



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Efecto de la exposición por inhalación de vanadio
sobre la mucosa olfatoria en un modelo murino.
Diferencias por sexo.**

TESIS

Que para obtener el título de

BIÓLOGA

PRESENTA

ANAID ALICIA ARENAS AMAYA



TUTORA: DRA. LAURA COLIN BARENQUE

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Datos del Jurado

1. Datos del alumno	
Apellido paterno:	Arenas
Apellido materno:	Amaya
Nombre (s):	Anaid Alicia
Teléfono:	55485342
Universidad:	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad o escuela:	Facultad de Ciencia
Carrera:	Biología
Número de cuenta:	302095124
2. Datos del Tutor	
Grado:	Dra.
Apellido paterno:	Colín
Apellido materno:	Barenque
Nombre (s):	Laura
3. Datos del sinodal 1	
Grado:	Dra.
Apellido paterno:	Rodríguez
Apellido materno:	Arnaiz
Nombre (s):	Rosario
4. Datos del sinodal 2	
Grado:	Dra.
Apellido paterno:	Fortoul
Apellido materno:	Vandergoes
Nombre (s):	Teresa Imelda
5. Datos del sinodal 3	
Grado:	M. en C.
Apellido paterno:	Bizarro
Apellido materno:	Nevarés
Nombre (s):	Martha Patricia
6. Datos del sinodal 4	
Grado:	Dr.
Apellido paterno:	Carrillo
Apellido materno:	Mora
Nombre (s):	Paul
7. Datos del trabajo escrito	
Título: Efecto de la exposición por inhalación de vanadio sobre la mucosa olfatoria en un modelo murino. Diferencias por sexo.	
Número de páginas: 77	
Año: 2011	

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A la Dra. Laura Colín Barenque; por ser una excelente tutora y persona, por dirigir este trabajo de investigación, guiarme en todo momento, por su tiempo, paciencia, interés y sus valiosas enseñanzas, le estoy inmensamente agradecida. Y porque esta tesis es solo el reflejo de todo el tiempo y trabajo, que ha dedicado en mí, ¡MUCHISIMAS GRACIAS!

A la Dra. Teresa I. Fortoul Vandergoes, por permitirme integrarme al grupo de trabajo y desarrollar el presente en el Laboratorio de Biología Celular y Tisular en la Facultad de Medicina de la UNAM.

Al comité revisor de esta tesis:

Dra. Rosario Rodríguez Arnaiz

M. en C. Martha Patricia Bizarro Nevares

Dr. Paul Carrillo Mora

A mis compañeros Caro y Rubén, que desde el principio me apoyaron y guiaron en este trabajo, al igual que todos en el laboratorio, que me permitieron integrarme a este gran equipo de trabajo; a Paty, Adriana, Marce, Vianey, Nelly, Sofía, Armando, Paco, Gumaro, Carlos y a las chicas del taller Dinora, Vero y Andrea. ¡GRACIAS! porque cada uno de ustedes de una u otra forma contribuyeron en la realización de este trabajo. Por compartir el espacio de trabajo, por su apoyo, grandes consejos y amistad.

Por su gran apoyo en la parte técnica:

Técnica Académica Verónica Rodríguez Mata

Técnica Académica Judith Reyes Ruíz

Este trabajo fue apoyado parcialmente por el proyecto PAPIIT IN220211

A mis padres:

No tengo palabras para agradecer, todo lo que han hecho y siguen haciendo por mí, por siempre cuidarme, guiarme, apoyarme, por todo el cariño que siempre me han dado, por que pase lo que pase siempre están ahí, porque les debo todo lo que soy, por qué este trabajo es más suyo que mío y sin su apoyo difícilmente lo hubiera logrado; les dedico este trabajo.

A mis hermanas:

Damaris y Betsabe, por ser parte de esta hermosa familia, por ser mis compañeras, amigas, cómplices, madrastras; por siempre cuidarme, apoyarme y siempre estar presentes; también va por ustedes. Las quiero!!!!

A mi familia:

A Diego Flores Arenas, por llenar mi vida de luz y alegrar todos mis días. Chaparrito: aunque me quitas mucho tiempo, me llenas de felicidad, eres un sol y espero un día puedas leer esto.

A toda mi familia, mis tíos, primos y especialmente a Rosa Reza y María Reza, por su cariño, por mantener la familia unida y siempre velar por nosotros. Chatita sé que desde donde estés disfrutaras este logro, muchas gracias por todo tu cariño.

A Francisco Reza y Eduardo Flores, por también ser parte de mi familia y al igual que todos ellos quererme y apoyarme.

A mis amigos

A todos mis amigos, no mencionare nombres para no omitir a nadie, pero a todos aquellos que me han brindado su amistad, compañía y apoyo, la mayoría desde hace varios años; por regalarme muchas risas, buenos momentos, consejos, por aquellas grandes platicas que hemos tenido, por ser parte de mi vida y ayudar en mi crecimiento personal. Los quiero y cada uno sabe el lugar que ocupa en mi vida y mi corazón. ¡¡Gracias por su amistad y espero pueda continuar muchos años más!!!

