amonio como suplemento de agua de bebida, se reduce la incidencia y número de tumores (Bishayee et al., 2000; Sankar et al., 2004, 2006).

Por otro lado, algunos modelos de carcinogénesis hepática muestran el mismo efecto de reducción en la incidencia y tamaño de tumores, que los de carcinogénesis mamaria. Los efectos de la administración de metavanadato de amonio como complemento de alimento en un modelo de carcinogénesis hepática

inducida por dietilnitrosamina (DEN), en ratas (Basak y Chatterjee, 2000; Chakraborty et al., 2000, 2007) nos muestran de igual manera, evidencia a favor del efecto antineoplásico del V.

El modelo de carcinogénesis hepática inducida por 2-acetilaminofluoreno en ratas aporta también evidencia a favor de este efecto del vanadio. Chakraborty y cols., (2006) indican que la administración de monovanadato de amonio en agua de bebida, disminuye la proliferación celular y la nodulogénesis hepática.

Sin embargo existe evidencia de que el vanadio puede propiciar el desarrollo de un proceso carcinogénico en el pulmón, sin la participación de otro compuesto químico. En un estudio realizado por Ress y cols., (2003), cuyo propósito fue investigar las respuestas tóxicas en ratas y ratones expuestos a la inhalación de  $V_2O_5$  por dos años, mostró que la exposición crónica a  $V_2O_5$  provocó el desarrollo de adenomas alveolo-bronquiales y carcinomas alveolo-bronquiales en los pulmones de ratas macho y ratones machos y hembras; además indujo lesiones inflamatorias en ambas especies.

El  $V_2O_5$  propició una respuesta neoplásica, la cual fue más evidente en ratones que en ratas. En los ratones (hembras y machos), la incidencia de adenomas alveolo-bronquiales, carcinomas y adenocarcinomas, fue mayor que en las ratas, por lo que este estudio muestra el efecto carcinogénico del vanadio, aunque la evidencia que apoya esto es aun limitada. Debido a lo anterior, es importante explorar el efecto de la administración de  $V_2O_5$  en un modelo de carcinogénesis ya establecido, como se hizo en los estudios que muestran el efecto antineoplásico y que nos permita analizar la acción que este compuesto pueda tener.

### **2.3 CÁNCER PULMONAR**

El cáncer pulmonar es una de las causas más frecuentes de muerte a nivel mundial (Meuwissen y Berns, 2005; Shaw et al, 2005). Antes del siglo XX, el cáncer pulmonar era una entidad patológica muy rara. A partir de 1930, su frecuencia ha aumentado (Medina-Morales y Salazar-Flores, 2000).

En el año 2007 se registraron aproximadamente 7.9 millones de muertes (alrededor del 13% de todas las muertes en el mundo), asociadas a algún tipo de cáncer, siendo los más comunes el pulmonar, de hígado, de colon y de mama. De los 7.9 millones de muertes registradas por cáncer, 1.4 millones se debieron a cáncer

pulmonar (WHO, 2008). Se estima que para el año 2025 se incrementará el número de muertes por cáncer pulmonar en más de 80%, es decir, a 3.5 millones en países en desarrollo (Medina-Morales y Salazar-Flores, 2000).

En México, de acuerdo con datos mostrados por el INEGI (2007), en los varones, las tres principales causas de muerte por tumores malignos en el año corresponden a los de: tráquea, bronquios y pulmón (15.6% de los fallecimientos), próstata (15.5%) y finalmente estómago (9.1por ciento). Por otro lado, datos del Instituto Nacional de Cancerología INCan (2007) muestran que en efecto, el cáncer pulmonar fue el tipo más frecuente de cáncer en hombres, y el cuarto tipo de cáncer en mujeres, después del cáncer de mama, cérvico-uterino y de colon.

La causa predominante de muerte por cáncer pulmonar a nivel mundial es el tabaquismo (Samet, 2004). Sin embargo, en las últimas décadas, se ha registrado una asociación entre la contaminación ambiental y el cáncer pulmonar (Katsouyanni y Pershagen, 1997; ACS, 2002; Pope III et al., 2002; Samet 2004; Nikiæ y Stankoviæ, 2005).

La Sociedad Americana del Cáncer mostró en un estudio, la relación que existe entre la contaminación del aire de la zona metropolitana de varias regiones de los Estados Unidos de Norteamérica, con las muertes por cáncer de pulmón. El estudio muestra que la exposición crónica a partículas finas es un factor de riesgo ambiental importante relacionado con esta causa de muerte (Nikiæ y Stankoviæ, 2005).

En cuanto a los tipos de cáncer pulmonar existen dos categorías de cáncer clínicamente importantes considerando el origen de las células cancerosas:

1) Cáncer pulmonar de células pequeñas. Representa, aproximadamente el 25% de los cánceres pulmonares y es un cáncer muy agresivo; su clasificación se remite sólo a avanzados o localizados, dependiendo de si se localiza metástasis o no (Alva et al., 2003).

2) Cáncer pulmonar de células no pequeñas. Constituye aproximadamente el 75% de los tipos de cáncer pulmonar y se divide en tres subtipos mayores: cáncer epidermoide, adenocarcinoma y el carcinoma de células grandes (Alva et al., 2003). En México, la variedad histológica predominante es el adenocarcinoma pulmonar que ocupa el primer lugar en frecuencia epidemiológica y surge de células mucoproducidas (Mayoral et al., 2004).

Dado que el cáncer es una causa de muerte frecuente, el entender los mecanismos implicados en el proceso de carcinogénesis es de gran importancia, y se han establecido distintos modelos para su estudio.

### **2.3.1 MODELOS DE CÁNCER PULMONAR**

Los modelos animales que se utilizan para producir distintos tipos de cáncer, proveen herramientas importantes en el entendimiento del mecanismo de carcinogénesis, en un periodo corto.

En cuanto a los modelos de cáncer pulmonar, se sabe que los tumores que se producen en ratones son similares en morfología, histopatología y características moleculares a los adenocarcinomas humanos (Meuwissen y Berns, 2005). Por esto, los modelos hechos en estos animales son básicos para entender la biología de los tumores pulmonares, además de permitir establecer estrategias para un diagnóstico oportuno (Sills et al., 2001; Meuwissen y Berns, 2005; Shaw et al., 2005).

Existen una gran cantidad de modelos murinos de cáncer pulmonar que han sido descritos, entre ellos Meuwissen y Berns citan los siguientes:

- ▀ Modelos de inducción de tumores con carcinógenos.
- ▀ Modelos de ratones transgénicos y knock-out en los que se introduce una lesión genética, que llevará al desarrollo de los tumores.
- ▀ Aparición espontánea de tumores en cepas susceptibles.

Dentro de los modelos de inducción de tumores por la acción de sustancias carcinogénicas se encuentra el Modelo de Adenomas Pulmonares inducidos por Uretano. Este es uno de los mejores establecidos y promueve específicamente tumores pulmonares, derivados de neumocitos tipo II en roedores (Mason et al., 2000). Los resultados de este modelo son fácilmente reproducibles y es un modelo muy accesible, ya que requiere una sola dosis para desarrollar los tumores.

### **2.3.2 MODELO DE ADENOMAS PULMONARES INDUCIDOS POR URETANO**

El modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano es el modelo de cáncer pulmonar más utilizado. En éste se utiliza el uretano, un compuesto carcinogénico para producir los adenomas (Sotomayor y Washington 1996; Fernando, 1996; Mason et al., 2000).

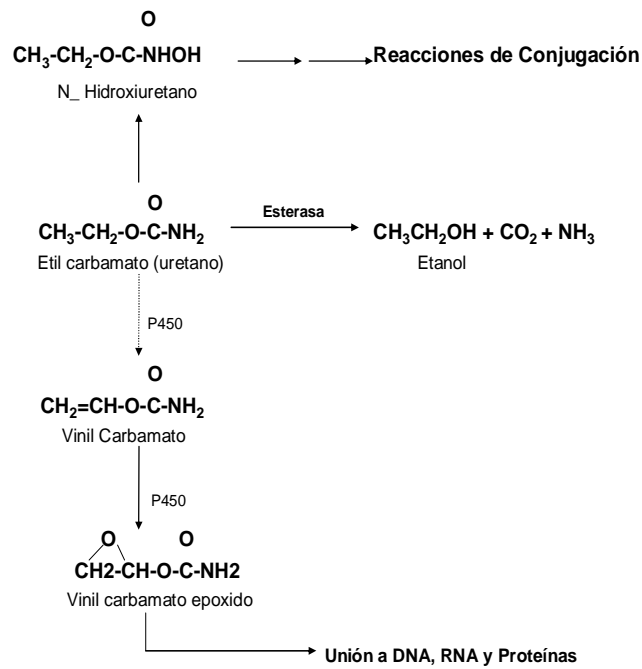
El etil-carbamato, o uretano, es un éster alifático, sólido a temperatura ambiente. Es utilizado como solvente en la manufacturación de productos tales como pesticidas, fumigantes, productos cosméticos, y como agente de lavado (IARC, 1974).

La activación metabólica de este compuesto es necesaria para el desarrollo de tumores inducidos por uretano. Este compuesto está bien caracterizado como un carcinógeno en animales, tales como ratones, ratas y hámster; por otro lado, se ha clasificado como un posible carcinógeno en humanos (IARC 1974).

La distribución del uretano a los tejidos, una vez que se absorbe, es rápida. Su metabolismo ocurre primero en el hígado. En la figura 3 se muestran las vías del metabolismo del uretano. La primera vía del metabolismo del uretano involucra esterasas, lo que lleva a la formación de  $\text{CO}_2$ , etanol y  $\text{NH}_3$ . La mayor parte del uretano es excretado como dióxido de carbono y otra pequeña cantidad es excretada en la orina. La segunda vía del metabolismo, y la menos común de este compuesto involucra el metabolismo oxidativo del uretano, por el citocromo P450, particularmente la enzima CYP2E1, lo que lleva a la formación de vinil carbamato. Posteriormente el vinil carbamato se oxida, produciendo vinil carbamato epoxido. Este último compuesto es el que se une a moléculas tales como DNA, RNA y proteínas, para producir aductos (Guengerich y Kim, 1991).

El metabolito epoxi vinil carbamato, es un compuesto que presenta una alta afinidad por el DNA y es capaz de formar distintas clases de aductos, que son enlaces que se producen por la unión de dos moléculas mediante una unión covalente, entre los que se encuentran el 1,N6-etenoadenosina y el 3,N4-etenoцитidina (Sotomayor y Washington 1996; Ghanayem 2007).





**Figura 2.** Modificado de Hoffler, U. *et al*, 2003. Una vez que el uretano entra en el organismo, este es metabolizado por dos vías. La segunda en la que participa el citocromo P450 es la responsable de la activación metabólica del compuesto a Epoxi Vinil Carbamato. Este metabolito tiene la capacidad de interactuar con DNA, RNA y proteínas para formar aductos.

Dada la importancia del cáncer pulmonar a nivel mundial, estudiaremos los cambios que se producen en el pulmón, posteriores a la administración de uretano y a la inhalación de  $\text{V}_2\text{O}_5$ .

## 2.4. HISTOLOGÍA DEL PULMÓN

El sistema respiratorio constituye la principal vía de exposición a los contaminantes de la atmósfera. Diariamente, respiramos aproximadamente 10, 000 litros de aire, que contiene gases y partículas que pueden dañar el sistema respiratorio a través de distintos mecanismos (Samet, 2003).

Es importante conocer la histología normal del pulmón, para una posterior comparación. Por ello, se hace una breve descripción de la misma.

### **2.4.1 BRONQUIO**

La tráquea se divide en dos ramas que forman los bronquios principales (primarios). Una vez que se introducen en el pulmón, estos bronquios principales se dividen en bronquios lobares (secundarios). Debido a que cada pulmón tiene diferente número de lóbulos, los bronquios se dividen en un número de ramas diferentes. El bronquio derecho se divide en tres ramas, una para cada uno de los tres lóbulos del pulmón derecho; el izquierdo se divide en dos ramas, una para cada lóbulo del pulmón izquierdo. Los bronquios lobares se dividen posteriormente en bronquios segmentarios o terciarios (Ross et al., 2004).

La estructura de los bronquios extrapulmonares es similar a la de la traquea. La mucosa, compuesta por epitelio pseudoestratificado ciliado con células mucoproducidas (Epitelio Respiratorio) y una lámina propia con fibras elásticas; una submucosa compuesta por tejido conectivo denso; una capa cartilaginosa compuesta por anillos de cartílago en forma de "C", y finalmente una adventicia de tejido conectivo (Gartner y Hiatt, 2008).

Una vez que los bronquios se introducen en el pulmón, su estructura histológica se modifica. Los anillos de cartílago se reemplazan por placas que se distribuyen alrededor de la circunferencia de la pared bronquiolar. Conforme los bronquios siguen ramificándose y disminuyendo de tamaño, las placas de cartílago se reducen, hasta desaparecer en los bronquiolos (Ross et al., 2004).

En cuanto al músculo, en los bronquios intrapulmonares este forma una verdadera capa muscular, alrededor de su circunferencia. El epitelio de los bronquios intrapulmonares es respiratorio, y la submucosa presenta glándulas.

### **2.4.2 BRONQUIOLOS**

La subdivisión de los bronquios segmentarios origina a los bronquiolos que miden 1mm o menos. Estos bronquiolos se llaman terminales, que al ramificarse dan origen a los bronquiolos respiratorios. Al conjunto de un bronquiolo terminal con los bronquiolos respiratorios y alvéolos que reciben aire de él se les llama acino pulmonar (Ross et al., 2004).

En la figura 3 se muestra un corte de pulmón, en el que se observa un bronquiolo terminal. Los bronquiolos de mayor tamaño poseen un epitelio

respiratorio. Este se transforma, de forma gradual, en un epitelio cilíndrico ciliado simple, que al llegar al bronquiolo terminal es cúbico ciliado simple. Las células caliciformes desaparecen en los bronquiolos terminales. La pared de los bronquiolos posee también una capa de músculo liso.

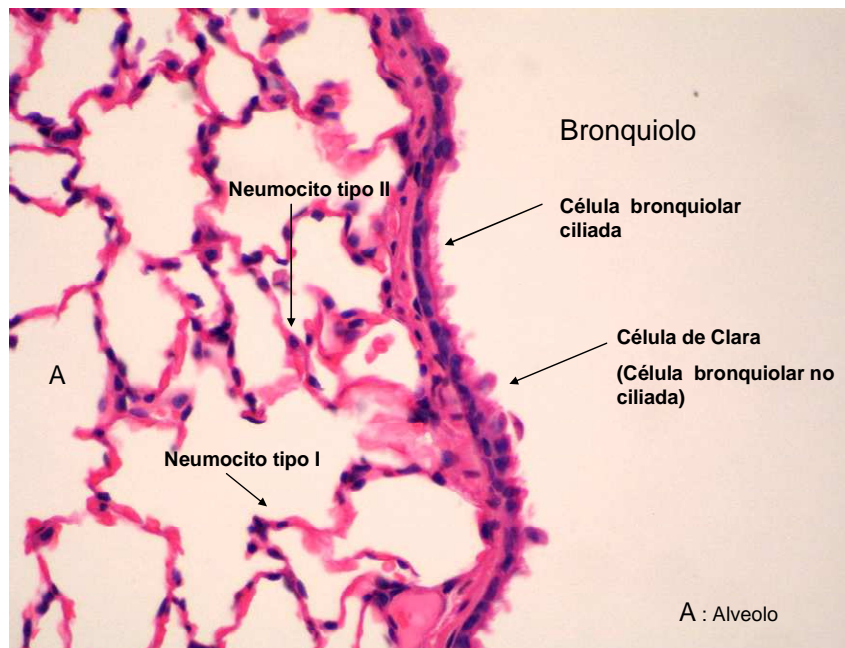
Al epitelio de los bronquiolos terminales se incorpora un nuevo tipo celular, correspondiente a la célula de Clara. Estas se encuentran entre las células ciliadas de los bronquiolos y poseen una prominencia en la superficie apical. Su función es la secreción de un agente tenso-activo que impide la adhesión luminal; además secreta una proteína (proteína de célula de Clara) que es un componente de la secreción de la vía aérea (Gartner y Hiatt, 2008).

Las paredes de los bronquiolos se ven interrumpidas por alvéolos, que están en toda su longitud, hasta que estos sustituyen completamente la pared del bronquiolo. En los alvéolos ocurre el intercambio gaseoso entre el aire y la sangre (Fortoul et al., 2008).

### **2.4.3 ALVÉOLOS**

El epitelio alveolar está constituido por varios tipos celulares: los neumocitos tipo I, neumocitos tipo II, como se observa en la figura 3.

Los neumocitos tipo I, o células alveolares tipo I, son células planas, que revisten la mayor parte de la superficie de los alvéolos. Estas células forman parte de la barrera hemato-gaseosa, junto con el endotelio de los capilares, a través de la cual se da el intercambio gaseoso. Los neumocitos tipo II, o células alveolares tipo II, son células secretoras. Su citoplasma posee unos cuerpos llamados cuerpos laminares, ricos en una mezcla de lípidos y proteínas, que son secretadas al espacio alveolar y funcionan como agente tensoactivo, conocido como surfactante. Por otro lado, las células en cepillo funcionan como receptores que verifican la calidad del aire que entra a los pulmones (Ross et al., 2004).



**Figura 3.** Histología normal del pulmón. Los alvéolos se constituyen de neumocitos tipo I (epitelio plano) y neumocitos tipo II (células cúbicas). Hacia la derecha se observa la luz del bronquíolo, con los dos tipos celulares que lo distinguen: la célula de Clara y la célula bronquiolar ciliada.

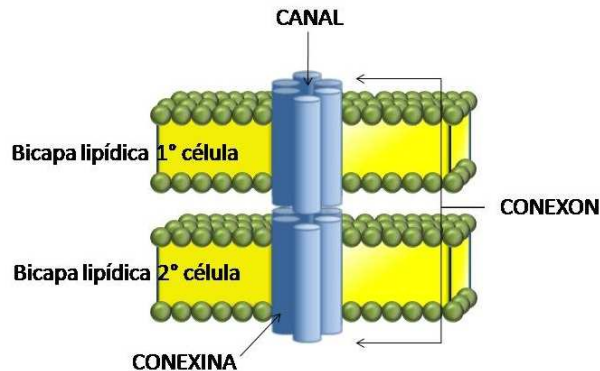
Para que el pulmón lleve a cabo las funciones descritas anteriormente, requiere, como en todos los tejidos, la comunicación directa entre las células del epitelio, lo que permite el funcionamiento adecuado del órgano y la integración de las funciones en el mismo (Kumar y Gilula, 1996). Esta comunicación entre las células permite una actividad celular coordinada, que es un factor importante en el mantenimiento de la homeostasis en los organismos. En un sistema se requiere que las células “revisen” el estado funcional de sus vecinas a través del intercambio de moléculas que propicia la existencia de un equilibrio en los sistemas (Bruzzone et al.1996).

## **2.5 UNIONES GAP Y CARCINOGENESIS**

### **2.5.1 GENERALIDADES**

Las uniones Gap, también conocidas como uniones de hendidura o nexos, son de vital importancia en el mantenimiento de la homeostasis en todos los tejidos y el crecimiento celular (Loewenstein 1979; Chipman, 2003). Estas comunican el citoplasma de células vecinas a través de canales, permitiendo el intercambio de iones y metabolitos (Yamasaki, 1990; Koval, 2002; Leithe y Rivedal, 2004).

La estructura de estas uniones consiste en dos hemiconexones complementarios, uno por cada célula. Cada hemiconexón es un hexámero de conexinas (Cxs) que se organizan alrededor de un eje, formando un canal que se continúa con el hemiconexon de la célula vecina (Figura 4).



Falcon-Rodriguez CI, 2008.

**Figura 4.** Estructura de las uniones tipo Gap en las células. Cada hemiconexón se constituye por 6 subunidades de conexinas, que atraviesan la membrana plasmática.

Cada subunidad de conexina se pliega atravesando la membrana plasmática formando una especie de "M". Los extremos amino terminal y carboxilo terminal se encuentran hacia el citoplasma y poseen regiones con secuencias específicas que pueden ser fosforiladas por cinasas de tirosina, cinasas dependientes de AMPc y cinasa C (Bruzzone et al., 1996).

Las distintas Cxs varían en la secuencia de aminoácidos que se encuentran en los dominios citoplásmicos, tanto en los extremos amino y carboxilo terminal, como en el bucle citoplásmico (Martin et al., 2001). Estas proteínas pueden organizarse para formar hemiconexones homoméricos o heteroméricos; los primeros están constituidos por seis subunidades de la misma conexina, mientras que los heteroméricos por seis subunidades de conexinas distintas.

En general, la mayoría de las células expresan más de una isoforma de Cx y ensamblan canales homoméricos y heteroméricos. En mamíferos se conocen aproximadamente dos docenas de Cxs, que se expresan de manera diferencial, dependiendo de la célula (Koval, 2002).

La regulación de la síntesis, estabilidad y ensamblaje de estas proteínas puede ser a varios niveles en la célula: nivel transcripcional, de la estabilidad del

mRNA, nivel traduccional, post-traduccional, e incluso, a nivel de la alineación del canal y la apertura-cierre de los canales maduros (Yamasaki, 1990; Chipman et al., 2003).

Los conexones que comunican el citoplasma de las células vecinas, permiten el paso de moléculas cuyo peso molecular es menor a 1000 Daltones (Da). Estas incluyen aniones, cationes, AMPc, inositol trifosfato y calcio (Omori y Yamasaki, 1999; Chipman et al., 2003).

La conexina más abundante en los tejidos humanos es la conexina 43 (Cx43) y está presente en corazón, músculo, pulmón, y otros tejidos (Beyer et al., 1989). En el epitelio alveolar se expresan distintas conexinas tales como: las Cxs 26, 32, 37, 40, y la 43.

### **2.5.2 RELACIÓN DE LAS UNIONES GAP CON LA CARCINOGENÉISIS**

La importancia de las uniones GAP en el mantenimiento de la comunicación celular es tan trascendente, que se ha propuesto que la modulación de estas puede estar involucrada en el proceso de carcinogénesis (Yamasaki, 1991; Chipman et al, 2003, Vine y Bertram, 2002). Existe además evidencia de que la disrupción de las uniones tipo GAP es un paso importante en el proceso de malignización (Yamasaki, 1996).

Las células transformadas y muchos tipos de tumores se caracterizan por la reducción de las uniones Gap, lo cual incluye la localización aberrante o disminución de Cxs, además de conexones no funcionales (Yamasaki, 1990; Loewenstein y Rose, 1992; Trosko y Ruch, 1998).

Numerosos estudios han demostrado que la transfección de Cxs en células tumorales con una comunicación deficiente, puede restaurar el control de crecimiento *in vitro* e *in vivo* (Chen et al., 1995; Eghbali et al., 1991; Mehta et al., 1999; Omori y Yamasaki 1999; Yano et al., 2001).

Un ejemplo de una Cx que ha sido identificada como una proteína supresora de tumores que inhibe el crecimiento del tumor es la Cx 43 (Beyer et al., 1989; Zhang et al., 1998; Goldberg, 2000). La deficiencia de esta proteína se ha relacionado con el desarrollo de adenomas. Estudios muestran que muchos tumores humanos,

incluyendo el cáncer de pulmón, poseen una expresión deficiente en el mRNA de Cx43, y de la misma proteína (Chen et al., 2003).

Temme y cols (1997) reportan que la falta de Cx32 incrementa la susceptibilidad al desarrollo de tumores hepáticos espontáneos y químicamente inducidos. Otros estudios muestran los mismos efectos de susceptibilidad a desarrollar adenomas pulmonares inducidos con uretano, cuando existe una deficiencia de Cx43. El mismo grupo indica que en adenomas inducidos con este carcinógeno, hay una disminución en la expresión de las conexinas 26, 32 y 46 (Avanzo et al., 2004, 2006).

El mecanismo por el cual la deficiencia de estas uniones se relaciona con el desarrollo de un proceso carcinogénico no está bien establecido, sin embargo se han propuesto algunos mecanismos para explicar esta relación.

Estudios *in vitro* evidencian que ciertos agentes promotores de tumores tales como el 12 O-tetradecanoilforbol 13-acetato, pueden bloquear este tipo de comunicación (Leithe y Rivedal, 2004).

Algunos experimentos sugieren que el mantenimiento de estas uniones se relaciona con la expresión de algunos oncogenes como *v-myc* y *v-fos* (Bignami et al., 1988). Otros reportes muestran una relación entre el gen *src* y este tipo de uniones.

Se ha reportado, por ejemplo, que la Cx 43 puede ser fosforilada por la cinasa v-Src, que es producto de la expresión de un oncogen; se ha probado que la fosforilación de esta Cx por medio de esta cinasa trae como consecuencia la inhibición de la comunicación intercelular por medio de uniones nexo (Atkinson, 1981; Swenson et al., 1990; Loo et al., 1999; Yamasaki et al., 1999; Warn-Cramer y Lau, 2004).

Por otro lado, se ha encontrado que el silenciamiento de los genes de las Cxs es un mecanismo importante que está implicado en la disminución de este tipo de comunicación. Se reporta que la metilación del promotor del gen de la Cx26, lleva a una disminución en la expresión de las proteínas que forman las uniones Gap, en tumores de cáncer de mama (Tan et al., 2002).

Los datos sobre la incidencia de cáncer pulmonar en México y su relación con las partículas suspendidas y el vanadio, son importantes para iniciar un estudio en el

que exploremos los efectos de este metal en el proceso de carcinogénesis en un modelo establecido.



### **3. JUSTIFICACIÓN**

Se ha registrado aumento en el número de casos de cáncer pulmonar en las ciudades en las que la contaminación atmosférica es un problema. La contaminación ambiental en la Ciudad de México se ha incrementado, así como, la concentración de vanadio en las partículas contaminantes que se inhalan. La inhalación de pentóxido de vanadio, se ha relacionado con el desarrollo de un proceso carcinogénico en el pulmón de roedores, por lo que resulta de interés estudiar el efecto que este metal tiene en el modelo de adenomas por uretano en el pulmón de ratón, como una manera de entender su relación.

#### **4. HIPÓTESIS**

El pentóxido de vanadio es capaz de desencadenar un proceso neoplásico, que de manera conjunta con el uretano, incrementa la frecuencia y tamaño de los adenomas desarrollados en el pulmón, actuando sobre las conexinas del epitelio pulmonar.

## **5. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- ▮ Evaluar los cambios morfológicos e inmunohistoquímicos que la inhalación de pentóxido vanadio tiene en el desarrollo de adenomas en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Identificar la influencia de la inhalación de pentóxido de vanadio en los cambios en el tamaño y frecuencia de los adenomas producidos por uretano.
- Identificar los patrones de presencia de Cx32 y Cx43, por Inmunohistoquímica en el modelo de uretano y sus modificaciones por la inhalación de pentóxido de vanadio.

## **6. MÉTODO**

Se utilizaron 80 ratones CD1 machos, de aproximadamente 30 gramos de peso, los cuales se repartieron en diferentes grupos de acuerdo a los tratamientos y los tiempos de aplicación de los mismos. La figura 5 resume el método utilizado en este estudio, que se describe con más detalle a continuación.

El primer grupo de 40 animales se sacrificó a las 8 semanas, después de haber recibido los tratamientos siguientes:

- ❖ Grupo Control. 10 animales que inhalan el vehículo (solución salina).
- ❖ Grupo Uretano. 10 animales inyectados con una sola dosis de uretano (1mg/g de peso del animal, disuelto en solución salina al 0.9%).
- ❖ Grupo Uretano/  $V_2O_5$ . 20 animales inyectados con uretano y sometidos a inhalación  $V_2O_5$  0.02 M durante 8 semanas (1 hr/2 veces por semana).

El segundo grupo de 40 animales se sacrificó a las 13 semanas después de haber recibido los tratamientos siguientes:

- ❖ Grupo Control. 10 animales que inhalan el vehículo (solución salina).
- ❖ Grupo Uretano. 10 animales inyectados con una sola dosis de uretano (1mg/g de peso del animal disuelto en solución salina al 0.9%).
- ❖ Grupo Uretano/  $V_2O_5$ . 20 animales inyectados con uretano y sometidos a inhalación  $V_2O_5$  0.02 M durante 13 semanas (1 hr/2 veces por semana).

Los tiempos de inhalación se eligieron por conveniencia. A las 8 semanas, en el modelo uretano se observan adenomas bien desarrollados, que continúan proliferando, por lo que también se sacrificaron ratones a las 13 semanas. Una vez concluidos los tratamientos, los ratones se sacrificaron aplicándoles una dosis de pentobarbital sódico (40 unidades). Posteriormente se perfundieron por vía intra-traqueal con solución salina al 9% y se fijaron con paraformaldehído al 40%, se extrajeron los pulmones, se incluyeron para ser procesados por la técnica histológica habitual.

Una vez realizados los cortes, se tiñeron Masson. Los cortes teñidos se observaron con el microscopio óptico de campo claro, se contaron los tumores de los pulmones de los ratones de cada grupo (uretano y uretano/  $V_2O_5$ ) y se midieron utilizando el programa Motic Images Plus 2.0 de morfometría para determinar el área

promedio por grupo en milímetros cuadrados. Posteriormente se realizaron pruebas de t para determinar si la diferencia en el número promedio de adenomas y área promedio de los mismos, entre los grupos uretano y uretano/  $V_2O_5$  fue significativa.

Por otro lado, se realizó inmunohistoquímica para marcar Conexina 32 y Conexina 43. Para realizar la inmunohistoquímica, se siguió el protocolo estandarizado descrito en la figura 6. Finalmente las muestras se analizaron por densitometría utilizando el programa Image Pro Plus 6.0 y se realizaron pruebas de t para comparar las diferencias en la densidad promedio de las conexinas entre los grupos uretano y uretano/  $V_2O_5$ , a los dos diferentes tiempos.

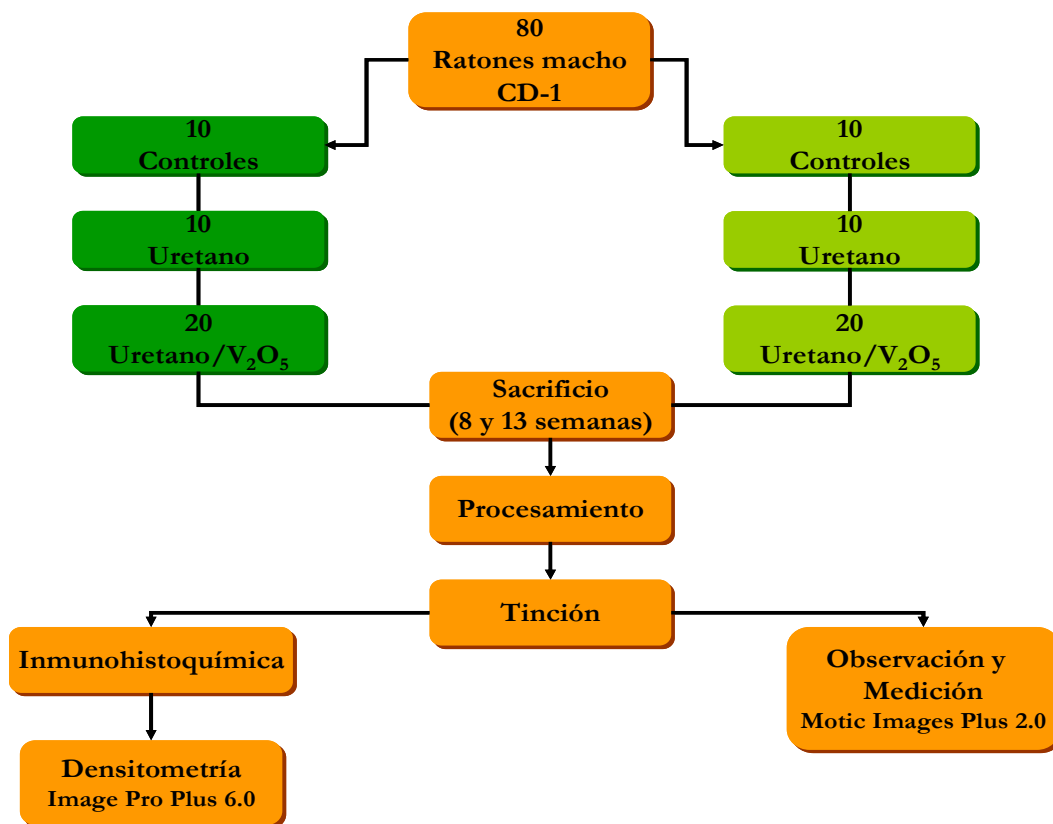


Figura 5. Resumen del Método

La descripción del método de inmunohistoquímica que se utilizó, se describe en la siguiente figura:

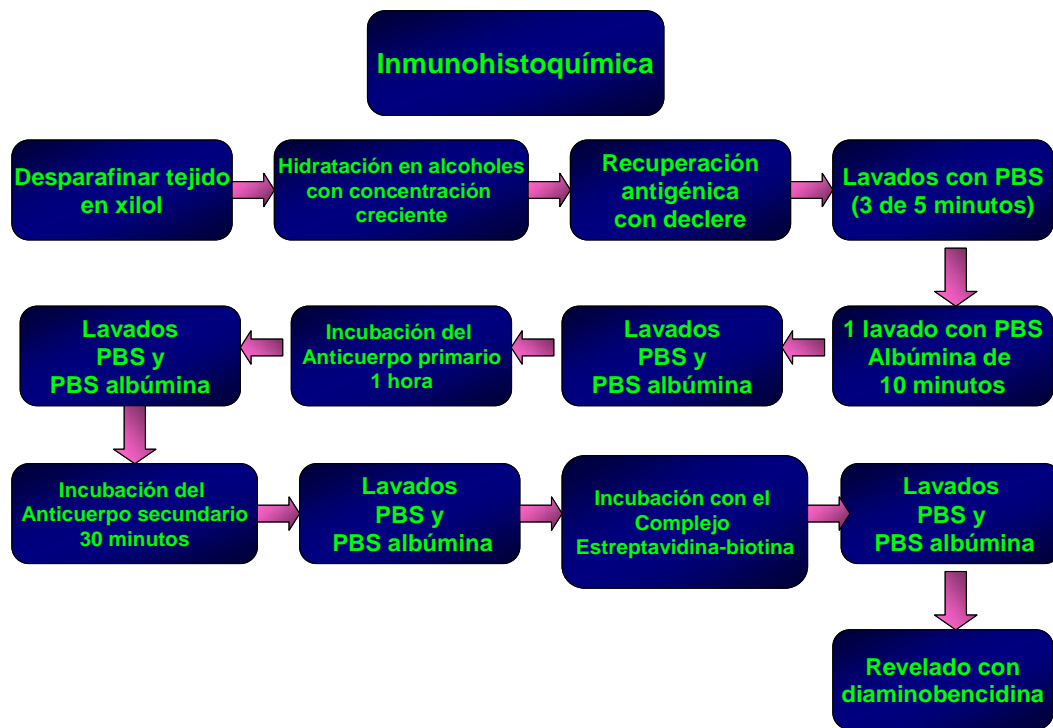


Figura 6. Método de Inmunohistoquímica

## **7. RESULTADOS**

### **7.1 CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN EL PULMÓN DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**

Al analizar los cortes de los pulmones, se observó el desarrollo de adenomas. A las 8 semanas de haber inyectado la dosis de uretano, en el modelo de adenomas pulmonares, se observan tumores bien desarrollados que continúan proliferando con el tiempo.

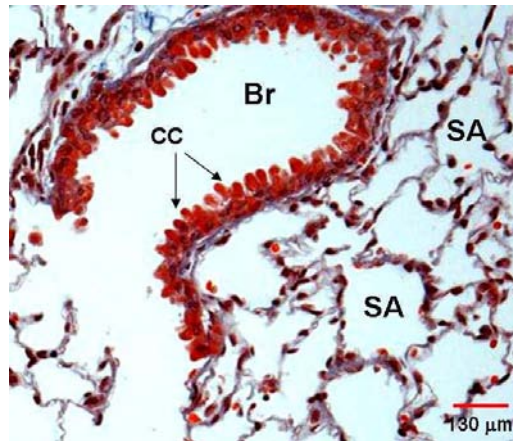
En el control se observaron los bronquiolos con células de Clara intactas, secretando sustancia surfactante y los sacos alveolares (Fig. 7A). Una vez que se administró el uretano, se observó el desarrollo de adenomas pulmonares, más grandes (Fig. 7B), en comparación con los del grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 7C). Además se presentaron en mayor número en el grupo uretano (Fig. 7D) que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 7E).