INDICE

	Página
ABREVIATURAS	6
RESUMEN	7
I. Introducción	8
I.I Contaminación atmosférica	8
I.II Contaminación atmosférica en la ciudad de México	9
I.III Partículas suspendidas y su efecto en la salud	10
I.IV Contaminación por metales y su efecto en la salud	12
I.V Vanadio	13
I.V.I Generalidades	13
I.V.II Distribución	14
I.V.III Exposición ambiental	15
I.V.IV Toxicocinética	16
I.V.V Efectos del vanadio a nivel celular	18
I.V.VI Efecto en diversos sistemas	19
I.V.VII Efecto del vanadio en sistema nervioso central	21
I.V.VIII Efectos del pentóxido de vanadio en el bulbo olfatorio	22
I.VI Contaminación atmosférica y olfato	23
I.VII Metales y sistema olfatorio	24
I.VIII Enfermedades neurodegenerativas y alteraciones olfatorias	25
I.IX Sistema olfatorio	27
I.IX.I Mucosa olfatoria	28
I.IX.II Epitelio olfatorio	29

I.IX.III Lamina propia	31
I.IX.IV Vías olfatorias	32
II. Justificación	34
III. Hipótesis	35
IV. Objetivos	36
IV.I Objetivo general	36
IV.II Objetivo particular	36
V. Material y método	37
V.I Animales	37
V.II Exposición a pentóxido de Vanadio	37
V.III Sacrificio	37
V.IV Análisis citológico	38
V.V Análisis estadístico	38
VI. Resultados	40
VI.I Análisis citológico cualitativo	40
VI.I.I Epitelio Olfatorio	40
VI.I.II Glándulas de Bowman	45
VI.I.III Fibras nerviosas	49
VI.II Análisis citológico cuantitativo	53
VII. Discusión	55
VIII. Conclusiones	65
IX. Bibliografía	66

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxiribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
As (III)	Arsénico trivalente
BO	Bulbo olfatorio
CFC	Clorofluorocarbonos
CO	Monóxido de Carbono
CO ₂	Dióxido de carbono
Cd	Cadmio
Cr (VI)	Cromo hexavalente
EO	Epitelio Olfatorio
Fe	Hierro
IARC	Agencia internacional para la investigación de cáncer
Mn	Manganeso
NADPH	Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato
NaVO ₃	Metavanadato de sodio
Na ₃ VO ₄	Ortovanadato de sodio
NH ₄ VO ₃	Metavanadato de amonio
Ni	Níquel
O ₃	Ozono
PST	Partículas suspendidas totales
RL	Radicales libres
ROS	Especies reactivas de oxígeno
V	Vanadio
V ₂ O ₅	Pentóxido de vanadio
V ₂ O ₄	Tetróxido de vanadio
VOCl ₃	Oxitricloruro de vanadio
VOSO ₄	Sulfato de vanadilo
VCl ₄	Tetracloruro de vanadio
VOCl ₂	Oxidicloruro de vanadio
V ₂ O ₃	Vanadio trivalente

RESUMEN

La calidad del aire en las zonas conurbadas ha mostrado una clara tendencia al deterioro. Consecuentemente, la salud de la población ha sido afectada debido a la presencia de contaminantes atmosféricos. En donde se considera, el ozono y las partículas suspendidas totales los contaminantes más importantes que se presentan en la ciudad de México. Adosados a estas partículas se encuentran los metales como el vanadio, siendo una fuente de toxicidad. El vanadio es un metal cuyas concentraciones en la atmósfera de la Ciudad de México han aumentado en las últimas décadas como consecuencia del incremento en la quema de combustibles fósiles. La vía inhalada es la principal ruta de absorción, donde el primer contacto que tiene con el organismo es el epitelio olfatorio. Por lo que toma importancia evaluar las alteraciones citológicas de la mucosa olfatoria ocasionadas por la exposición a vanadio. Estudios previos han mostrado que la inhalación de vanadio produce daño citológico en el bulbo olfatorio de ratón, así como disminución de la discriminación olfatoria, y se observó recuperación funcional y citológica en el bulbo olfatorio, al mantener a los organismos sin exponer al metal durante dos meses. Se utilizaron ratones machos y hembras, CD-1, separados en tres grupos: 1) control, inhalaron solución fisiológica, una hora dos veces por semana durante un mes; 2) experimental expuestos a V_2O_5 0.02 M bajo las mismas condiciones 3) y expuestos a V_2O_5 0.02 M y mantenidos 2 meses sin exposición al metal. Concluidas las cuatro semanas de exposición se sacrificaron los ratones controles y expuestos. Transcurridos dos meses post-inhalación, se sacrificaron los ratones pertenecientes a este grupo, con dosis letal y perfundidos vía aorta, se les extrajo el meato nasofaríngeo, se descalcificaron con solución de EDTA al 7% durante 7 días y se procesaron mediante la técnica histológica ordinaria. Se realizaron cortes de $10\mu m$ de grosor se tiñeron con la técnica de Klüver-Barrera. Se realizó el análisis citológico en donde se observaron y cuantificaron en campos de $100\mu m$. Se observaron alteraciones morfológicas en la mucosa olfatoria; picnosis, muerte celular y desorganización celular en el epitelio olfatorio, así como vacuolización en las glándulas de Bowman y en las fibras nerviosas, las cuales proyectan directamente hacia el BO lo que podría explicar las alteraciones reportadas previamente en dicha estructura. Las alteraciones morfológicas en la mucosa olfatoria fueron más evidentes en los ratones macho expuestos, comparados con las hembras. Al suspender las exposiciones al metal durante dos meses, se observó recuperación morfológica en la mucosa olfatoria que podrían correlacionarse con la recuperación morfológica y funcional del bulbo olfatorio previamente reportado, lo cual evidencia la plasticidad del sistema olfatorio

I. INTRODUCCIÓN

I.I. Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica se define como la presencia de sustancias en el aire que en ciertas cantidades pueden ser perjudiciales para la vida, afectando estructuras, materiales y ocasionando cambios en las condiciones meteorológicas o climáticas. En este sentido, un contaminante atmosférico es aquel agente (químico o biológico) que al agregarse al aire puede modificar sus características naturales (Vallejo et al., 2003), y se pueden clasificar según su presencia en la atmósfera, como primarios y secundarios. Los contaminantes primarios se encuentran en la atmósfera exactamente como fueron emitidos, ya sea por procesos naturales o por actividades del ser humano; donde se considera para la evaluación de la calidad del aire la presencia de monóxido de carbono, hidrocarburos, óxidos de azufre, metales y partículas. A los que se forman en la atmósfera por reacciones químicas en las que intervienen los contaminantes primarios se les considera contaminantes secundarios, entre ellos están el ozono y los sulfatos (Vallejo et al., 2003).

Entre los principales contaminantes del aire se encuentran los óxidos de azufre (SO_2 y SO_3), los óxidos de nitrógeno (NO , NO_2 , N_2O), los óxidos de carbono (CO_2 y CO), los hidrocarburos, los clorofluorocarbonos (CFC), el ozono (O_3), los metales pesados y las partículas suspendidas totales (PST) (Albert 2004). Siendo el ozono y las PST los contaminantes más importantes que se presentan en la ciudad de México (Rosales-Castillo et al., 2001).

I.II. Contaminación atmosférica en la Ciudad de México

El proceso de urbanización en los países latinoamericanos ha sido extremadamente rápido durante el siglo XX. Existen 14 grandes aglomeraciones urbanas con más de dos millones de habitantes; una de ellas, el Área Metropolitana de la Ciudad de México, se encuentra entre las 12 ciudades más grandes del mundo. Representa un extremo del crecimiento urbano y de contaminación ambiental (Bravo-Alvarez y Torres-Jardón 2002; Molina et al., 2007; Stephens et al., 2008). Con 20 millones de residentes, cerca de cuatro millones de vehículos y más de 40 000 industrias que consumen más de 40 millones de litros de petróleo por día emitiendo concentraciones significativas de contaminantes atmosféricos primarios (Molina et al., 2007).

Se estima que el 52% del total de la energía producida se emplea en el transporte, que es la mayor fuente de contaminación ambiental, 27% en las industrias y en plantas generadoras de energía y 15 % en uso doméstico (Molina y Molina 2004).

El área metropolitana de la ciudad de México se encuentra en una cuenca elevada con una altitud de 2 240m sobre el nivel del mar y el área urbanizada cubre alrededor de 200 km², la cuenca está rodeada por altas montañas, esto combinado con las frecuentes inversiones térmicas matutinas contribuye a atrapar y acumular contaminación atmosférica dentro de la cuenca (Molina et al., 2007).

La elevada altitud y el clima tropical en esta región contribuyen con los procesos fotoquímicos que forman contaminantes secundarios tales como el ozono (O₃) y las partículas suspendidas (Calderón-Garcidueñas et al., 2010).

I.III. Partículas suspendidas y su efecto en la salud

Las partículas suspendidas totales, son una compleja mezcla de diferentes componentes químicos y físicos (Katsouyanni 2003). Y se considera que su principal origen es la condensación de los productos de combustión (Flores 2004).

Las PST, incluyen partículas suspendidas en el aire y son caracterizadas por el tamaño de la partícula, que se mide en términos de su diámetro aerodinámico (Englert 2004).

- Partículas gruesas: poseen un diámetro aerodinámico menor a $10\mu\text{m}$ (PM10) y mayores a $2.5\mu\text{m}$ (PM2.5) (Vallejo et al., 2003, Englert 2004). Están compuestas principalmente por sílice, titanio, aluminio, sodio, hierro, cloruros (Vallejo et al., 2003, Molina y Molina 2004).
- Partículas finas: con un diámetro aerodinámico igual o menor a 2.5 (PM2.5) (Vallejo et al., 2003, Englert 2004). Están compuestas por productos derivados de la combustión (Fernández et al., 2003) e incluyen carbono, plomo, vanadio, dióxido de azufre y nitrógeno (Vallejo et al., 2003)
- Partículas ultrafinas: con un diámetro aerodinámico menor a $0.1\mu\text{m}$ (PM0.1) (Vallejo et al., 2003, Englert 2004). Están compuestas por productos de las quemas agrícolas y forestales, y por la combustión de gasolina y diesel.

Está ampliamente aceptado que algunas de las partículas suspendidas son buenos receptores, contenedores y vehículos de componentes toxicológicamente

relevantes (Vallejo et al., 2003, Fernández et al., 2003). Un ejemplo de ello son las partículas generadas por la combustión de derivados de petróleo (partículas finas y ultra finas). Éstas usualmente consisten en un núcleo de carbón en el cual hay complejas mezclas de compuestos adheridos a ellas, como hidrocarburos poliaromáticos, toxinas, sulfatos, nitratos y metales de transición (por ejemplo el vanadio) (Katsouyanni 2003).