Al realizar la prueba de t, se comprobó que el área promedio ocupada por los adenomas en el grupo uretano, en el mismo tiempo, fue significativamente mayor ( $p \leq 0.05$ ) que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. La proporción en el área ocupada es de aproximadamente 3:1 entre los grupos uretano y uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> respectivamente (Fig. 9A). Por otro lado, el número promedio de adenomas, a las 8 semanas, para el grupo uretano fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. La proporción en el número promedio de adenomas fue de aproximadamente 3:1 entre los grupos uretano y uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> respectivamente (Fig. 10A).

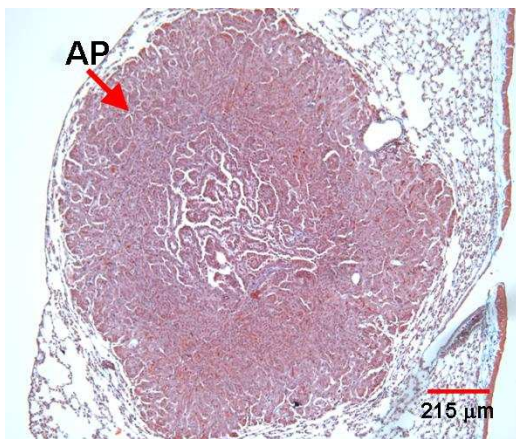
A las 13 semanas de exposición se observó el control normal sin adenomas con las mismas características que las descritas a las 8 semanas (Fig. 8A). Al administrar el uretano, se desarrollaron los adenomas pulmonares más grandes en el grupo uretano (Fig. 8B) que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 8C). Por otra parte, en el grupo uretano se desarrollaron adenomas en mayor número (Fig. 8D), que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

La prueba de t nos muestra que el área promedio ocupada por los adenomas en el grupo uretano fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 9B). La proporción en el área ocupada se mantuvo en 3:1 entre uretano y uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, respectivamente. Por otra parte, el número promedio de adenomas en el grupo uretano, a las 13 semanas, fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 10B). La proporción en el número promedio de adenomas fue de aproximadamente 3:1, entre uretano y uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, respectivamente.

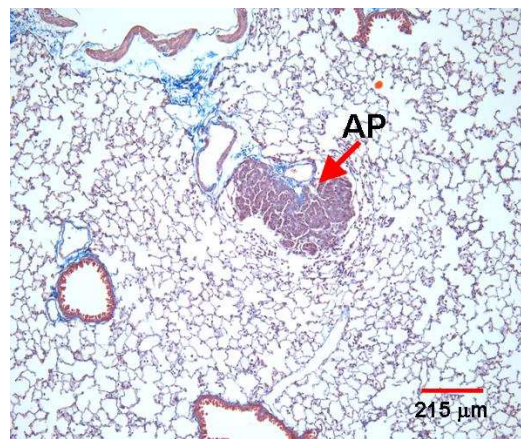
**CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN EL PULMÓN DE RATONES TRATADOS CON  
URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>  
8 SEMANAS DE TRATAMIENTO**



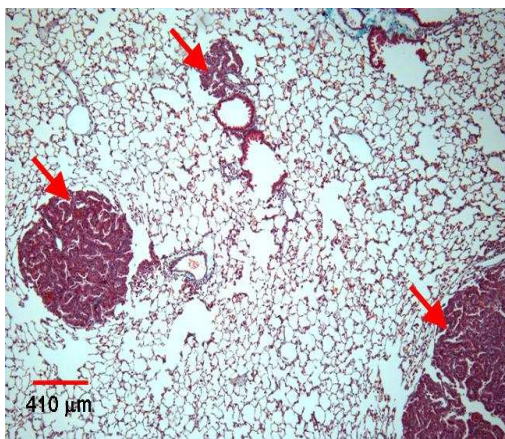
A.



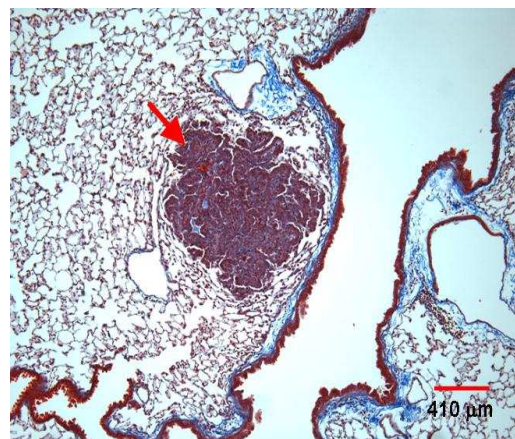
B.



C.



D.

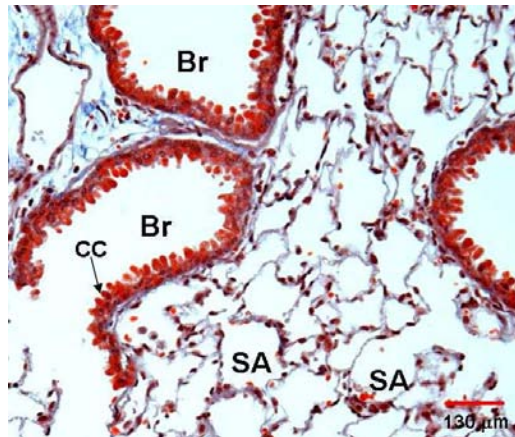


E.

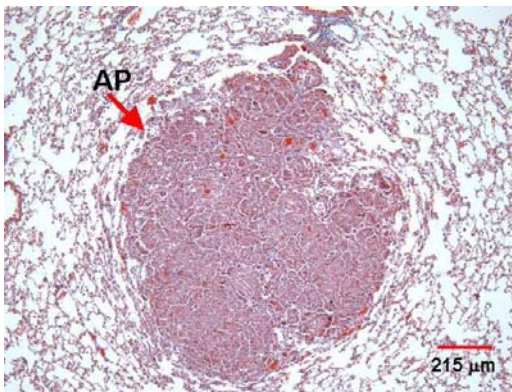
**Figura 7.** El panel A muestra un pulmón control, en el que no se ha desarrollado ningún adenoma. Se observan los sacos alveolares (S.A) con los neumocitos de tipo I y II. Los bronquiolos (Br) intactos con células de Clara y ciliadas. En el panel B se muestra el pulmón con adenomas pulmonares (AP) una vez que se administra el uretano, mientras que en el panel C muestra un pulmón del grupo Uretano / V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. En el panel D, se observa el desarrollo de adenomas en el grupo uretano, en mayor número que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (E).



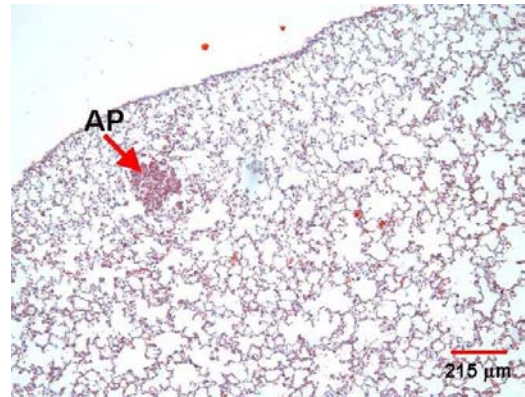
**CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN EL PULMÓN DE RATONES TRATADOS CON  
URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>  
13 SEMANAS DE TRATAMIENTO**



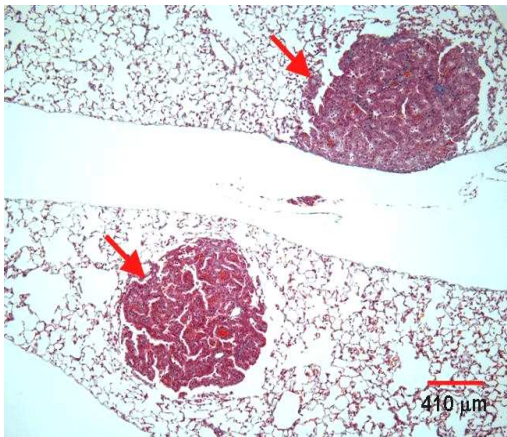
A.



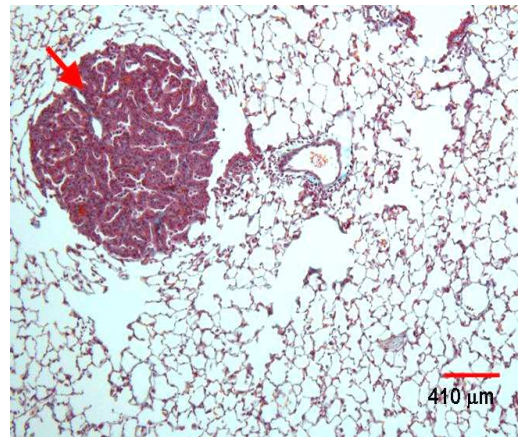
B.



C.



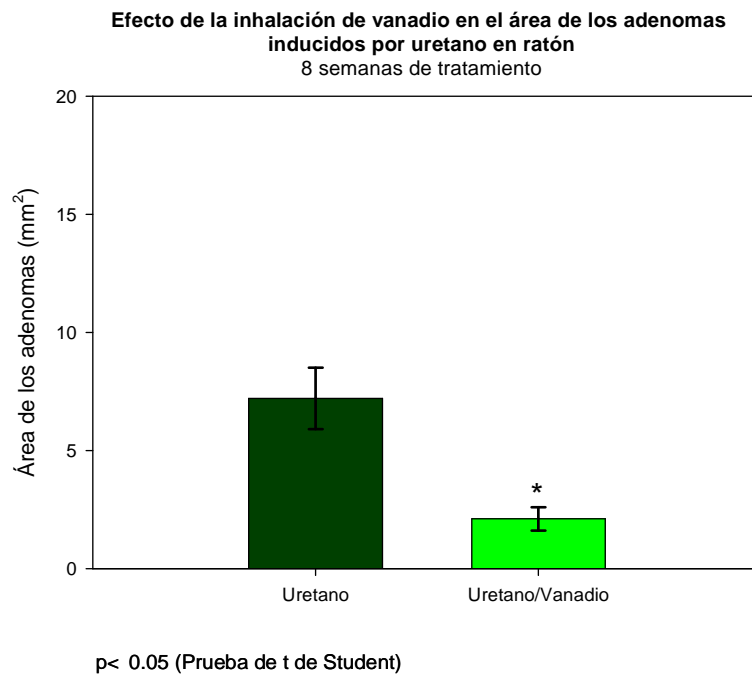
D.



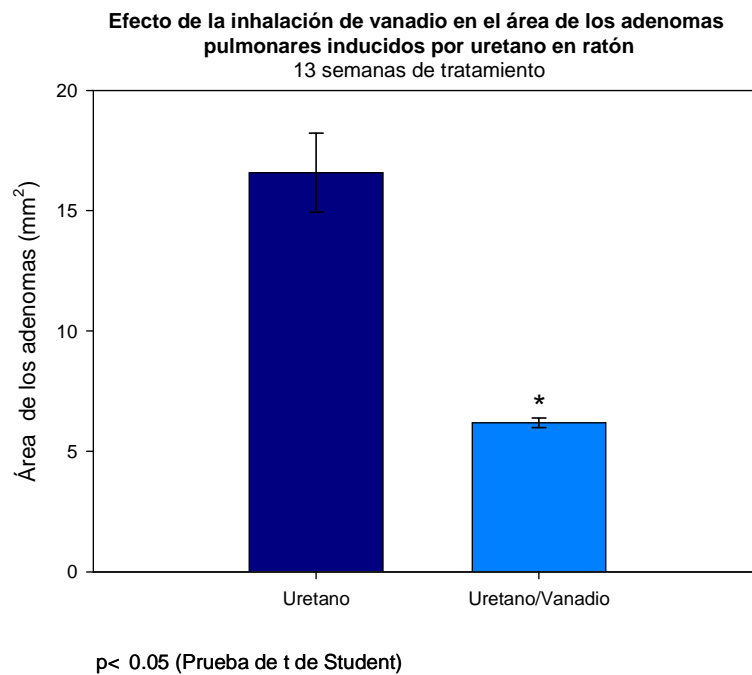
E.

**Figura 8.** El panel A muestra un pulmón control. En este se observan los sacos alveolares (S.A) y los bronquiolos (b) intactos con células de Clara y ciliadas. Una vez que se administra el uretano, se desarrollan los adenomas pulmonares (AP), de mayor tamaño (B) y mayor número (D) en el grupo uretano, que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, en donde fueron mas pequeños (C) y en menor número (E).

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ÁREA PROMEDIO OCUPADA POR LOS ADENOMAS EN PULMONES DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**



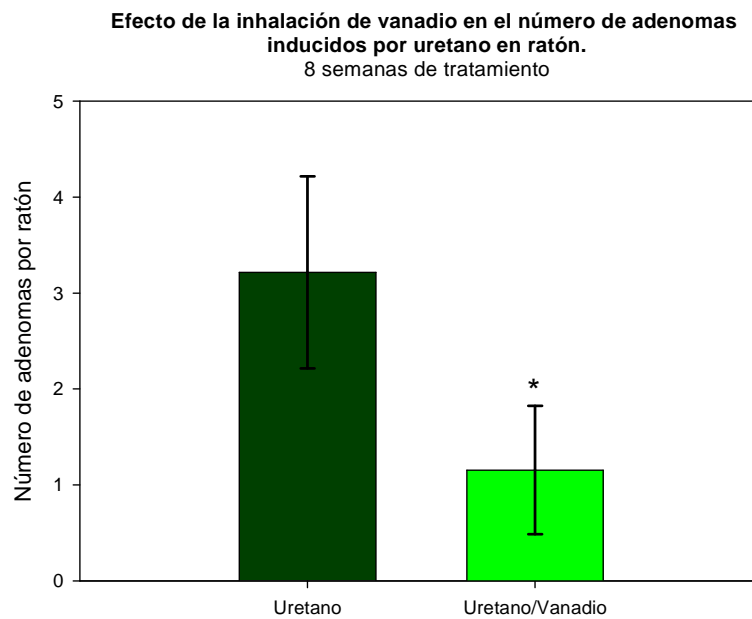
**A.**



**B.**

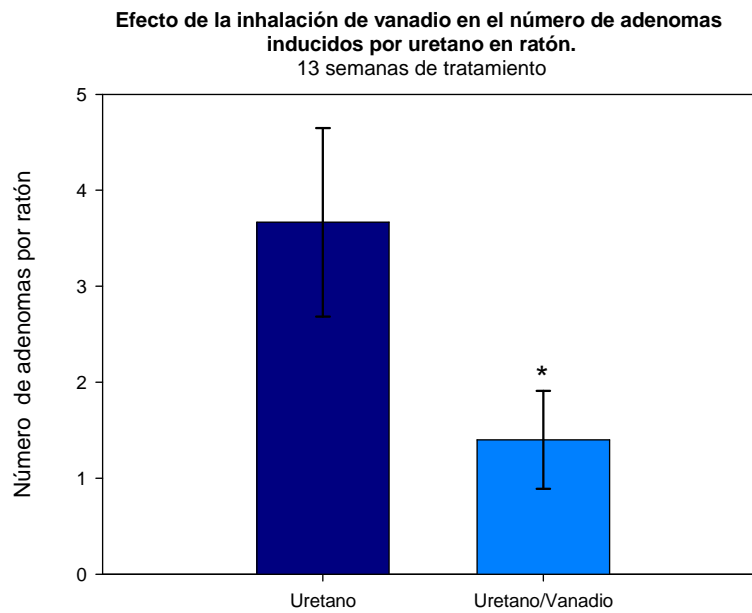
**Figura 9.** Comparación entre los dos tratamientos, en cuanto al área promedio ocupada por los adenomas, a las 8 (A) y 13 (B) semanas de tratamiento. La proporción en el área ocupada fue de aproximadamente 3:1 entre los grupos uretano y uretano/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> respectivamente, en ambos tiempos.

# ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL NÚMERO PROMEDIO DE ADENOMAS DESARROLLADOS EN PULMONES DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>



p < 0.05 (Prueba de t de Student)

**A.**



p < 0.05 (Prueba de t de Student)

**B.**

**Figura 10.** Comparación entre los dos tratamientos, en cuanto al número promedio de adenomas en los pulmones de ratón, a las 8 (A) y 13 (B) semanas de tratamiento. La proporción en el número de adenomas, en ambos tiempos, fue de aproximadamente 3:1, uretano:uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

## 7.2 CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA CX32 EN EL EPITELIO PULMONAR Y BRONQUIOLAR DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

En los animales control la Cx 32 se encontró distribuida en los neumocitos de los alvéolos y en algunas células del epitelio bronquiolar. En la célula de Clara del bronquiolo, se observó una distribución relativamente homogénea (Fig. 11A). A las 8 semanas de tratamiento, una vez que se administró el uretano, la marca se mantuvo en los neumocitos y en los adenomas (Fig. 11B). En el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 11C) la marca se ubicó en los neumocitos y en los adenomas, sin que se observara una diferencia clara en la marca de la Cx en ambos tratamientos.

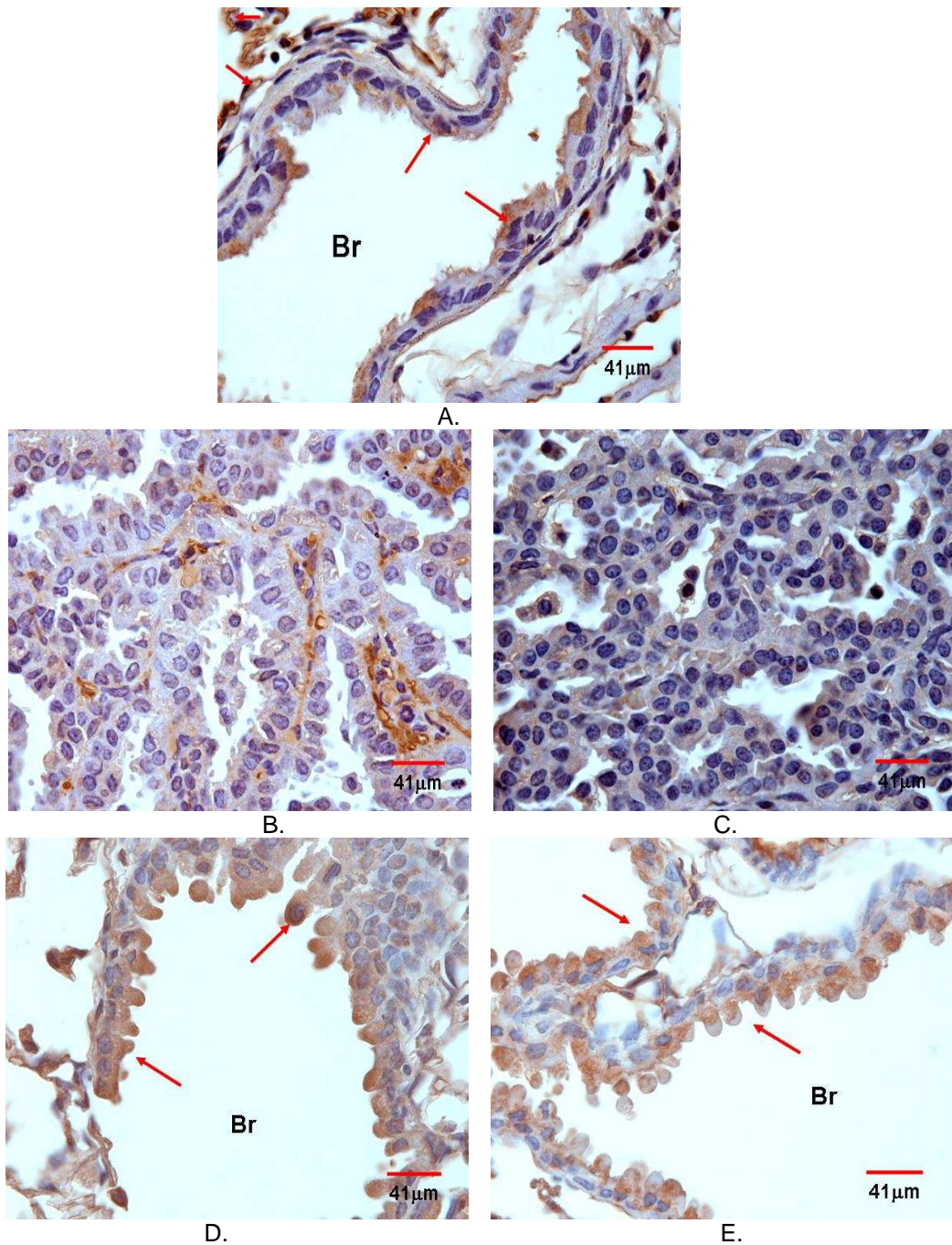
En cuanto a las células de Clara en el grupo uretano (Fig. 11D), la marca se encontró en el citoplasma, concentrándose en la región apical de la célula, mientras que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 11E) la localización se observó en la mayor parte de las células del epitelio bronquiolar, principalmente en la región basal de las células (Fig. 11A).

A las 13 semanas de tratamiento, en los animales control se observó una marca en los neumocitos de los alvéolos y las células del epitelio bronquiolar. Una vez que se administró el uretano, la marca se mantuvo en los neumocitos y en algunas células de los adenomas (Fig.12B), al igual que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig.12C). En las células de Clara en el grupo uretano (Fig. 12D), la marca se encontró de manera homogénea en el citoplasma, mientras que en el grupo uretano/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> la marca es más basal en las células (Fig. 12E).

Finalmente la prueba de t para el análisis de la densitometría de esta Cx, mostró que a las 8 semanas de tratamiento, no hubo diferencia significativa en la cantidad de Cx32 en ambos grupos (uretano y uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). A las 13 semanas de tratamiento se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la cantidad de Cx32, en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, con respecto al grupo uretano (Fig. 13).

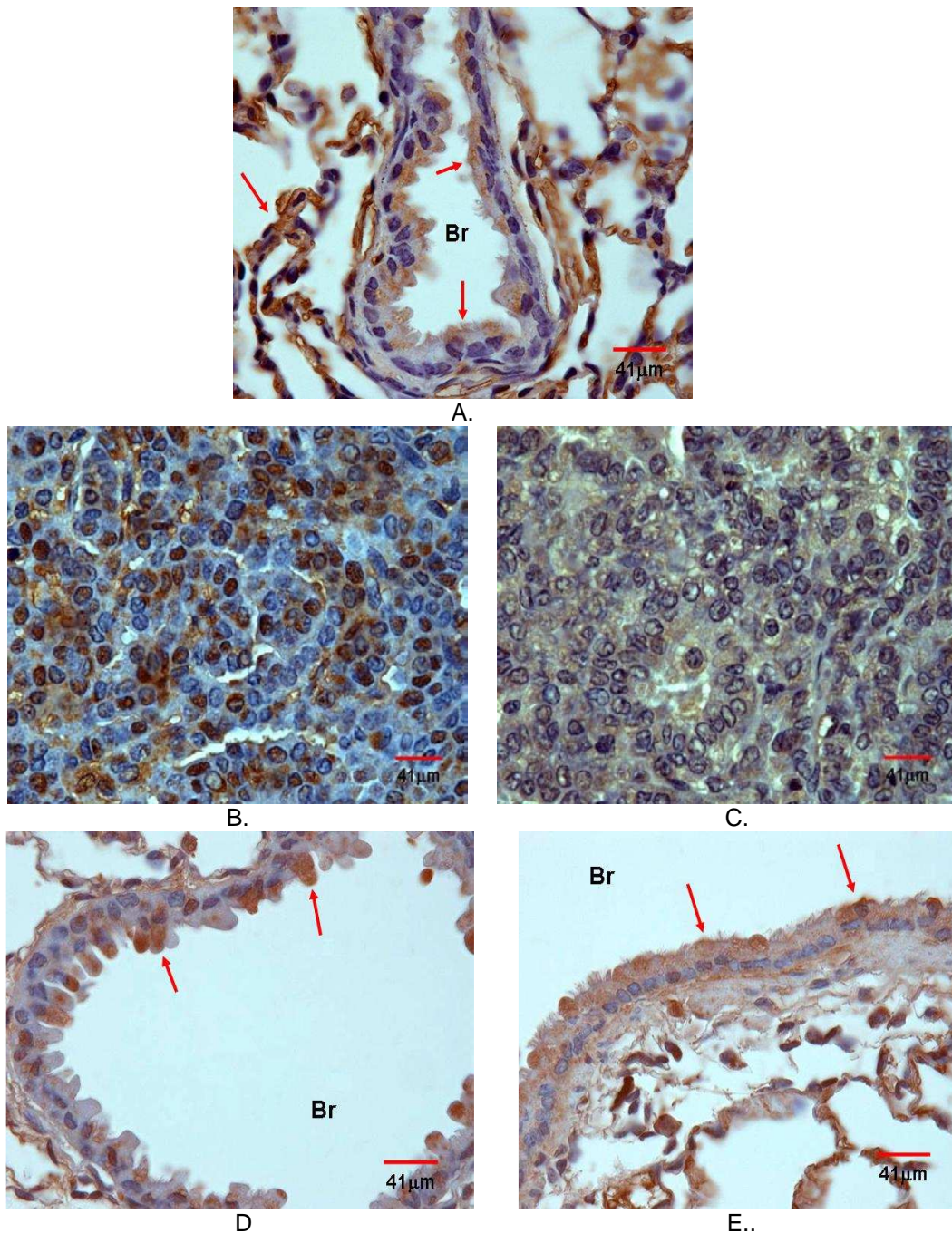


**CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA CX32 EN EL EPITELIO PULMONAR Y BRONQUIOLAR DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. 8 SEMANAS DE TRATAMIENTO**



**Figura 11.** La Cx 32 se localizó tanto en los neumocitos de los alvéolos como en las células del epitelio bronquiolar, de manera importante en las células de Clara, en donde la distribución relativamente homogénea (A). En el grupo uretano, a las 8 semanas de tratamiento, la marca se mantuvo en los neumocitos y en los adenomas (B), en poca cantidad. En el grupo uretano/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (C) la marca se ubicó en los neumocitos y en los adenomas. En la célula de Clara en el grupo uretano (D), la marca se encontró en el citoplasma, en mayor cantidad en la región apical de la célula, mientras que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (E) la localización fue parecida al control (A).

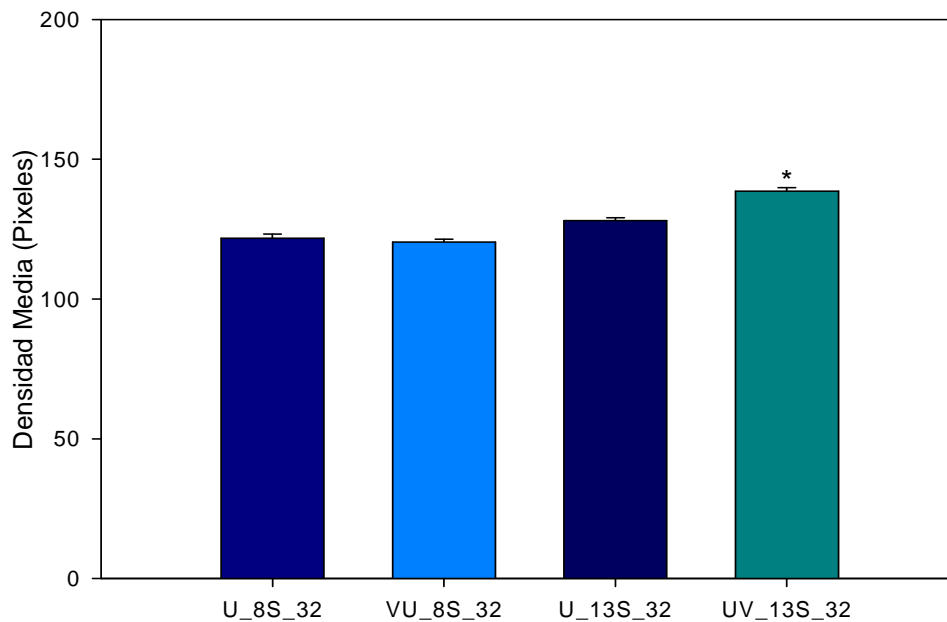
**CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA CX32 EN EL EPITELIO PULMONAR Y BRONQUIOLAR DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. 13 SEMANAS DE TRATAMIENTO**



**Figura 12.** En el control, la Cx 32, se localizó en células de alvéolos y algunas del epitelio bronquiolar; en las células de Clara, la Cx se concentró en la región apical de la membrana (A). Al administrar el uretano, a las 13 semanas de tratamiento, la marca se mantuvo en los neumocitos y en algunas células de los adenomas (B), mientras que en el grupo uretano/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> es mas homogénea (C). En el grupo uretano, la marca se presentó en algunas células bronquiolares, en la región apical de las mismas (D), mientras que en grupo uretano/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, la marca fue mas homogénea y se presentó en mayor número de células.

## ANALISIS ESTADISTICO DE LA DENSITOMETRIA PARA LA CX32

### Efecto de la inhalación de Vanadio en la Conexina 32 en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por Uretano



\* Prueba t de Student Uretano vs V-Uretano  $p < 0.001$

**Figura 13.** En esta grafica se muestran los resultados de la densitometría para la Cx32 en ambos tratamientos, a las 8 y 13 semanas de tratamientos. A las 8 semanas de tratamiento, no se observó diferencia significativa en la cantidad de Cx32 en ambos grupos. A las 13 semanas de tratamiento se observó diferencia significativa en la cantidad de Cx32, en el grupo uretano/  $V_2O_5$ , con respecto al grupo uretano.

### **7.3 CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA CX43 EN EL EPITELIO PULMONAR Y BRONQUIOLAR DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**

En el caso de la Cx43, los efectos fueron más evidentes. La marca de la Cx 43 en el control (Fig. 14A, 15A) se localizó en muy baja cantidad en los neumocitos de los alvéolos, y en mayor cantidad en las células del epitelio bronquiolar. En las células de Clara del bronquiolo, la Cx43 se distribuyó homogéneamente en el citoplasma de las células. En el grupo uretano, la marca en los adenomas se evidenció (Fig. 14B), pero fue menor que en los adenomas del grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 14C).

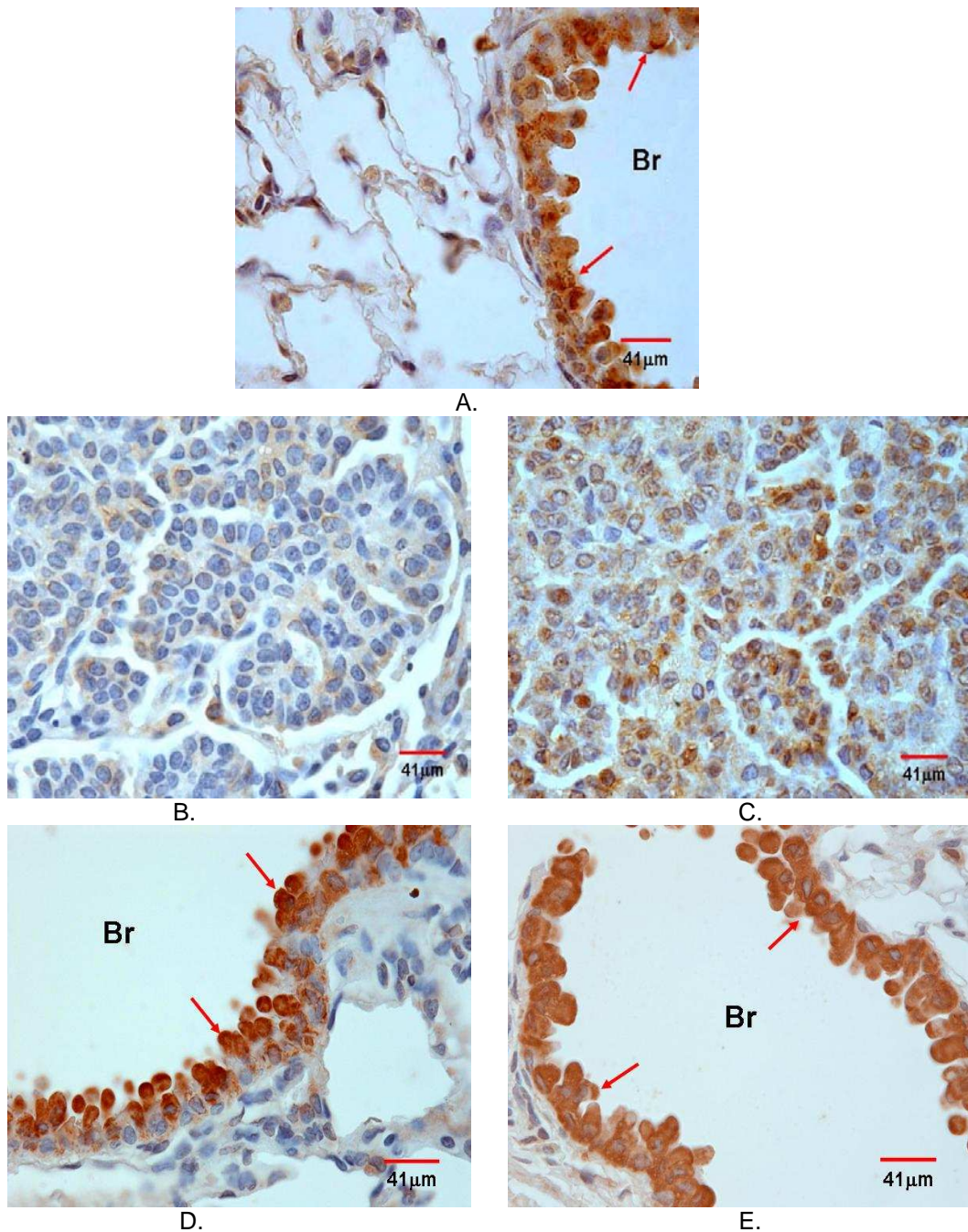
En cuanto a las células de Clara del bronquiolo en el grupo uretano (Fig. 14D), la marca disminuyó y su localización fue apical en estas células. En el grupo uretano/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> la localización se mantuvo parecida a la que se observó en el grupo control (Fig. 14A), aunque la cantidad fue mayor.

A las 13 semanas de tratamiento, una vez que se administra el uretano, la marca en los adenomas se evidenció (Fig. 15B) y fue menor que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 15C). En las células de Clara en el grupo uretano (Fig. 15D), la marca se concentró en la región apical de estas células. En el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Fig. 15E), la marca fue mayor que en el control (Fig. 15A) y el grupo uretano (Fig. 15D), y la localización fue homogénea en el citoplasma.

Finalmente la prueba de t para el análisis de la densitometría de esta Cx mostró que a las 8 semanas de tratamiento, la cantidad de Cx43 en el grupo uretano/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que en el grupo uretano. Este mismo patrón se observó a las 13 semanas de tratamiento (Fig. 16).