Los efectos producidos por las partículas suspendidas se han asociado con problemas respiratorios y cardiovasculares, ya que producen cambios en la viscosidad de la sangre, incrementando el riesgo de enfermedades cardiovasculares; además pueden dañar otros aparatos y sistemas como el respiratorio y el nervioso, entre otros (Secretaría de Salud 2005).

En un estudio realizado por Calderón-Garcidueñas y cols. (2002), con caninos que habitaban en la zona del sureste del área metropolitana de la Ciudad de México y caninos que habitaban en la Ciudad de Tlaxcala, la cual presenta características geográficas similares a la Ciudad de México pero con menor contaminación, se encontró que las biopsias de los caninos de la ciudad de México presentan alteraciones en el epitelio respiratorio y en las mucosas olfatorias y respiratorias.

Partículas ultrafinas se han encontrado en los bulbos olfatorios de niños y adultos jóvenes expuestos a altas concentraciones de contaminación atmosférica en la ciudad de México, los cuales muestran evidencia de inflamación crónica en el tracto respiratorio superior e inferior, acumulación de partículas en el epitelio

respiratorio nasal, ruptura de la barrera epitelial respiratoria nasal, inflamación sistémica, inflamación cerebral, déficits de cognición y memoria (Calderón-Garcidueñas et al., 2001, 2003, 2007a, b, 2008 a–c).

Los metales adquieren relevancia, ya que tienen un mayor efecto tóxico respecto a otros contaminantes atmosféricos, éstos entran al organismo, adosados a la superficie de las partículas PM 2.5 (Valko 2006).

I.IV. Contaminación por metales y su efecto en la salud

Los metales son componentes naturales de la corteza terrestre. Tienen un papel importante en los organismos al ser parte fundamental de sus funciones bioquímicas y fisiológicas (Tahri et al., 2005; Al-khashman et al., 2004). Algunos son oligoelementos imprescindibles para el mantenimiento de los sistemas bioquímicos de los seres vivos, como por ejemplo, el cobre, el manganeso o el zinc, que son esenciales en el metabolismo de los mamíferos (Miller et al., 2004). Sin embargo, pueden actuar también como potentes tóxicos, tanto para los seres humanos como para los ecosistemas, según cuáles sean su vía de exposición, la dosis, la naturaleza química del metal y el tiempo de exposición (Rodríguez 2005).

Muchos metales son peligrosos porque tienden a bio-acumularse en los organismos. La bioacumulación significa un incremento en la concentración de un químico en un organismo biológico por algún tiempo, comparado con la concentración del químico con el ambiente (Kampa y Castanas 2007). Cuando se acumulan en los tejidos causan alteraciones en el tracto respiratorio y en los sistemas: nervioso, hematopoyético y cardiovascular, además producen daño

renal, alteraciones en la fertilidad y se relaciona a diferentes tipos de cáncer (Fortoul et al., 2007a).

En el aire, la contaminación atmosférica de partículas que contienen metales implica una amplia variedad de potenciales efectos adversos sobre la salud (Bukowiecki et al., 2007).

I.V. Vanadio

La concentración de los metales en la ciudad de México ha aumentado significativamente, Fortoul y cols. (1996, 2002) realizaron comparaciones en las concentraciones de metales en tejido pulmonar (casos de autopsia) de personas que vivieron en los 60's y en los 90's, observando niveles elevados en el tejido pulmonar de metales como cadmio, cobre, cobalto, níquel, plomo y vanadio en las necropsias de residentes de los años 90's destacando el vanadio (V) ya que ha incrementado sus niveles en los últimos años. Contaminante producto de la quema de combustibles fósiles es el vanadio, componente natural de la gasolina mexicana (Fortoul et al., 2007a).

I.V.I. Generalidades

Es un metal de transición que se encuentra en la naturaleza y sus estados de oxidación van desde el -1 al +5 y sus valencias más comunes son: +3,+4,+5 (Fortoul et al., 2002).

Por sus características químicas, se identifica por ser el primer elemento del quinto grupo de la tabla periódica de los elementos, con un número atómico de 23 y masa molecular de 50.9415 g/mol. En su estado puro es un metal dúctil de color

plateado brillante o ligeramente blanco y de textura suave. Posee una densidad de 6.11g/cm^3 a 18.7°C , su punto de ebullición se da entre los 1880 y los 1900°C , es soluble en agua. En la naturaleza no es común el V elemental ya que es altamente reactivo y tiende a combinarse con el oxígeno, el carbono y el nitrógeno (Barceloux 1999).

I.V.II. Distribución

El vanadio se libera a la atmósfera por fuentes naturales (incendios forestales, erupciones volcánicas) o antropogénicas (quema de combustibles fósiles, emisión de gases contaminantes por parte de las industrias) y se adosa a las partículas suspendidas que miden menos de $2.5\ \mu\text{m}$ (Fortoul et al., 2007a).