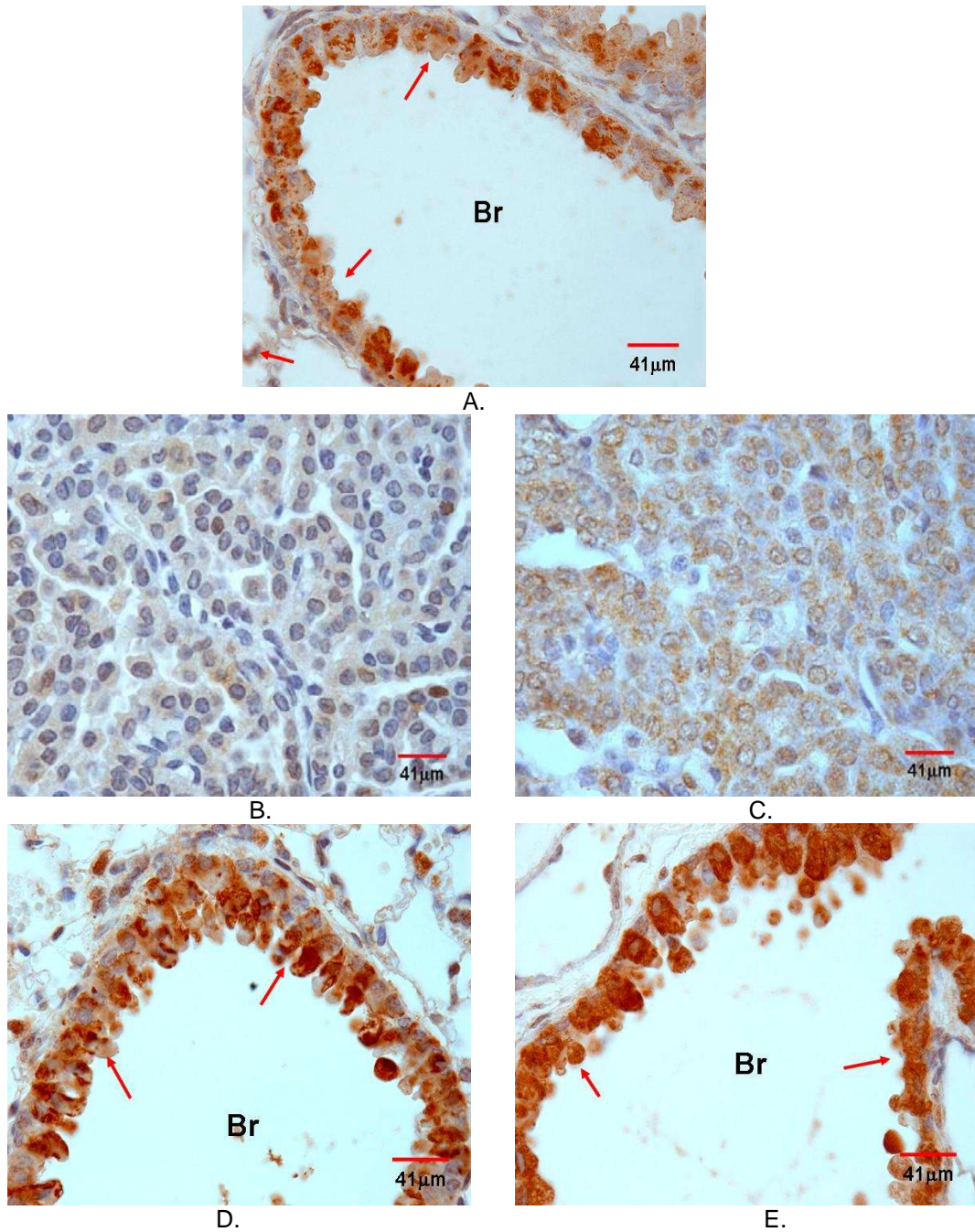


**CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA CX43 EN EL EPITELIO PULMONAR Y BRONQUIOLAR DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. 8 SEMANAS DE TRATAMIENTO**



**Figura 14.** La marca de la Cx 43 en el control (A) se localizó en poca cantidad en los neumocitos de los alvéolos, y en mayor cantidad en las células del epitelio bronquiolar. En las células de Clara del bronquiolo, la Cx43 se distribuyó homogéneamente en el citoplasma de las células. A las 8 semanas de tratamiento, en el grupo uretano la marca en los adenomas se evidenció (B), pero fue menor que en los adenomas del grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (C). En el mismo grupo, en las células de Clara del bronquiolo, la marca disminuyó concentrándose de manera más importante en la región apical de las células (D), mientras que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (E) la localización se mantuvo parecida a la que se observó en el grupo control (A), en mayor cantidad.

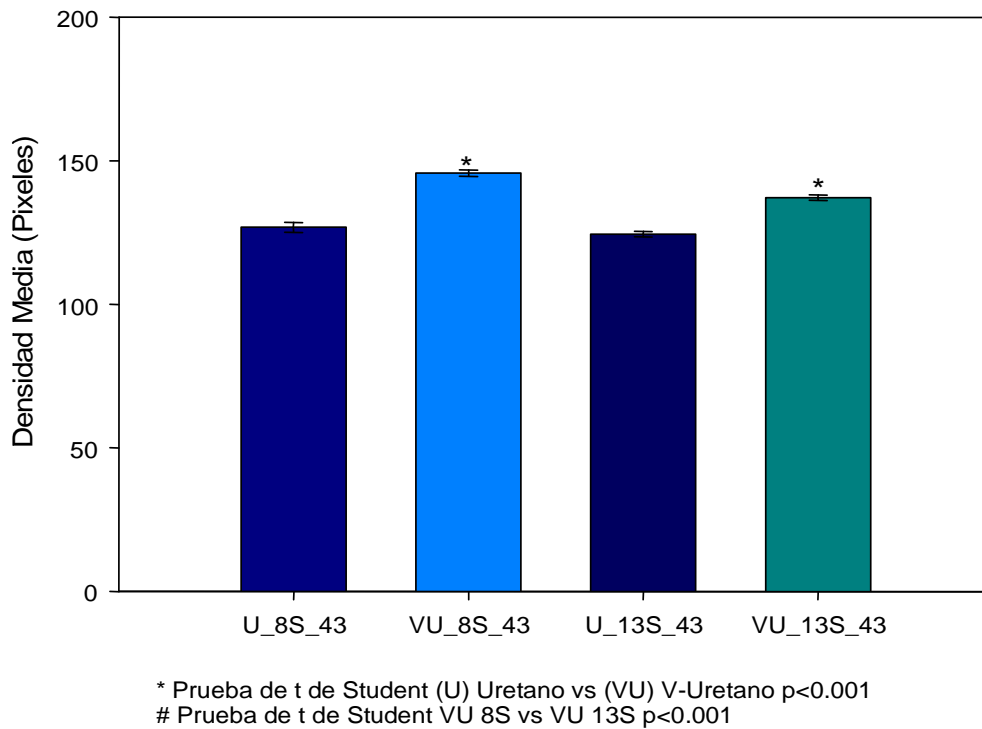
**CAMBIOS EN LA PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA CX43 EN EL EPITELIO PULMONAR Y BRONQUIOLAR DE RATONES TRATADOS CON URETANO Y URETANO/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. 13 SEMANAS DE TRATAMIENTO**



**Figura 15.** La marca de la Cx 43 en el control (A) fue similar a la que se encontró a las ocho semanas. En la célula de Clara del bronquiolo, la Cx43 se ubica en el citoplasma, de manera homogénea. Una vez que se administró el uretano, la marca en los adenomas se evidenció (B) y fue menor que en el grupo uretano/ V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (C). En el grupo uretano, en las células de Clara (D), la marca se concentró en la región apical de algunas de las células. En el grupo uretano/V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (E) la marca fue mayor que en el control (A) y el grupo uretano (D) y la localización fue homogénea en el citoplasma.

## ANALISIS ESTADISTICO DE LA DENSITOMETRIA PARA LA CX43

### Efecto de la inhalación de Vanadio en la Conexina 43 en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por Uretano



**Figura 16.** En esta gráfica se muestran los resultados de la densitometría para la Cx43 en ambos tratamientos, a las 8 y 13 semanas. La cantidad de Cx43 en el grupo uretano/  $V_2O_5$  fue significativamente mayor que en el grupo uretano. Este mismo patrón se observó a las 3 semanas de tratamiento.

## **8. DISCUSIÓN**

### **8.1 EFECTO ANTIPROLIFERATIVO DEL PENTÓXIDO DE VANADIO**

El vanadio es un metal de transición que ha cobrado importancia en las últimas décadas, y cuya participación en el proceso de carcinogénesis se ha estudiado en los últimos años.

Por un lado, como se mencionó anteriormente, los metales pueden inducir genotoxicidad y carcinogénesis por distintos mecanismos celulares, entre los que se incluyen la generación de radicales libres, la regulación de la actividad de factores de transcripción como AP-1 y p53, los efectos sobre vías de transducción de señales como la de las MAP cinasas (Snow, 1992; Klein et al., 1998; Ding y Shi, 2002; Galaris y Evangelou, 2002, Ye et al., 1995; Shi et al., 1998; Chen et al., 2000, 2002; Wang et al., 2000 et al., 2000; Liu et al., 2001; Galaris y Evangelou, 2002) entre otros. Además se ha reportado que el vanadio es capaz de inducir estos mecanismos, por lo cual es lógico pensar que este metal pueda inducir un proceso carcinogénico, tal y como lo mencionamos en nuestra hipótesis.

No existen estudios epidemiológicos sobre la carcinogenicidad del vanadio, y particularmente del pentóxido de vanadio, compuesto al que estamos expuestos de manera crónica.

Hasta hace poco tiempo tampoco existían estudios en modelos animales sobre la carcinogenicidad de este metal. En 2003, Ress et al., reportan que en su modelo de inhalación crónica de pentóxido de vanadio (en un periodo de 104 semanas), tanto ratas como ratones desarrollaron adenomas y carcinomas. En este estudio los animales se expusieron a concentraciones de 0.05, 1, 2 o 4 mg/m<sup>3</sup>, de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Este estudio apunta hacia un efecto carcinogénico del vanadio, al menos en el pulmón.

Sin embargo estudios realizados para analizar el efecto en otros órganos, tales como hígado y mama, arrojan resultados opuestos. En nuestro modelo, el efecto es distinto al reportado por Ress et al, puesto que, al administrar uretano y pentóxido de vanadio, el efecto es contrario al desarrollo de adenocarcinomas y carcinomas.

De acuerdo con el protocolo establecido en el presente estudio y utilizado por Mussali et al., (2005), los ratones fueron expuestos a una concentración de aproximadamente  $1.2 \text{ mg/m}^3$  de  $\text{V}_2\text{O}_5$  que no es muy diferente a las que se utilizaron en el estudio de Ress et al., (2003). Sin embargo, la duración del tratamiento es mayor en el estudio de Ress. Esta diferencia nos puede ayudar a explicar el porque del desarrollo de adenocarcinomas en el estudio de Ress, que no se presentó en el presente trabajo. Un mayor tiempo de exposición al compuesto permite que este ejerza efectos que no se presentan a corto plazo.

Por otro lado, durante las últimas décadas, diversos estudios han mostrado la habilidad de diversos compuestos de vanadio para inhibir el desarrollo de distintos tipos de cáncer. Estos incluyen el cáncer de hígado, pulmón, mama, tracto digestivo y varias líneas celulares cancerosas humanas (Sankar Ray et al., 2006).

Distintos grupos proponen el uso de compuestos de vanadio como una posibilidad de método de quimioprevención. Se explora el posible efecto quimiopreventivo y antitumoral de varios compuestos de vanadio, en modelos animales y líneas celulares malignas. Estos compuestos incluyen el metavanadato de amonio, peroxovanadatos, vanadocenos, entre otros (Thompson et al., 1984, Kopf-Maier, 1988; Sankar Ray, 2006).

Distintos compuestos de V han mostrado tener una efectividad potencial en contra de la leucemia y del tumor de Ehrlich (Kopf-Maier y Kopf, 1988) adenocarcinoma mamario en ratón (Murthy, et al., 1988) carcinomas humanos de pulmón, mama y gástrico (Köpf-Maier, 1994). Estudios *in vivo* e *in vitro* han mostrado también actividad antitumoral en células malignas humanas (Djordjevic, 1995; Wei y Yung, 1995; Jackson et al., 1997).

En estos estudios, se administraron vanadocenos de forma intraperitoneal; y revelan actividad citostática de los vanadocenos, caracterizada por la interacción de estos compuestos con los ácidos nucleicos, especialmente el DNA (Kopf-Maier, 1988). Los efectos antitumorales en los estudios en carcinoma humano de pulmón y de colon muestran que el vanadio puede acumularse en regiones ricas en ácidos nucleicos, además de inhibir la síntesis de DNA y RNA en células tumorales (Harding y Moksdi, 2000).

Sakurai et al., reportan actividades quimiopreventivas antitumorales de complejos de vanadil, contra carcinoma de nasofaringe humano. Incluso mencionan



que el efecto supera al que lleva a cabo el agente quimioterapéutico cis-diaminodicloroplatino (Sakurai et al., 1995).

Esta inhibición de la proliferación por parte del vanadio esta relacionada con distintos mecanismos en los cuales participa este metal, y se ha explorado en modelos animales.

La primera evidencia de la posible actividad quimiopreventiva del V en un modelo animal, fue reportada por Thompson et al. (1984) en un modelo de carcinogénesis mamaria inducida por 1-metil-1-nitrosurea, en rata. La administración de vanadil sulfato (25 ppm en alimento) lleva a la reducción de la incidencia de cáncer.

Basak y Chatterjee (2000) proponen la administración de V (0.5 ppm en agua de bebida) y  $1\alpha,25$ - dihidroxivitamina  $D_3$ , como agentes quimiopreventivos en carcinogénesis hepática en rata. Ambos compuestos presentan un efecto aditivo en la inhibición de hepatocarcinogénesis inducida por dietilnitrosamina (DEN).

En un modelo de cáncer de mama inducido por 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA) en ratas realizado por Sankar Ray et al. (2006) evidencia que la administración de monovanadato de amonio (en agua de bebida) reduce la incidencia de tumores mamarios, además de la proliferación celular en el tejido mamario.

En el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano utilizado en este estudio, el vanadio mostró el mismo efecto que en los reportes de los modelos mencionados anteriormente, por lo que nuestra hipótesis de que el pentóxido de vanadio contribuiría a potenciar el efecto carcinogénico del uretano resulto falsa.

La administración de vanadio en todos los casos, incluyendo nuestro estudio, se efectúa de manera paralela a la administración del carcinógeno, y continua durante todo el experimento. Estos resultados nos indican que el vanadio interfiere de alguna forma con la acción de los carcinógenos empleados en cada modelo de cáncer.

Chakraborty et al. (2007) encontraron que en su modelo de hepatocarcinogénesis inducida por DEN, la utilización de metavanadato de amonio en dosis de 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, y 16  $\mu\text{m/L}$  como suplemento en el agua de bebida inhibe la formación de aductos en el DNA, particularmente de etilguaninas. Se sabe

que el mecanismo de carcinogénesis inducida por uretano en el pulmón esta directamente relacionada con la formación de aductos en el DNA. Al igual que para este carcinógeno, la DEN tiene también la capacidad de formar aductos con el DNA; al administrar el vanadio, este atenúa la formación de los mismos. Este mismo efecto podría ocurrir en el caso del uretano, aunque el mecanismo no es conocido, y estaría interfiriendo con la acción del carcinógeno en el órgano blanco, y la iniciación de la carcinogénesis.

Por supuesto, se han explorado otros mecanismos a través de los cuales el vanadio contribuye también en la prevención de la carcinogénesis.

Se han propuesto mecanismos relacionados con el estrés oxidante, la disminución de la expresión de algunas proteínas relacionadas con la proliferación, el incremento en la expresión de otras relacionadas con la supresión de la proliferación y mecanismos relacionados con enzimas transformadoras de xenobióticos.

Bishayee et al. (1999) proponen que el efecto supresor del vanadio en su modelo de hepatocarcinogénesis puede estar mediado a través de la inducción selectiva y estabilización de moléculas antioxidantes en el hígado, además de enzimas biotransformadoras de xenobióticos. Por otro lado Chakraborty et al (2003), sugieren que en el hígado preneoplásico, el efecto supresor es a través de entrecruzamientos en el DNA.

Chakraborty et al., reportan efecto del vanadio sobre la expresión de la  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa (GGT). La administración de monovanadato de amonio (0.5 ppm en agua de bebida) en su estudio redujo la cantidad de focos positivos para esta proteína en el hígado de ratas tratadas con 2-Acetil-aminofluoreno. Se sabe que la inducción de altos niveles de GGT en focos preneoplásicos en el hígado de rata es un evento temprano en el desarrollo de hepatocarcinogenesis (Farber, 1984). Esta proteína tiene la capacidad de provocar incremento en el metabolismo del glutatión extracelular (Chakraborty, 2006), propiciando un microambiente rico en radicales libres que causan daño oxidativo, contribuyendo al proceso carcinogénico. El monovanadato de amonio contribuye a minimizar el daño oxidante.

El vanadio también incrementa las funciones antioxidantes en las células, a dosis bajas (0.5 ppm). Estudios de distintos grupos muestran que la administración de vanadio en agua de bebida, induce un alto nivel de la actividad de la glutatión S-transferasa en el hígado de rata (Bishayee et al., 1999; Chakraborty et al., 2003;

Kanna et al., 2004). Esto permite que la integridad de las membranas en la célula se mantenga, además de la integridad genómica.

Por otro lado se ha reportado también efecto de disminución en los niveles de enzimas metabolizadoras. Chakraborty y Selvaraj (2000) reportan un efecto del vanadio (metavanadato de vanadio) sobre las enzimas encargadas del metabolismo de agentes xenobióticos en el hígado de ratas, en un modelo de carcinogénesis hepática inducida por DEN. La administración de una concentración de 0.5 ppm de metavanadato de vanadio en agua de bebida, modula significativamente la disminución en la cantidad de citocromo p450 2E1 y citocromo b5, además de la actividad de la citocromo reductasa.

Se sabe que el citocromo p450 2E1 es la principal enzima encargada de metabolizar el uretano. Si este mismo efecto se observara por acción del pentóxido de vanadio, la disminución en los niveles del citocromo p450 llevaría a la disminución en el metabolismo del uretano administrado en los animales, que impediría a éste llevar a cabo su efecto carcinogénico, dado que se requiere que este activo metabólicamente para ejercer sus efectos (IARC, 1974). Esto permitiría explicar porque los adenomas en el modelo uretano/vanadio se presentan con menor frecuencia que en el modelo uretano.

Otros estudios están relacionados con el daño genotóxico, como el estudio de Chakraborty et al., (2006) en el que reportan una supresión de aberraciones cromosómicas en los hepatocitos.

El daño cromosómico inducido por algún carcinógeno en los hepatocitos de rata se ha identificado como un factor etiológico de una neoplasia (Grover y Fisher, 1971). La habilidad del vanadio para disminuir las aberraciones cromosómicas, tanto estructurales como numéricas, evidencia su potencial para limitar la iniciación de la hepatocarcinogénesis en este modelo. Estos estudios sugieren que el vanadio podría ser utilizado como un agente quimiopreventivo en dosis bajas (0.5 ppm) en el proceso de hepatocarcinogénesis (Chakraborty et al., 2006)

La proliferación celular es un proceso fundamental e integral que puede llevar a la carcinogénesis y existen evidencias de que los compuestos de vanadio pueden interferir en la proliferación celular de muchas maneras.



Chakraborty et al. (2006) muestran el efecto del vanadio sobre la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), limitando su expresión, en su modelo de hepatocarcinogenesis inducida por 2-Acetil-aminofluoreno. Este antígeno es una proteína auxiliar de la DNA polimerasa  $\delta$ , y se incrementa en las células en proliferación. La sobreexpresión de esta proteína se relaciona con frecuencia con la malignidad de las células en un tumor (Ng et al., 1994). La supresión de la expresión de PCNA en el hígado de rata podría reflejar un efecto antiproliferativo del vanadio *in vivo*.

En otros modelos se proponen distintas alternativas para explicar los efectos antiproliferativos del vanadio. Zhang et al (2002) encontraron que en cultivos celulares, el metavanadato de sodio, ejerce un efecto negativo sobre la proliferación de estas, arrojando el ciclo celular en la fase S. Al parecer este efecto se da por la activación de p53, debido a que esta proteína es supresora de tumores, y ejerce su efecto a través de distintos mecanismos, jugando un papel esencial en el control de la proliferación celular. La sobreexpresión de esta proteína induce el arresto del ciclo celular, relacionado con el punto de chequeo G1/G2 (Michalovitz et al., 1990; Diller et al., 1990; Shaulsky et al., 1991) e induce la apoptosis a través del mismo punto (Yonish-Rouach et al., 1993; Oren, 1994). p53 es importante, ya que mantiene la estabilidad e integridad del genoma de las células. Incluso se le ha llamado el “guardián del genoma” (Lane, 1992). Existen otros mecanismos pueden ser desencadenados por la actividad de p53, tales como la senescencia y la diferenciación celular (Sankar Ray et al., 2006).

Zhang et al. (2002) propone que la activación de p53 que efectúa el metavanadato, es consecuencia de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas son capaces de generar daños en el DNA, que desencadenan una serie de señales en distintas vías de señalización. Estas vías llevan a un aumento en los niveles de p53 en la célula, la activación de p21, y por lo tanto, la inhibición de complejos de ciclinas, permitiendo el arresto del ciclo celular, y la inhibición de la síntesis del DNA dañado (Jhonson y Walker, 1999; Zhang et al., 2002)

En efecto, Zhang et al., reportan un aumento en los niveles celulares de p53 y p21, en las líneas celulares C141 y de fibroblastos de embriones de ratón, que fue dosis dependiente.

Estudios en modelos animales muestran los mismos efectos mencionados anteriormente. Sankar Ray et al. (2006) demuestran que el vanadato de amonio

induce apoptosis y reduce la proliferación celular y la incidencia de tumores mamarios. Estos efectos se observan por una sobreexpresión de p53 y Bax, y una reducción en la expresión de Bcl2 en su modelo de carcinogénesis mamaria en rata. El incremento en la expresión de Bcl2 permite la permanencia de células precancerosas, que proliferan, facilitando la transformación maligna de las mismas (Vaux et al., 1988; Hockenbery et al., 1990). Bcl2 es una proteína anti-apoptótica. Bax, por el contrario, es una proteína proapoptótica de la familia de Bcl2. La administración de ortovanadato de forma subcutánea lleva a una reducción del crecimiento de tumores MDAY-D2 en ratones, probablemente debido a la generación de radicales hidroxilo y otras especies reactivas de oxígeno (Cruz et al., 1995).

La activación de la vía de las MAP cinasas (MAPKs) también ha sido explorada con el vanadio, puesto que esta vía puede también llevar al arresto del ciclo celular. El vanadato activa a p38 (MAPK), induciendo la transcripción del factor de transcripción nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). Este factor está implicado tanto en la progresión del ciclo celular como en la apoptosis (Jaspers et al., 2000).

Otros complejos de vanadio causan arresto del ciclo celular a través de mecanismos relacionados con la inhibición de fosfatasas (PTPs) que defosforilan subunidades de complejos de ciclinas. La fosforilación y defosforilación de ciclinas es esencial en la progresión del ciclo celular (Morinville et al., 1998)

De manera conjunta, estos experimentos nos muestran la habilidad de los compuestos de vanadio para ejercer efectos antiproliferativos y quimiopreventivos contra la carcinogénesis inducida químicamente. Estos efectos se pueden llevar a cabo mediante la inactivación de los metabolitos activos de los carcinógenos empleados, a través de la modulación del contenido y actividad de enzimas metabolizadoras de agentes xenobióticos.

Por supuesto, los mecanismos de inhibición de la síntesis de RNA y DNA, inducción de citotoxicidad en las células tumorales, y los efectos que regulan la proliferación de las células, desempeñan un papel importante en la prevención de la carcinogénesis. El pentóxido de vanadio podría interferir con el mecanismo de acción del uretano, impidiendo que este forme aductos en el DNA, además de prevenir la proliferación e inducir la apoptosis en las células que pudieran encontrarse dañadas.

## **8.2 EFECTO DEL URETANO SOBRE LAS CONEXINAS**

Muchos estudios muestran que durante el proceso de carcinogénesis, la comunicación intercelular disminuye y las proteínas que intervienen en esta son afectadas de distintas maneras.

Los mecanismos a través de los cuales se da esta disminución de uniones de comunicación intercelular se ha explorado utilizando líneas celulares y modelos animales.

Como se mencionó anteriormente estudios sugieren que la activación de distintos proto-oncogenes puede afectar negativamente la expresión de las proteínas que forman parte de los canales de uniones GAP. Algunos proto-oncogenes han mostrado la capacidad de alterar las uniones GAP, y principalmente la Cx 43, que es la más abundante en los tejidos (Brissette et al., 1991; Hofer et al., 1996; Hossain et al., 1998)

Un ejemplo de esto es el efecto que la activación de c-Src tiene sobre la Cx43. La activación de este oncogen incrementa el grado de fosforilación de la Cx43, que al hiperfosforilarse es degradada, causando una reducción de las uniones Gap (Postma et al., 1998; Loo et al., 1999; Toyofuku et al.1999; Zhou et al., 1999)

En el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano, existe la activación de algunos proto-oncogenes, como RAS.

El epoxi-etil carbamato, metabolito del uretano, es un químico carcinogénico que induce mutaciones en genes que regulan la proliferación celular. Dos de los genes importantes que son afectados por este metabolito son Ras y p53; el proto-oncogen K-ras es activado, mientras que el supresor p53 disminuye su expresión (Ghanayem et al., 2000; Koskinen and Pina, 2000; Melnick, 2002).

Los datos acerca del efecto de la activación de Ras sobre las uniones Gap no son tan claros, debido a que su vía de señalización involucra la actividad de distintas cinasas, como Raf, MEK-1, ERK, entre otras. Se sabe que la actividad de estas cinasas puede causar efectos de aumento o disminución en la cantidad de las conexinas, dependiendo del nivel de fosforilación que provoquen en ellas. De manera general se sabe que la activación de Ras desencadena la inhibición de estas uniones (Brissette et al., 1991; Nagy et al., 1996). En estos estudios la activación de RAS

lleva a una disminución en las uniones tipo GAP en queratinocitos de ratón y en fibroblastos de la línea 10T1/2.

La relación que existe entre la activación del proto-oncogen Ras y la disminución en la expresión de las conexinas, y por lo tanto, de las uniones de comunicación intercelular, podría explicar lo que ocurre en el modelo de uretano.

Los resultados mostrados en este trabajo se explican si consideramos que en el modelo utilizado se activa Ras, que ya se ha reportado, esta relacionada con la disminución en los niveles de Cxs. La activación de Ras lleva, como se mencionó anteriormente, a la activación de las MAPKs que juegan un papel trascendental en la regulación del estado de fosforilación de las conexinas (Carystinos et al., 2003; Sáez et al., 2003). Este oncogen activa a las MAPKs, que fosforilan a las Cxs 32 y 43. La fosforilación de las conexinas se ha relacionado con la regulación de la comunicación intercelular a través de numerosos mecanismos, los cuales incluyen la síntesis de Cxs, su transporte, ensamblaje, inserción en la membrana plasmática, la apertura y cierre de canales, además de la internalización de las proteínas y su degradación (Swenson et al., 1990; Asamoto et al., 1991; Musil y Goodenough, 1991; Lau et al., 1992; Moreno et al., 1992; Elvira et al., 1993; Lampe, 1994; Hertlein et al., 1998; Hossain et al., 1998; Yin et al., 2000).

La conexina más estudiada en términos de modificaciones por fosforilación y defosforilación es la Cx43. Esta proteína contiene numerosos sitios de fosforilación en su extremo carboxilo-terminal, que han sido identificados como sitios blanco de cinasas (Sáez et al., 2003).

La hiperfosforilación de estas proteínas, lleva a la activación de su degradación y disminuyen sus niveles. Al disminuir las proteínas que forman los canales de comunicación, las células pierden el control sobre el crecimiento de sus vecinas, y se da una proliferación desmedida de las mismas.

Por otro lado como se menciono anteriormente, el uretano tiene la capacidad de inactivar al principal supresor de tumores, p53, provocando que el control del ciclo celular se lleve a cabo de manera ineficiente, lo que facilita la proliferación continua de las células en el pulmón.

### **8.3 EFECTO DEL PENTÓXIDO DE VANADIO SOBRE LAS CONEXINAS**

Una vez que el vanadio se incluye en el modelo, se observa un efecto de sobreexpresión y acumulación de las Cxs, observándose de manera más importante sobre la Cx43, y al mismo tiempo un efecto de inhibición de la proliferación.

El vanadio podría aumentar los niveles de Cxs en la célula, por la capacidad que tiene para mimetizar al fosfato. Al mimetizar a las moléculas de fosfato, “fosforila” a las proteínas.

Existen estudios que muestran la capacidad de ciertos compuestos de vanadio para alterar el estado de fosforilación de las Cxs y por lo tanto de alterar la comunicación intercelular (Mikalsen et al., 1996; Rivedal et al., 2000; Basak y Chatterjee, 2000)

Al alterar el equilibrio de fosforilación de las conexinas, se observa en los resultados, que estas permanecen en el citoplasma de manera más importante. Su estado de fosforilación no las lleva a ser degradadas, como en el caso del grupo uretano, sino que quedan concentradas en el citoplasma.

Una vía que es importante en la conservación del estado de fosforilación de las conexinas es la de las MAPKs. Por ejemplo, la Cx43 contiene distintos residuos que pueden ser fosforilados por las MAPKs (Warn-Cramer et al., 1996; 1998). Las MAPKs que fosforilen a las Cxs dependerá de la molécula que active este mecanismo.

Un aspecto relacionado y que afecta de manera directa la vía de las MAPKs es el hecho de que el vanadio tiene la habilidad de inhibir las distintas fosfatasas que controlan la fosforilación llevada a cabo por las cinasas (Morinville et al., 1998). La cascada de señalización se afecta cuando una a otra las cinasas se fosforilan y al no haber fosfatasas activas, la vía permanece activa.

Esta actividad de las cinasas continua puede explicar la acumulación de las Cxs en el citoplasma de las células en el pulmón. Las cinasas fosforilan de manera continua a las Cxs, alterando su estado de fosforilación, propiciando que estas se acumulen en el citoplasma de las células. Este incremento en la cantidad de moléculas de Cxs en la célula sirve como un mecanismo inhibitorio de la carcinogénesis en el pulmón.

Existe además un mecanismo alternativo relacionado con la Cx43 y el arresto del ciclo celular. Zhang et al., (2003) reportan un posible mecanismo a través del cual los altos niveles de Cx43 pueden provocar un arresto en el ciclo celular, de forma independiente a la formación de uniones de comunicación intercelular.

En este estudio se muestra un efecto supresor de la Cx43 sobre la expresión de la proteína Skp2 (S phase kinase-associated protein 2), que regula la ubiquitinización de p27 (Zhang et al., 2003). Al suprimir la expresión de Skp2 incrementan los niveles de p27 y se inhibe la proliferación de células de osteosarcoma U2OS.

En el modelo uretano/vanadio del presente estudio se observa acumulación de Cxs en el citoplasma de las células. La Cx43 se acumula de manera más importante, contribuyendo quizá a través del mecanismo descrito por Zhang, al arresto del ciclo celular de los neumocitos y células de Clara en el pulmón.

Los mecanismos descritos anteriormente permiten tener un panorama sobre los efectos que puede desencadenar la inhalación de V2O5 en la acumulación de conexinas en las células del epitelio pulmonar, lo que podría contribuir al mantenimiento de la homeostasis en el tejido y de esta forma dirigir a un control de la proliferación celular.

## **9. CONCLUSIONES**

- ✚ Contrario a nuestra hipótesis, el efecto del pentóxido de vanadio en el desarrollo de los adenomas fue antineoplásico, que se manifestó como disminución en la frecuencia y área de los adenomas con respecto al modelo uretano.
- ✚ Los mecanismos a través de los cuales el pentóxido de vanadio ejerce el efecto antineoplásico aun no están establecidos. Sin embargo es posible que este interfiera con el mecanismo de acción del uretano, impidiendo que el carcinógeno genere mayor cantidad de adenomas, propuesta que queda abierta a su comprobación detallada.
- ✚ La disminución en la presencia de las conexinas en el modelo uretano puede contribuir al desarrollo de los adenomas, al disminuir la comunicación entre las células del epitelio pulmonar, impidiendo que exista un control de la proliferación celular por parte de las células vecinas.
- ✚ El pentóxido de vanadio ejerce efecto de acumulación de las conexinas en el citoplasma de las células del epitelio pulmonar. Esta acumulación podría explicarse por los efectos que el vanadio ejerce sobre la fosforilación de estas proteínas, y que al no ser adecuada impide que estas proteínas se ubiquen en la membrana, para realizar su función de comunicación intercelular
- ✚ La inadecuada localización de la Cx43 puede participar como un factor antiproliferativo del vanadio en este modelo.

## **10. PERSPECTIVAS**

Continuar explorando los mecanismos por los que el vanadio ejerce su acción antineoplásica en este modelo e identificar las vías por las que ejerce este efecto.

Los resultados que aportemos pueden abrir la posibilidad del uso del pentóxido de vanadio como un agente antineoplásico.

## **11. BIBLIOGRAFIA**

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1997. ATSDR's Toxicological Profiles: Vanadium. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, CRC Press, Inc.
- Altamirano L.M., Alvarez B.L., Roldán E.R. 1993. Cytogenetic and teratogenic effects of vanadium pentoxide on mice. *Med Sci Res.* 21: 711-713.
- Altamirano L.M., Alvarez B. L., Basurto A.F., Valverde M., Rojas E. 1996. Reprotoxic and genotoxic studies of vanadium pentoxide in male mice. *Teratogen Carcinogen Mutagen.* 16: 7-17.
- Altamirano-Lozano M. 1998. Genotoxic effects of vanadium compounds. *Invest Clin.* 39(1):39-47.
- Altamirano L.M., Valverde M., Alvarez B. L., Molina B., Rojas E. 1999. Genotoxic studies of vanadium pentoxide (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) in male mice II. Effects in several mouse tissues. *Teratogen Carcinogen Mutagen.* 19: 243-255.
- Alva L.L.F., Corcho V.A., García-Sancho F.C., Salazar F.M., Rébora T.F., Franco M.F., et al. 2003. Epidemiología del cáncer pulmonar en México; hallazgos por imagen. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 16:197-204.
- American Cancer Society (ACS). 2002. Air Pollution Linked To Deaths From Lung Cancer. *Cancer J Clin.* 52: 125-126.
- Asamoto M., Oyamada M., Aoumari A., Gros D., Yamasaki H. 1991. Molecular mechanisms of TPA-mediated inhibition of gap-junctional intercellular communication: evidence for action on the assembly or function but not the expression of connexin 43 in rat liver epithelial cells. *Mol Carcinog.* 4: 322–327.
- Atkinson, MM; Menko, AS; Johnson, RG; Sheppard, JR; Sheridan, JD. 1981. Rapid and reversible reduction of junctional permeability in cells infected with a temperature sensitive mutant of avian sarcoma virus. *J Cell Biol.* 91(2) :573–578.
- Avanzo J.L., Mesnil M., Hernández-Blazquez F.J., Mackowiak I., Madalena Cabrera- Mori C., Da Silva T.C, Salgado –Oloris S., Gárate A., Gomes-Massironi S., Yamasaki H., Zaidan Dagli M.L. 2004. Increased susceptibility to urethane-induced lung tumors in mice with decreased expression of connexin43. *Carcinogenesis.* 25(10): 1973-1982.
- Avanzo J.L., Mesnil M., Hernández-Blazquez F.J., Da Silva T.C., Fukumasu H., Madalena –Cabrera- Mori C., Yamasaki H., Zaidan Dagli M.L. 2006. Altered expression of connexins in urethane-induced mouse lung adenomas. *Life Sci.* 79(23): 2202-2208.
- Barceloux D.G. 1999. Vanadium . *Clin Toxicol.* 37(2): 265–278.
- Baran E. J.. 2003. Model Studies Related to Vanadium Biochemistry: Recent Advances and Perspectives *J. Braz. Chem. Soc.* 14( 6): 878-888.
- Basak R. , Chatterjee M. . 2000. Combined supplementation of vanadium and 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 inhibit placental glutathione S-transferase positive foci in rat liver carcinogenesis. *Life Sci.* 68: 217–231.