En forma natural se encuentra altamente distribuido en la corteza y junto con 80 diferentes minerales, aleado principalmente con fosfatos e hierro, además de que la fuente natural del vanadio en la atmósfera es el llamado polvo continental y las emisiones volcánicas (WHO 2003). Algunos alimentos como cereales, frutas frescas, vegetales y peces contienen este elemento aunque la mayoría lo contenga en bajas concentraciones ($< 1\ \text{ng/g}$); los alimentos ricos en vanadio incluyen hongos, crustáceos, semillas, perejil y pimienta negra (Mukherjee et al., 2004). En el agua, es poco soluble y se encuentra disuelto exclusivamente en su forma pentavalente en concentraciones de 0.1 a $220\ \mu\text{g/L}$ en agua dulce y 0.3 a $29\ \mu\text{g/L}$ en agua marina (Duffus 1983).

El V se encuentra en muy altas concentraciones en la fracción residual más pesada del petróleo, la cual se utiliza en plantas generadoras de energía y

calentadores comerciales. El V es emitido a la atmósfera en las formas químicas de Pentóxido de vanadio (V_2O_5), Metavanadato de amonio (NH_4VO_3), Metavanadato de sodio ($NaVO_3$), Tetróxido de vanadio (V_2O_4), Ortovanadato de sodio (Na_3VO_4), Oxitricloruro de vanadio ($VOCl_3$), Sulfato de Vanadilo ($VOSO_4$), Tetracloruro de Vanadio (VCl_4), Oxidicloruro de vanadio ($VOCl_2$), y Trióxido de vanadio (V_2O_3) (Vouk y Piver 1983).

Las concentraciones de vanadio en el petróleo crudo varían, por desgracia el petróleo venezolano y el mexicano, son los dos tipos de petróleo que presentan las mayores concentraciones de este metal. Que una vez que es procesado en la gasolina y ésta entra en combustión, puede liberarse en la atmósfera hasta un 60% de V_2O_5 en forma de partículas suspendidas (Nriagu 1998).

El vanadio es importante en diferentes industrias; en la industria metalúrgica de todo el vanadio producido de 75 a 85% es usado como aditivo en aleaciones para fabricar varios tipos de aceros; en la industria de la química orgánica e inorgánica es usado como catalizador. Se utiliza en la preparación de vidrio, de pinturas de uso común, en colorantes para fotografía y cinematografía. En la industria agrícola se emplea en la elaboración de fungicidas e insecticidas y como micro nutriente en fertilizantes (WHO 1988)

I.V.III. Exposición ambiental

La población se encuentra principalmente, expuesta al V por vía inhalada debido a la combustión de aceites residuales, petróleo, carbón, etc. (Barceloux 1999).

Además de que la absorción es hasta del 90% y se distribuye ampliamente en el organismo cuando es inhalado (WHO 2001)

La exposición ocupacional a vanadio en industrias productoras y usuarias es variable, los límites se miden y expresan en términos de V_2O_5 (PISSQ 1995). Para el personal ocupacionalmente expuesto, el límite de exposición permisible determinado por la Administración para la Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) es $0.5\text{mg}/\text{m}^3$ en el aire (Dill et al., 2004). Las concentraciones de vanadio en el ambiente son muy variables. Para la ciudad de México, se han reportado valores que alcanzan los $0.114\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ presentes en las PM_{10} y $0.093\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ presentes en las $PM_{2.5}$ (Gutiérrez-Castillo et al., 2006).

Por vía oral se estima que la ingesta diaria de vanadio en humanos es de 11 a 30 $\mu\text{g}/\text{día}$, y la cantidad de vanadio que se ingiere en el agua es de 100 $\mu\text{g}/\text{litro}$ (WHO 2001). Sin embargo, considerando estos datos, se sabe que la cantidad de vanadio absorbida por esta vía, es del 0.5 al 2% de la cantidad total ingerida (WHO 2000).

La ruta de exposición menos frecuente es la dérmica ya que el vanadio no penetra la piel humana, esto se debe a que es un compuesto metálico poco liposoluble (Barceloux 1999).

I.V.IV. Toxicocinética

La toxicidad de los compuestos de vanadio depende de una gran variedad de factores como: la ruta de administración, el tipo de compuesto, la dosis, el tiempo

de exposición y la sensibilidad del órgano (Barceloux 1999; Mukherjee et al., 2004; Evangelou 2002).

El vanadio se une a las partículas suspendidas emitidas de la industria metalúrgica y por la quema de combustibles fósiles (Ress et al., 2003). Estas partículas penetran en las vías respiratorias y son capaces de acumularse en diferentes sitios, como fosas nasales, laringe, tráquea, bronquios, bronquiolos y sacos alveolares (Rosales-Castillo et al., 2001).

Para la vía inhalada, los compuestos solubles como el V_2O_5 se absorbe en los pulmones y así alcanza rápidamente el torrente sanguíneo, en donde se reduce a vanadilo, aunque éste sufre oxidación a vanadato *in vivo*. Aproximadamente el 90% del vanadio en sangre, reside en el plasma y así el vanadilo es transportado por la albúmina y la transferina; mientras que el vanadato por la albúmina, a los diferentes órganos (Barceloux 1999; Mukherjee et al., 2004).

Después del transporte en el plasma, la distribución del vanadio en la sangre es rápida, con un tiempo de vida media de aproximadamente 1 hora. Las concentraciones más altas de vanadio aparecen inicialmente en el riñón, hígado, pulmones, hueso y dientes, siendo estos dos últimos los sitios de almacenamiento para este metal (Barceloux 1999; Mukherjee et al., 2004).