- Bishayee, A., Roy, S., Chatterjee, M., 1999. Characterization of selective induction and alteration of xenobiotic biotransforming enzymes by vanadium during diethylnitrosamine-induced chemical rat liver carcinogenesis. *Oncol Res* .11 (1): 41– 53.
- Bishayee A., Oinam S., Basu M., Chatterjee M.. 2000. Vanadium chemoprevention of 7,12-dimethylbenzo (a) anthracene-induced rat mammary carcinogenesis: probable involvement of representative hepatic phase I and II xenobiotic metabolizing enzymes. *Breast Cancer Res Treat.* 63:133–45.
- Beyer E.C, Kistler J., Paul D.L., Goodenough D.A. 1989. Antisera directed against connexin43 peptides react with a 43-kD protein localized to gap junctions in myocardium and other tissues. *J. Cell Biol.* 108: 595-605.
- Bignami.M., Rosa.S., Falcone.G., Tato.F., Katoh.F. and Yamasaki.H. 1988. Specific viral oncogenes cause differential effects on cell-to-cell communication, relevant to the suppression of the transformed phenotype by normal cells. *Mol. Carcinog.* 1: 67-75.
- Bonner J. C., Rice A.B., Moomaw C. R., Morgan D. L . 2000. Airway fibrosis in rats induced by vanadium pentoxide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 278: 209-216.
- Brissette JL, Kumar NM, Gilula NB, and Dotto GP. 1991. The tumor promoter 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate and the ras oncogene modulate expression and phosphorylation of gap junction proteins. *Mol Cell Biol.* 11:5364–5371.
- Brunekreef B, Forsberg B. 2005. Epidemiological evidence of effects of coarse airborne particles on health. *Eur Respir J.* 26: 309–318.
- Bruzzone R., White T.W., Paul D.L. 1996. Connections with connexins : the molecular basis of direct intercellular signaling. *Eur. J. Biochem.* 238: 1-27.
- Carystinos G.D, Kandouz M., Alaoui-Jamali M.A., Batist G. 2003. Unexpected Induction of the human connexin 43 promoter by the Ras signaling pathway is mediated by a novel putative promoter sequence. *Mol Pharmacol* . 63:821–831.
- Chakraborty A, Selvaraj S.2000. Differential modulation of xenobiotic metabolizing enzymes by vanadium during diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in Sprague-Dawley rats. *Neoplasma.* 47(2):81-9.
- Chakraborty A. , Selvaraj S. , Sudarshan M., Dutta R.K , Ghugre S.S , Chintalapudi N. 2000. Modulatory role of vanadium on trace element profile in diethylnitrosamine-induced rat hepatocarcinogenesis. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research.* 170: 156-162.
- Chakraborty T., Ghosh S., Datta S., Chakraborty ., Chatterjee, M., 2003. Vanadium suppresses sister-chromatid exchange and DNA-protein crosslink formation and restores antioxidant status and hepatocellular architecture during 2-acetylaminofluorene-induced experimental rat hepatocarcinogenesis. *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology.* 3 (6): 346– 362.
- Chakraborty T., Chatterjee A., Saralaya M.G., Dhachinamoorthi D., Chatterjee M. 2006. Vanadium inhibits the development of 2-acetylaminofluorene-induced premalignant phenotype in a two-stage chemical rat hepatocarcinogenesis model. *Life Sci.* 78: 2839 – 2851.

- Chakraborty T., Chatterjee A., Rana A. , Dhachinamoorthi D., Kumar A. P , Chatterjee M. 2007. Carcinogen-induced early molecular events and its implication in the initiation of chemical hepatocarcinogenesis in rats: Chemopreventive role of vanadium on this process. *BETB ACTA*. 1772: 48–59.
- Chen S., Pelletier D.B., Ao P., Boynton A.L. 1995. Connexin43 reverses the phenotype of transformed cells and alters their expression of Cyclin/Cyclin-dependent Kinases. *Cell Growth Differ*. 6: 681-690.
- Chen F., Ding M., Lu Y., Leonard S.S, Vallyathan V., Castranova V., Shi X. 2000. Participation of MAP kinase p38 and I $\kappa$ B kinase in chromium (VI)-induced NF- $\kappa$ B and AP-1 activation. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 19: 231–238.
- Chen F., Bower J., Leonard S.S, Ding M., Lu Y., Rojanasakul Y., Kung H., Vallyathan V., Castranova V., Shi X. 2002. Protective roles of NF- $\kappa$ B for chromium (VI)-induced cytotoxicity is revealed by expression of I $\kappa$ B kinase b mutant. *J Biol Chem*. 277: 3342–3349.
- Chen J-T, Cheng Y-W, Chou M-C, Sen-Lin T., Lai W-W, Ho W. L., Lee H. 2003. The Correlation between Aberrant Connexin 43 mRNA Expression Induced by Promoter Methylation and Nodal Micrometastasis in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 9: 4200-4204.
- Chipman J. K., Mally A., Edwards G. O. 2003. Disruption of Gap Junctions in Toxicity and Carcinogenicity. *Toxicol Sci*. 71: 146-153.
- Cormier S.A., Lomnicki S., Backes W., Dellinger B. 2006. Origin and health impacts of emissions of toxic by-products and fine particles from combustion and thermal treatment of hazardous wastes and materials. *Environ Health Perspect*. 114 (6): 810-817.
- Cruz T.F, Morgan A., Min W. 1995. In vitro and in vivo antineoplastic effects of orthovanadate. *Mol Biochem*. 153:161–166.
- Diller L., Kassel J., Nelson C.E., Gryka M.A., Litwak G., Gebhardt M., Bressac B., Ozturk L.M., Baker L.S J., Vogelstein B. , Friend S.H. 1990. P53 Functions As A Cell Cycle Control Protein In Osteosarcomas. *Mol Cell Biol*. 5772-5781
- Ding M, Shi X. 2002. Molecular mechanisms of Cr(VI)-induced carcinogenesis. *Mol Cell Biochem*. 234–235: 293–300.
- Djordjevic C. 1995. Antitumor activity of vanadium compounds. *Met. Ions Biol. Syst*. 31: 595–616.
- Donaldson K., Stone V., Seaton A., MacNee W. 2001. Ambient Particle Inhalation and the Cardiovascular System: Potential Mechanisms. *Environ Health Perspect*. 109 (4): 523-527.
- Durham T.R., Snow E. 2006. Metal ions and carcinogenesis. *Cancer: Cell Structures, Carcinogens and Genomic Instability*. pp 97-130
- Eghbali B., Kessler J .A, Reid L. M, Roy C., Spray D .C. 1991. Involvement of gap junctions in tumorigenesis: transfection of tumor cells with connexin 32 cDNA retards growth in vivo. *Proc Natl Acad Sci*. 88(23): 10701–10705.
- Elvira M., Diez J.A., Wang K.K.W., Villalobo A. 1993. Phosphorylation of connexin-32 by protein kinase C prevents its proteolysis by mu-calpain and m-calpain. *J Biol Chem*. 268: 14294–14300.

- Evangelou A.M. 2002. Vanadium in cancer treatment. *Crit Rev Oncol Hematol.* 42:249–265.
- Fantus I.G., Kadota S., Deragon G., Foster B., Posner B.I.: 1989. Pervanadate[peroxide(s) of vanadate mimics insulin action in rat adipocyte via activation of the insulin receptor tyrosine kinase. *Biochemistry.* 28:8864–8871.
- Farber, E., 1984. Cellular biochemistry of the stepwise development of cancer with chemicals. *Cancer Res.* 44 (12): 5463–5474.
- Fernando R.C., Nair J., Barbin A., Miller J.A., Bartsch H. 1996. Detection of 1, N6-ethenodeoxyadenosine and 3, N4-ethenodeoxycytidine by immunoaffinity/<sup>32</sup>P-postlabelling in liver and lung DNA of mice treated with ethyl carbamate (urethane) or its metabolites. *Carcinogenesis.* 17(8): 1711-1718.
- Fortoul T.I, Quan-Torres A., Sánchez I., López I.E, Bizarro P., Mendoza M.L, Osorio L.S, Espejel-Maya G., Avila-Casado M. del C, Ávila-Costa M.R, Colin-Barenque L., Villanueva D.N, Olaiz-Fernandez G. 2002. Vanadium in ambient air: concentrations in lung tissue from autopsies of Mexico City residents in the 1960s and 1990s. *Arch Environ Health.* 57(5):446-449.
- Fortoul T.I., Rodríguez-Lara V., Falcón-Rodríguez C.I., López-Valdez N. 2008. Capítulo 20: Una mirada al Sistema Respiratorio. En: Una mirada al mundo microscópico. Ed. Pearson Prentice Hall. pp 249-258.
- Fukuda H., Ebara M., Yamada H., Arimoto M. , Okabe S., Obu, M. , Yoshikawa M. , Sugiera N., Saisho H. 2004. Trace Elements and Cancer. *JMAJ.* 47(8): 391–395.
- Galaris D, Evangelou A. 2002. The role of oxidative stress in mechanisms of metal-induced carcinogenesis. *Crit Rev Oncol Hematol.* 42: 93–103
- Gartner L.P., Hiatt J.L. 2008. Capítulo 15: Sistema Respiratorio. En *Texto Atlas de Histología.* Ed. McGraw-Hill Interamericana. México. pp. 345-365.
- Ghanayem, B. I., Wang, H., and Sumner, S. 2000. Using cytochrome P-450 gene knock-out mice to study chemical metabolism, toxicity, and carcinogenicity. *Toxicol. Pathol.* 28: 839–850.
- Ghanayem B.I. 2007. Inhibition of Urethane-Induced Carcinogenicity in Cyp2e1<sup>-/-</sup> in Comparison to Cyp2e1<sup>+/+</sup> Mice. *Toxicol Sci.* 95(2): 331–339.
- Gilmour P.S, Brown D.M, Lindsay T.G, Beswick P.H, MacNee W., Donaldson K. 1996. Adverse health effects of PM particles: 10 involvement of iron in generation of hydroxyl radical. *Occup Environ Med.* 53:817-822.
- Giri A.K., Sanyal R., Sharma A., Tulukder G. 1979. Cytological and Cytochemical changes induced through certain heavy metals in mammalian systems. *Natl Acad Sci Lett.* 2: 391-394.
- Goc A. 2006. Biological activity of vanadium compounds. *Cent Eur J Biol.* 1(3): 314–332.
- Goldberg G., Bechberger J.F., Tajima Y., Merritt M., Omori Y., Gawinowicz M.A, Narayanan R., Tan Y., Sanai Y., Yamasaki H., Naus C., Tsuda H., Nicholson B. 2000. Connexin43 Suppresses MFG-E8 While Inducing Contact Growth Inhibition of Glioma Cells. *Cancer Res* 60: 6018–6026.

- Grayson, M. 1983. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Vol 23. 3a ed. John Wiley & Sons. New York. 688-704.
- Grover, S., Fisher, P. 1971. Cytogenetic studies in Sprague–Dawley rats during the administration of carcinogen nitroso compound–diethylnitrosamine. *Eur J Cancer* . 7 (1): 77–82.
- Guengerich F. P., Kim D-H. 1991. Enzymatic oxidation of ethyl carbamate to vinyl carbamate and its role as an intermediate in the formation of 1 ,N'-Ethenoadenosine. *Chem. Res. Toxicol.* 4: 413-421.
- Gutiérrez-Castillo M.E., Roubicek D.A., Cebrián-García M.E., De Vizcaya-Ruíz A., Sordo-Cedeño M., Ostrosky-Wegman P. 2006. Effect of chemical composition on the induction DNA damage by airborne particulate matter. *Environ. Mol. Mutagen.* 47: 199-211.
- Harding M.M, Moksdi G. 2000. Antitumor metallocenes: structure-activity studies and interactions with biomolecules. *Curr Med Chem.* 7:1289–1293.
- Harrison R. M., Yin J. 2000. Particulate matter in the atmosphere: which particle properties are important for its effects on health?. *Sci Total Environ.* 249: 85-101
- Harrison R.M. 2001. Chapter 7: Air Pollution: Sources, concentrations and measurements. En: *Pollution: Causes, Effects and Control.* Royal Society of Chemistry. (ed). pp. 169-193.
- Hauser R., Elreedy S., Hoppin J.A., Christiani D.C. 1995. Upper airway response in workers exposed to fuel oil ash: Nasal lavage analysis. *Occup Environ Med.* 52:353– 358.
- Hertlein B., Butterweck A., Haubrich S., Willecke K., Traub O. 1998. Phosphorylated carboxy terminal serine residues stabilize the mouse gap junction protein connexin45 against degradation. *J Membr Biol.* 162: 247–257.
- Hockenbery D, Nunez G, Milliman C. 1990. Bcl2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature.* 348:334–6.
- Hofer A, Saez JC, Chang CC, Trosko JE, Spray DC, and Dermietzel R. 1996. C-erbB2/neu transfection induces gap junctional communication incompetence in glial cells. *J Neurosci.* 16:4311–4321.
- Hoffler, U. et al, 2003. Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) Is the Principal Enzyme Responsible for Urethane Metabolism: Comparative Studies Using CYP2E1-Null and Wild-Type Mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 557-564.
- Hossain M.Z., Ao P., Boynton A.L. 1998. Platelet-derived growth factor-induced disruption of gap junctional communication and phosphorylation of connexin43 involves protein kinase C and mitogen- activated protein kinase. *J Cell Physiol.* 176: 332–341.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1980. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Arsenic and arsenic compounds. Vol. 23, Lyon, France. The Agency; Secretariat of the World Health Organization, Geneva.

- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1974). Urethane. In Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man: Some Antithyroid and Related Substances, Nitrofurans and Industrial Chemicals, Vol. 7, pp. 111–140. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1980. Some Metals and Metallic Compounds. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 23. World Health Organization, Geneva.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1990. Chromium, nickel and welding. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 49, Lyon, France. World Health Organization, Geneva.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1993. Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 58. World Health Organization, Geneva.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 2006. Vanadium Pentoxide. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 86. World Health Organization, Geneva.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2007. “Estadísticas a propósito del Día Mundial contra el Cáncer. Datos Nacionales”.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS). 1988. Environmental Health Criteria 81 Vanadium. Geneva: World Health Organization.
- Jacobson M.Z. 2002. Basics and History of discovery of atmospheric chemicals. In Atmospheric Pollution. History, Science and Regulation. Cambridge University Press. Pp. 1-28.
- Jackson J.K., Min W., Cruz T.F., Cindrias S., Arsenault L., Von Hoff D.D, Degan D., Hunter W.L., Burt H.M. 1997. A polymer-based drug delivery system for the antineoplastic agent bis(maltolato)oxovanadium in mice. *Br. J.Cancer* . 75: 1014–1020.
- Jackson T.K, Safhanick A.I, Sparks J.D, Sparks C.E, Bolognino M., Amatruda J.M. 1988. Insulin- mimetic effects of vanadate in primary cultures of rat hepatocytes. *Diabetes*. 37: 1234-1240.
- Jaspers I., Samet J.M., Erzurum S., Reed W. 2000. Vanadium-induced  $\kappa$ B dependent transcription depends upon peroxide-induced activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 23:95–102.
- Jin Y.H., Clark A.B., Slebos R.J, Al-Refai H., Taylor J.A., Kunkel T.A., Resnick M.A, Gordenin DA. 2003. Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair. *Nat Genet*. 34: 326–329.
- Johnson, D.G. and Walker, C.L. 1999. Cyclins and cell cycle checkpoints. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 39: 295-312.
- Kanna, P.S., Mahendrakumar, C.B., Indira, B.N., Srivastawa, S., Kalaiselvi, K., Elayaraja, T., Chatterjee, M., 2004. Chemopreventive effects of vanadium towards 1,2 dimethylhydrazine induced genotoxicity and preneoplastic lesions in rat colon. *Environ Mol Mutagen*. 44 (2): 113– 118.

- Katsouyanni K., Pershagen G. 1997. Ambient Air Pollution Exposure and Cancer. *Cancer Causes and Control*. 8:284-291.
- Klaassen C.D., Eaton D. L. 2001. Capitulo 2: Principles of Toxicology. En: Casarett And Doull's Toxicology. The Basic Science Of Poisons. Mc Graw Hill ed. pp. 11-34.
- Klein CB, Snow ET, Frenkel K. 1998. Molecular mechanisms in metal carcinogenesis: role of oxidative stress. In: OI Aruoma, B Halliwell (eds): *Molecular Biology of Free Radicals in Human Diseases*. OICA International, Saint Lucia, London, 80–137.
- Kleinsasser N., Dirschedl P., Staudenmaier R., Harreus U., Wallner B. 2003. Genotoxic effects of vanadium pentoxide on human peripheral lymphocytes and mucosal cells of the upper aerodigestive tract. *Int J. Environ Health Res*. 13: 373-379.
- Kopf-Maier P., Kopf H. 1988. Transition and main-group metal cyclopentadienyl complexes: preclinical studies on a series of antitumor agents of different structural type. *Struct. Bond*. 70: 103–185.
- Köpf-Maier P. 1994. Complexes of metals other than platinum as anti-tumour agents. *Eur. J. Clin. Pharmacol*. 47: 1–16.
- Koskinen, M., and Pina, K. 2000. Specific DNA adducts induced by some monosubstituted epoxides in vitro and in vivo. *Chem. Biol. Interact*. 129: 209–229.
- Koval M. 2002. Sharing signals: connecting lung epithelial cells with gap junction channels . *AJP-Lung Cell Mol Physiol*. 283:875-893.
- Kumar, N. M., Gilula, N. B. 1996. The gap junction communication channel. *Cell*. 84: 381-388.
- Lampe P.D. 1994. Analyzing phorbol ester effects on gap junctional communication: a dramatic inhibition of assembly. *J Cell Biol*. 127: 1895–1905.
- Lane D. P. 1992. p53, guardian of the genome. *Nature*. 358: 15 – 16.
- Lapenna D., Ciofani G. , Bruno C. , Pierdomenico S. D., Giuliani L., Giamberardino M. A. , Cuccurullo F. 2002. Vanadyl as a catalyst of human lipoprotein oxidation. *Biochem Pharmacol*. 63(3): 375-380.
- Lau A.F., Kanemitsu M.Y., Kurata W.E., Danesh A.L., Boynton A.K. 1992. Epidermal growth factor disrupts gap-junctional communication and induces phosphorylation of connexin43 on serine. *Mol Biol Cell*. 3: 865–874.
- Leithe E., Rivedal E. 2004. Ubiquitination and Down-regulation of Gap Junction Protein Connexin-43 in Response to 12-O-Tetradecanoylphorbol 13-Acetate Treatment. *J. Biol. Chem*. 279(48): 50089-50096.
- Leonard S.S., Bower J.J., Shi X. 2004. Metal-induced toxicity, carcinogenesis, mechanisms and cellular responses. *Mol Cell Biochem*. 255: 3–10.
- Lewis CE. 1959. The biological effects of vanadium. II. The signs and symptoms of occupational vanadium exposure. *AMA Arch Ind Health*. 19:497–503.