La entrada de V a las células esta mediada por el sistema de transporte de fosfatos (Baran 2003), por transportadores de cationes divalentes (Rodríguez y Altamirano 2006) o por medio de canales iónicos inespecíficos (Ster et al., 1993) Una vez en el interior de la célula, el vanadio es reducido por los sistemas

antioxidantes como el glutatión, NADPH, NADH, así como por ascorbato en presencia de oxígeno (Rodríguez- Mercado et al., 2003; García-Guevara, 1996). Y este puede inhibir la cadena respiratoria y generar especies reactivas de oxígeno (ROS) en el interior celular. Por ejemplo *in vitro* el metavanadato de sodio (NaVO_3) inhibe la actividad del complejo mitocondrial I y II y estimula la generación de ROS (Shi et al., 2011).

La eliminación del vanadio es bifásica con una fase rápida (10-20 hrs.) y una fase terminal larga (40-50 días). El vanadio que no fue absorbido es excretado por vía urinaria, que es la ruta de eliminación principal y solo una pequeña cantidad ($\leq 10\%$) es excretado por las heces (Barceloux 1999).

I.V.V. Efectos del vanadio a nivel celular

Debido a su gran similitud química con el fosfato, el vanadio puede interferir con diversos sistemas enzimáticos como la $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPasa}$, la H-K-ATPasa y $\text{Ca}^+ - \text{Mg}^+ - \text{ATPasas}$, las cuales son inhibidas en presencia de este metal (Baghavan et al., 1983; Nechay 1984). El vanadio también inhibe enzimas involucradas en la formación e hidrólisis de ATP, como la adenilato cinasa y la ATP fosfohidrolasa (Nechay 1984). Además puede interferir en procesos metabólicos como la glucólisis, al inhibir a las enzimas gliceraldehído-3- fosfato deshidrogenasa y glucosa-6-fosfato. Otras enzimas que son inhibidas por el vanadio son las ribonucleasas y ADN polimerasas de manera que el metal produce daños a nivel de síntesis de ADN (Barceloux 1999). Asimismo, el vanadio inhibe las proteínas tirosina fosfatasas (Morinville 1998).

Por otra parte, se ha reportado que el vanadio altera el balance entre oxidantes y antioxidantes en células provocando estrés oxidante. Algunas formas del vanadio como el vanadil y vanadato funcionan como radicales libres y participan en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las principales vías por las cuales se generan ROS son: el transporte de electrones que se lleva a cabo en la membrana interna mitocondrial y el complejo NADPH oxidasa (Martínez-Cayuela 1998; Nechay 1984; Zhang et al., 2001).

Los radicales libres y ROS provocan la peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas, carbohidratos y alteraciones sobre el ADN (Nechay 1984; Zhang et al., 2001). El estrés oxidante causado por el vanadio produce un efecto mayor debido a que este metal además disminuye la actividad de enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GSH) y la catalasa (Ruslanov et al., 1994).

I.V.VI. Efectos en diversos sistemas

El vanadio es un metal ampliamente distribuido en el ambiente y ejerce efectos tóxicos potentes sobre una gran variedad de sistemas biológicos (Fortoul et al., 2007a).

Como la principal vía de exposición es la inhalada, los efectos en el sistema respiratorio del personal ocupacionalmente expuesto son los más reportados. Entre los principales efectos son conjuntivitis, rinitis, estornudos, dolor de garganta, bronquitis y ataques de asma entre otros. (Cooper 2007; Barceloux 1999; Nriagu 1998; IPCS 2001). Además de presentar signos y síntomas neurológicos inespecíficos como cefalalgia, alteraciones en los reflejos y

desórdenes neurológicos (Nriagu 1998). También se han reportado efectos en el sistema cardiovascular como espasmo coronarios y arritmia sinusal, (IPCS 2000) además de desórdenes reproductivos como pérdida de la libido, impotencia y decremento de la fertilidad, (Vitarella et al., 2000; Aschner et al., 2005) hay evidencia de que el vanadio altera el proceso de la espermatogenesis, así como que incrementa la mortalidad de los espermatozoides en ratones (WHO 2000; Altamirano et al., 1993; Fortoul et al., 2007b).

Se han realizado estudios en personas ocupacionalmente expuestas a V_2O_5 quienes presentaron diversas alteraciones como lengua verde, pérdida de peso, irritación de los ojos y de la piel y necrosis de hígado (Al Bayati et al., 1992; Chen et al., 2001; Carter et al., 1997). El tejido óseo, así como el hígado y el riñón son los principales sitios donde se acumula. Se han observado cambios en los niveles sanguíneos de urea, y creatinina lo cual indica disfunción renal y aumento en los niveles séricos de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) (Cano-Gutiérrez et al., 2011) por disfunción hepática, además afecta a la inhibición de la gluconeogénesis en los túbulos renales así como también en los hepatocitos (Avila-Casado et al., 2007).

Por otro lado el vanadio se asocia a procesos de estrés oxidante siendo sus principales órganos blanco el hígado y el riñón (Fortoul et al., 2007a).

La Agencia Internacional para la investigación del Cáncer (IARC) clasifica al pentóxido de Vanadio como un posible carcinógeno para humanos y se encuentra enlistado en el grupo 2B (SCB 2004). Existen estudios que reportan

que el vanadio ocasiona carcinomas, adenomas, papilomas y fibrosis (WHO 2000; Morinville et al., 1998; Ress et al., 2003).

I.V.VII. Efecto del vanadio en sistema nervioso central

La exposición a compuestos que contienen vanadio se ha asociado a diversas alteraciones en la morfología y la fisiología del sistema nervioso central, que tienen consecuencias a nivel cognoscitivo y afectivo. La sobreexposición a vanadio en humanos se ha asociado a enfermedades maniaco depresivas (Naylor et al., 1984) y en roedores a deficiencias en habilidades visuo-espaciales y aprendizaje (Barth et al., 2002).

Parsadonian y cols. (1998), observaron que este elemento comparte características químicas con el fósforo, por lo que puede competir con éste, siendo un factor importante que perturba el metabolismo del fósforo en el tejido nervioso.

En otro estudio realizado para determinar el efecto tóxico inducido por el vanadio en ratas Wistar lactantes, se demostró que la administración del vanadio (NaVO_3) produjo disminución de la mielina del cuerpo calloso y cerebelo, sugiriendo que el vanadio podría inducir neurotoxicidad en el desarrollo del sistema nervioso central de las ratas (Soazo y García 2007).

En el modelo de exposición a V_2O_5 0.02 M por vía inhalada se observó que la concentración de vanadio en el cerebro del ratón se estabiliza entre 0.1 y 0.15 mg/g de tejido seco, después de la primera semana. Dicha concentración se mantiene durante el periodo de exposición (cuatro semanas) y conduce a diversas

alteraciones en la vía nigroestriatal (pérdida de células inmunopositivas a tirosina hidroxilasa en la sustancia nigra y pérdida de espinas dendríticas en las neuronas espinosas medianas del estriado), pérdida de cilios en las células endodiales que revisten el piso del cuarto ventrículo y desprendimiento de la membrana basal y alteración en la memoria espacial, pérdida de espinas dendríticas y necrosis de neuronas piramidales de CA1 de hipocampo (Ávila-Costa et al., 2004, 2005, 2006).

I.V.VIII. Efectos del Pentóxido de Vanadio en el bulbo olfatorio

En este mismo modelo de exposición por vía inhalada se observó que los ratones CD-1 expuestos a V_2O_5 por periodos de una a doce semanas presentaban decremento significativo en el número de espinas dendríticas y en el tamaño del soma de las células de la capa granular del Bulbo Olfatorio (Aguirre et al., 2002; Mondragón et al., 2003). A partir de la segunda semana de exposición estas células presentaron invaginaciones nucleares, aparato de Golgi y retículo endoplásmico dilatados, mitocondrias electrón-densas, gránulos de lipofucsina y necrosis (Colín-Barenque et al., 2003, 2004). Peralta García y cols. (2004), observaron que las neuronas de los ratones hembras expuestas a V_2O_5 presentan mayor número de espinas dendríticas en las células granulosas comparadas con los ratones machos, lo cual podría asociarse al efecto neuroprotector de los estrógenos.

Considerando que el bulbo olfatorio tiene gran plasticidad Colín-Barenque y cols. (2005), en el mismo modelo, determinaron si las alteraciones ultraestructurales

producidas por la exposición a pentóxido de vanadio se atenuaban en un periodo de recuperación de 4 semanas, encontrando que los animales expuestos a pentóxido de vanadio y mantenidos a un periodo de recuperación; presentaron menor porcentaje de células granulosas con alteraciones ultraestructurales que los animales sin recuperación. Moscoso (2010), observó recuperación morfológica y funcional en el bulbo olfatorio de ratones macho y hembra en un periodo de dos meses sin exposición al metal.

I.VI. Contaminación atmosférica y olfato.

Las vías olfatorias sirven como una ruta para la deposición, absorción y transporte de metales dentro del sistema nervioso central (Tjälve y Tallkuist 2003). La contaminación en las grandes ciudades ha sido una de las principales causas por las cuales la población ha presentado alteración en la capacidad olfatoria, ya que estos se exponen tanto a ozono, y algunos otros metales entre ellos el vanadio, dañando el bulbo olfatorio y afectando el rendimiento de olfacción (Hudson et al., 2006; Cervantes, 2009), lo cual también se ha asociado a enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson, ya que uno de sus primeros síntomas es la pérdida de la olfacción (Doty 2009).

El epitelio olfatorio (EO), es responsable de la limpieza y acondicionamiento del aire inhalado. Aunque la localización superficial del epitelio olfatorio en la cavidad nasal permite que las neuronas sensoriales olfatorias (NSO) interaccionen con mayor facilidad con los odorantes, dicha localización tiene como consecuencia que estas neuronas estén expuestas a contaminantes, alergenicos, microorganismos y

otras sustancias (Purves et al., 2001), siendo una buena fuente de material para la investigación de la exposición a los contaminantes en el aire. Como los seres humanos respiran por la nariz, el epitelio nasal es el sitio inicial de la lesión inducida por la inhalación de contaminantes, y un lugar para la deposición de partículas (Calderón-Garcidueñas et al., 1995).

Las células en el epitelio olfatorio tienen la capacidad de mover de forma exógena y endógena las moléculas, sustancias tóxicas y metales ionizados, como el manganeso (Mn), el hierro (Fe) y el cadmio (Cd), en el cerebro y la sangre mediante sistemas especiales de transporte, incluyendo el transportador de metales divalentes 1, transporte de aniones orgánicos 6 (SLC22A20), y el transportador de metales ZIP8 y ZIP14 (SLC39A8 y SLC39A14) (Genter et al., 2009).