- Liu K, Husler J, Ye J, Leonard SS, Cutler D, Chen F, Wang S, Zhang Z, Ding M, Wang L, Shi X. 2001. On the mechanism of Cr(VI)-induced carcinogenesis: Dose dependence of uptake and cellular responses. *Mol Cell Biochem.* 222: 221–229.
- Loo L.W., Kanemitsu M.Y, Lau A.F. 1999. In vivo association of pp60v-src and the gap-junction protein connexin 43 in v-src-transformed fibroblasts. *Mol Carcinog* 25:187–195.
- Loewenstein W.R. 1979. Junctional intercellular communication and the control of growth. *BETB ACTA.* 560: 1-65.
- Loewenstein W.R, Rose B. 1992. The cell-cell channel in the control of growth. *Semin Cell Biol.* 3(1):59-79.
- Martin P.E. M., Blundell G. , Ahmad S., Errington R. J., W., Evans Howard. 2001. Multiple pathways in the trafficking and assembly of connexin 26, 32 and 43 into gap junction intercellular communication channels. *J Cell Sci.* 114: 3845-3855.
- Mason, R.J., Kalina, M., Nielsen, L.D., Malkinson, A.M., Shannon, J.M. 2000. Surfactant protein C expression in urethane- induced murine pulmonary tumors. *Am. J. Pathol.* 156: 175–182.
- Mayoral-Chávez M., Zenteno-Galindo E., Espinosa Mancilla B., Martínez-Cairoii S., Guevara Fonseca J. 2004. Perspectiva monográfica del cáncer pulmonar: Un enfoque molecular y la metástasis al cerebro. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 17(4): 283-292.
- Medina-Morales F., Salazar-Flores M. 2000. Frecuencia y patrón cambiante del cáncer pulmonar en México. *Salud Pública de México.* 42(4): 333-336.
- Mehta P. P., Perez-Stable C., Nadji M., Mian M., Asotra K., Roos B.A. 1999. Suppression of human prostate cancer cell growth by forced expression of connexin genes. *Dev Genet.* 24:91–110.
- Melnick, R. L. 2002. Carcinogenicity and mechanistic insights on the behavior of epoxides and epoxide-forming chemicals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 982: 177–189.
- Meuwissen, R., and Berns, A. 2005. Mouse models for human lung cancer. *Genes Develop.* 19: 643–64.
- Michalovitz D., Halevy O., Oren M. 1990. Conditional inhibition of transformation and of cell proliferation by a temperature-sensitive mutant of p53. *Cell.* 62(4):671–680.
- Mikalsen S-O., Kaalhus O. 1996. A characterization of pervanadate, an inducer of cellular tyrosine phosphorylation and inhibitor of gap junctional intercellular communication. *BETB ACTA.* 1290: 308-318.
- Moreno A.P., Fishman G.I., and Spray DC. 1992. Phosphorylation shifts unitary conductance and modifies voltage dependent kinetics of human connexin43 gap junction channels. *Biophys J.* 62: 51–53.
- Morinville A, Maysinger D, Shaver A. 1998. From Vanadis to Atropos: vanadium compounds as pharmacological tools in cell death signaling. *TIPS.* 19:452–460.
- Mossman B., Borm P.J., Castranova V., Costa D.L., Donaldson K. Kleeberger S. R. 2007. Mechanisms of action of inhaled fibers, particles and nanoparticles in lung and cardiovascular diseases. *Particle Fibre Toxicol.* 4:4

- Murthy M.S., Rao L.N., Kuo L.Y., Toney J.H., Marks T.J. 1988. Antitumor and toxicologic properties of the organometallic anticancer agent vanadocene dichloride. *Inorg. Chim. Acta* .152: 117–124.
- Mussali-Galante P, Rodríguez-Lara V, Hernández-Tellez B, Avila-Costa MR, Colín-Barenque L, Bizarro-Nevarez P, Martínez-Levy G, Rojas-Lemus M, Piñón-Zarate G, Saldivar-Osorio L, Diaz-Beck P, Herrera-Enríquez MA, Tovar-Sánchez E, Fortoul TI. 2005. Inhaled vanadium pentoxide decrease gamma-tubulin of mouse testes at different exposure times. *Toxicol Ind Health*. 21(9):215-22.
- Musil L.S., Goodenough D.A. 1991. Biochemical analysis of connexin43 intracellular transport, phosphorylation, and assembly into gap junctional plaques. *J Cell Biol* .115: 1357–1374.
- Nagy J.I., Hossain M.Z., Lynn B.D., Curpen G.E., Yang S., Turley E.A. 1996. Increased connexin-43 and gap junctional communication correlate with altered phenotypic characteristics of cells overexpressing the receptor for hyaluronic acid-mediated motility. *Cell Growth & Differentiation*. 7:745–751.
- NTP Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of vanadium pentoxide in F344/N rats and B6C3F1 mice (Inhalation Studies). 2002. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service. National Institutes of Health. NIH publication. 1-344.
- Ng I.O.L., Lai E.C.S., Fan S.T., Ng M., Chan A.S.Y., So M.K.P., 1994. Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 73 (9): 2268– 2274.
- Nikiæ D., Stankoviæ A. 2005. Air pollution as a risk factor for lung cancer. *Arch Oncol*. 13(2):79-82.
- Omori Y., Yamasaki H. 1999. Gap junction proteins connexin32 and connexin43 partially acquire growth-suppressive function in HeLa cells by deletion of their C-terminal tails. *Carcinogenesis*. 20(10): 1913-1918.
- Onursal B., Gautam S. 1997. Vehicular Air Pollution: Experiences from Seven Latin American Urban Centers. World Bank Publications. 282 pages.
- Oren M. 1994. Relationship of p53 to the control of apoptotic cell death. *Semin Cancer Biol*. 5(3):221–227
- Pandey, S. K., Chiasson, J-L. and Srivastava, A. K. 1995. Vanadium salts stimulate mitogen-activated protein (MAP) kinases and ribosomal S6 kinases. *Mol. Cell. Biochem*. 153, 69–78
- Pope CA III, Dockery DW, Spengler JD, Raizenne ME. 1991. Respiratory health and PM10 pollution: a daily time series analysis. *Am Rev Respir Dis* . 144:668-674.
- Pope C.A III. , Bates D.V., Raizenne M. E. 1995. Health Effects of Particulate Air Pollution: Time for Reassessment? *Environ Health Perspec*. 103 (5): 472-480
- Pope C.A III., Burnett R.T., Thun M., Calle E.E., Krewski, D. Ito K., Thurston G.D., 2002. Lung Cancer, Cardiopulmonary Mortality and Long-term Exposure to Fine Particulate Air Pollution. *JAMA*. 287(9):1132-1141.



- Posner B.I., Shaver A., Fantus I.G. 1990. Insulin mimetic agents: vanadium and peroxovanadium compounds. In *New Antidiabetic Drugs*. Bailey CJ, Flatt PR (ed). London, Smith-Gordon. pp 107-118.
- Postma F.R., Hengeveld T., Alblas J., Giepmans B.N., Zondag G.C., Jalink K., and Moolenaar WH. 1998. Acute loss of cell-cell communication caused by G protein coupled receptors: a critical role for c-Src. *J Cell Biol* .140:1199–1209.
- Ramírez P., Easstmond D.A., Laclette J.P., Ostrosky Wegman P. 1997. Disruption of microtubule assembly and spindle formation as a mechanism for the induction of aneuploidy cells by sodium arsenite and vanadium pentoxide. *Mutat Res*. 386: 291-298.
- Rehder, D. 2003. The coordination chemistry of vanadium as related to its biological functions. *Coordination Chemistry Reviews*. 182: 297–322.
- Reilly C. 2004. *The Nutritional Trace Metals*. Blackwell Publishing (ed). 356 pages
- Ress N. B., Chou B. J., Renne R. A., Dill J. A., Miller R. A., Roycroft J. H., Hailey J. R., Haseman J. K., Bucher J. R. 2003. Carcinogenicity of Inhaled Vanadium Pentoxide in F344/N Rats and B6C3F1 Mice. *Toxicol Sci*. 74: 287–296.
- Ross, M.H., Gordon I.K., Wojciech P. 2004. Capitulo 18: Aparato Respiratorio. En *Histología. Texto y Atlas color de Biología Celular y Molecular*. Ed. Médica Panamericana. Argentina. pp 570-603.
- Rice A.B, Moomaw C.R, Morgan D.L, Bonner J.C. 1999. Specific inhibitors of platelet-derived growth factor or epidermal growth factor receptor tyrosine kinase reduce pulmonary fibrosis in rats. *Am J Pathol*. 155:213-221.
- Rivedal E. , Mikalsen S.-O., Sanner T. 2000. Morphological Transformation and Effect on Gap Junction Intercellular Communication in Syrian Hamster Embryo Cells as Screening Tests for Carcinogens Devoid of Mutagenic Activity. *Toxicol in Vitro*. 14: 185-192.
- Riveros-Rosas H., Pfeifer G.D., Lynamc D. R., Pedroza J.L, Julián-Sánchez A., Canales O., Garfias J. 1997. Personal exposure to elements in Mexico City air. *Sci Total Environ*. 198 (1): 79-96.
- Rodríguez-Mercado J.J, Altamirano-Lozano, M. 2006. Vanadio: Contaminación, Metabolismo Y Genotoxicidad. *Rev. Int. Contam. Ambient*. 22 (4): 173-189.
- Rojas E., Valverde M., Herrera L.A., Altamirano-Lozano M.A., Ostrosky-Wegman P. 1996. Genotoxicity of vanadium pentoxide evaluate by a single cell gel electrophoresis assay in human lymphocytes. *Mutat Res*. 359: 77-84.
- Roldan E., Altamirano M. 1990. Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, cell-cycle kynamics and satellite association in human lymphocytes culture exposed to vanadium pentoxide. *Mutat Res*. 245: 61-65.
- Rosales-Castillo J.A., Torres-Meza V. M., Olai-Fernández G., Borja-Aburto V. H. 2001. Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud Pública Mex*. 43:544-555.

- Sáez J. C., Berthoud V. M., Brañes M.C., Martínez A., Beyer. E. C. 2003. Plasma Membrane Channels Formed by Connexins: Their Regulation and Functions. *Physiol Rev.* 83:1359-1400.
- Sakurai H., Tamura H., Okatani K.. 1995. Mechanism for a new antitumor vanadium complex: hydroxyl radical dependent DNA cleavage by 1, 10- phenanthroline-vanadyl complex in the presence of hydrogen peroxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 206: 133–137.
- Samet, J.M. 2004. Environmental Causes of Lung Cancer: What Do We Know in 2003? *Chest.* 125 (80): 80-83.
- Sankar Ray R. , Roy S., Ghosh S. , Kumar M. , Chatterjee M. 2004. Suppression of cell proliferation, DNA protein cross-links, and induction of apoptosis by vanadium in chemical rat mammary carcinogenesis. *BETB ACTA* .1675 : 165– 173.
- Sankar Ray R., Ghosh B. , Rana A. , Chatterjee M. 2006. Suppression of cell proliferation, induction of apoptosis and cell cycle arrest: Chemopreventive activity of vanadium in vivo and in vitro. *Int. J. Cancer.* 120: 13–23.
- Scicchitano D.A., Pegg A.E. 1987. Inhibition of O6-alkylguanine-DNA-alkyltransferase by metals. *Mutat Res.* 192: 207–210
- Scior T., Guevara-García A., B. Philippe, Do Q-T. , Domeyer D., Laufe S. 2005. Are Vanadium Compounds Drugable? Structures and Effects of Antidiabetic Vanadium Compounds: A Critical Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 5: 995-1008.
- Shaulsky G, Goldfinger N, Peled A, Rotter V. 1991. Involvement of wild-type p53 in pre-B-cell differentiation in vitro. *Proc Natl Acad Sci* . 88(20):8982-8986.
- Shaw A.T., Kirsch D.G., Jacks T. 2005. Future of Early Detection of Lung Cancer: The Role of Mouse Models. *Clin Cancer Res.* 11: 4999-5003.
- Shechter Y. 1990. Insulin mimetic effects of vanadate: possible implications for future treatment of diabetes. *Diabetes.* 39:1–5.
- Shi X., Chiu A., Chen C.T., Halliwell B., Castranova V., Vallyathan V. 1998. Reduction of chromium (VI) and its relationship to carcinogenesis. *J Toxicol Environ Health.* 2: 101–118.
- Shisheva A., Shechter Y. 1993. Role of cytosolic tyrosine kinase in mediating insulin-like actions of vanadate in rat adipocytes. *J Biol Chem* . 268: 6463-6469.
- Sills R.C., French J. E., Cunningham M. L. 2001. New models for assessing carcinogenesis: An ongoing process. *Toxicol Lett.* 120(1-3): 187-198.
- Snow ET. 1992. Metal carcinogenesis: mechanistic implications. *Pharmacol Ther.* 53: 31–65.
- Sotomayor R. E., Washington M.C. 1996. Formation of etheno and oxoethyl adducts in liver DNA from rats exposed subchronically to urethane in drinking water and ethanol. *Cancer Lett* .100: 155-161.

- Stillman M.J., Presta A. 2000. Characterizing metal ion interactions with biological molecules –the spectroscopy of metallothionein. In *Molecular Biology and Toxicology of metals*. Zalups y Koropatnick (Eds.). CRC press. pp. 1-33.
- Sun P. 1987. Toxicity of vanadium and its environmental health standard . Reporte de Changdu West China University of Medical Sciences, China.
- Swenson K.I., Piwnica-Worms H., McNamee H., Paul D.L. 1990. Tyrosine phosphorylation of the gap junction protein connexin43 is required for the pp60v-src-induced inhibition of communication. *Cell Regul* .1: 989–1002.
- Tan, L., Bianco T., Dobrovic, A. 2002. Variable promoter region CpG island methylation of the putative tumor suppressor gene Connexin 26 in breast cancer. *Carcinogenesis*. 23 (2): 231-236.
- Temme A., Buchmann A., Gabriel H-D , Nelles E., Schwarz M., Willecke K. 1997. High incidence of spontaneous and chemically induced liver tumors in mice deficient for connexin32. *Curr Biol*. 7:713–716.
- Thompson HJ, Chasteen DN, Neeker L. 1984. Dietary vanadyl (IV) sulfate inhibits chemically-induced mammary carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 5:849–51.
- Toyofuku T., Yabuki M., Otsu K., Kuzuya T., Tada M., Hori M. 1999. Functional role of c-Src in gap junctions of the cardiomyopathic heart. *Circ Res*. 85:672–681.
- Trosko J. E., Ruch R. J. 1998. Cell-Cell communication in Carcinogenesis. *Front Biosci*. 3: 208-236.
- Tsiani E., Fantus I.G. 1997. Vanadium compounds biological actions and potential as Pharmacological Agents. *Trends Endocrinol Metab*. 8:51–58.
- Vaux DL, Corry S, Adam JM. 1988. Bcl2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature*. 335:440–442.
- Vine A.L., Bertram J.S. 2002. Cancer chemoprevention by connexins. *Cancer Metast Rev* . 21: 199– 204
- Wang S, Leonard SS, Ye J, Ding M, Shi X. 2000. The role of hydroxyl radical as a messenger in p53 activation. *Am J Physiol*. 279: 868–875.
- Warn-Cramer B.J., Lampe P.D., Kurata W.E., Kanemitsu M.Y., Loo L.W.M., Eckhart W., Lau A.F. 1996. Characterization of the mitogenactivated protein kinase phosphorylation sites on the connexin-43 gap junction protein. *J Biol Chem*. 271: 3779–3786.
- Warn-Cramer B.J., Cottrell G.T., Burt M. , Lau A.F. 1998. Regulation of connexin-43 gap junctional intercellular communication by mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* .273: 9188–9196.
- Warn-Cramer B.J., Lau A.F.. 2004. Regulation of gap junctions by tyrosine protein kinases *Biochim Biophys Acta* 1662: 81–95.
- Wei L., Yung B.Y.M. 1995. Effect of okadylic acid and vanadate on TPA induced monocytic differentiation in human promyelocytic leukemia cell line HL-60. *Cancer Lett*. 90 : 199–206.

- World Health Organization. 2008. Cancer. Fact Sheet 297. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/print.html>
- Yamasaki H. 1990. Gap junctional intercellular communication and carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 7: 1051-1058.
- Yamasaki, H. 1991. Aberrant Expression and function of Gap Junctions during carcinogenesis. *Environ Health Perspect*. 93: 191-197.
- Yamasaki H. 1996. Role of disrupted gap junctional intercellular communication in detection and characterization of carcinogens. *Mutat Res*. 365: 91-105
- Yamasaki H., Krutovskikh V., Mesnil M., Tanaka T. , Zaidan-Dagli M. L., Omori Y. 1999. Role of connexin (gap junction) genes in cell growth control and carcinogenesis. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*. 322(2-3):151-159.
- Yano T., Hernandez-Balzquez F.J., Omori Y., Yamasaki Y. 2001. Reduction of malignant phenotype of HEPG2 cell is associated with the expression of connexin 26 but not connexin 32. *Carcinogenesis*. 22(10): 1593-1600.
- Ye J., Zhang X., Young H.A., Mao Y., Shi X. 1995. Chromium (VI)-induced nuclear factor- $\kappa$ B activation in intact cells via free radical reactions. *Carcinogenesis*. 16: 2401–2405.
- Yin X., Jedrzejewski P.T., Jiang J.X. 2000. Casein kinase II phosphorylates lens connexin 45.6 and is involved in its degradation. *J Biol Chem* . 275: 6850–6856.
- Yip M., Madl P. 2002. Air Pollution in Mexico City. Project-Study paper, University of Salzburg, Austria, Department of Biophysics and in Cooperation with the Afro-Asian Institute (Salzburg, Austria) and International Laboratory for Air Quality and Health at QUT (Australia). Available on: University of Salzburg. <http://www.sbg.ac.at/ipk/avstudio/pierofun/mexico/air.htm#Effects>
- Yonish-Rouach E., Grunwald D., Wilder S., Kimchi A., May E., Lawrence J. J., May P., Oren M. 1993. p53-mediated cell death: relationship to cell cycle control. *Mol Cell Biol*. 13(3): 1415–1423.
- Zhang Z.Q, Zhang W., Wang N.Q, Bani-Yaghoub M., Lin Z.X., Naus C.C. 1998. Suppression of tumorigenicity of human lung carcinoma cells after transfection with connexin43. *Carcinogenesis*. 19: 1889-1894.
- Zhang Z., Huang C., Li J., Shi X. 2002. Vanadate-induced cell growth arrest is p53-dependent through activation of p21 in C141 cells. *J Inorg Biochem*. 89: 142–148
- Zhang Y-W, Kaneda M., Morita I. 2003. The Gap Junction-independent Tumor-suppressing effect of Connexin 43 . *J Biol Chem* . 278 (45): 44852–44856.
- Zhou L., Kasperek E.M., Nicholson B.J. 1999. Dissection of the molecular basis of pp60(v-src) induced gating of connexin 43 gap junction channels. *J Cell Biol*. 144:1033–1045.

En Línea :

<http://www.incan.edu.mx> Instituto Nacional de Cancerología