I.VII. Metales y sistema olfatorio

La exposición ocupacional a la inhalación de ciertos polvos de metal o de aerosoles puede causar la pérdida de la agudeza olfatoria, atrofia de la mucosa nasal, úlceras en la mucosa, tabique nasal perforado, o cáncer de senos paranasales (Sunderman 2001).

Diversos estudios de exposición laboral en trabajadores expuestos a la inhalación de cadmio (Cd) y níquel (Ni), han presentado disfunciones olfatorias, tales como: pérdida completa del sentido del olfato (anosmia), pérdida parcial del olfato (hiposmia), dificultad en la percepción de olores (disosmia) y percepción de olores inexistentes (fantosmia) (Sunderman 2001). La perforación en el tabique nasal se

presentó en trabajadores expuestos a mercurio (Hunter 1969). Perforaciones en el tabique nasal, se observaron a lo largo del siglo XX en los trabajadores expuestos a la inhalación de Cr (VI) y también en las personas expuestas a inhalación de As (III). Estas lesiones generalmente se inician como una ulceración de la mucosa nasal (Sunderman 2001).

En el año de 1979 Kiviluoto y cols., reportaron en 63 mujeres expuestas ocupacionalmente a la inhalación a vanadio, presentaron rinoscopia normal, pero las biopsias de la mucosa nasal mostraron hiperplasia epitelial e infiltrados epiteliales de células mononucleares.

I.VIII. Enfermedades neurodegenerativas y alteraciones olfatorias.

Asociación con los metales.

Las Enfermedades Neurodegenerativas agrupan una serie de enfermedades que alteran el sistema nervioso en su estructura y función de inicio insidioso y curso lento y progresivo, estas son muy heterogéneas en cuanto a sus síntomas y hallazgos anatomopatológicos. Se desconocen las causas que provocan la pérdida de neuronas en las enfermedades neurodegenerativas (Peinado et al., 2000)

En las últimas décadas, la evaluación de la función olfatoria se ha trasladado de la investigación del laboratorio a la práctica clínica, y actualmente es un instrumento útil para la detección de estadios tempranos de enfermedades en las que el deterioro de esta función es uno de sus primeros síntomas. La alteración en la función olfatoria (hiposmia) puede preceder a los trastornos motores en la

enfermedad de Parkinson y el deterioro cognitivo en la enfermedad de Alzheimer (Fusari y Molina 2009).

La enfermedad del Parkinson, es una afección cerebral degenerativa (Kim y Tong 2006) caracterizada por progresiva y profusa pérdida de neuronas en la sustancia nigra pars compacta y la consecuente pérdida de sus fibras proyectadas en el estriado (Kim y Tong 2006) gliosis, y presencia de cuerpos de Lewy (Formo 1990). Entre los síntomas más prevalentes y tempranos de esta enfermedad es la hiposomía, lo cual se debe en parte a un cambio de dopamina en el bulbo olfatorio además de la reducción significativa del número de células positivas a tirosina hidroxilasa (Huisman et al., 2008). La enfermedad de Alzheimer, se caracteriza por deterioro cognitivo progresivo inicialmente leve, con problemas de la memoria y que conduce al deterioro global de la persona.

Los virus, los metales en aerosol, las toxinas y las partículas suspendidas, se encuentran entre los factores de riesgo más frecuentes del ambiente para que se desarrollen las Enfermedades de Alzheimer y la de Parkinson (Brown et al., 2005).

Las enfermedades neurodegenerativas se han asociado a reacciones oxidativas, las cuales son mediadas por los llamados 'radicales libres' y 'especies reactivas de oxígeno, que generan los seres vivos como resultado del metabolismo aerobio y cuya producción aumenta ante cualquier lesión tisular. También intervienen los metales de transición (que tienen diversos estados de valencia) a través de su reacción con el peróxido de hidrógeno. Por otra parte, los organismos vivos poseen algunos mecanismos defensivos contra las reacciones oxidativas. La

presencia de estrés oxidativo se debe a un exceso de producción de sustancias prooxidantes, y al déficit de mecanismos de defensa contra la oxidación, o a ambos factores a través de su reacción con el peróxido de hidrógeno (Jiménez-Jiménez 2006). En las enfermedades de Alzheimer y de Parkinson se ha compilado mayor evidencia, encontrándose un desbalance metabólico, presencia de estrés oxidante, alteraciones celulares crónicas y muerte neuronal. En estas enfermedades, las áreas del cerebro afectadas como son el hipocampo en el caso de la enfermedad de Alzheimer y la sustancia nigra en la enfermedad de Parkinson contienen niveles anormales de metales como el hierro, cobre y aluminio, entre otros, los cuales presentan actividad redox. Un exceso de estos metales, se sabe que pueden producir estrés oxidante y dañar proteínas, ácidos grasos poliinsaturados, ADN y ARN en ambas enfermedades (Sayre et al., 2008).

I.IX. Sistema olfatorio

El sistema olfatorio de los mamíferos es quizás el detector químico más complejo que existe. Este es el discriminador entre una inmensa y diversa variedad de olores. Existen más de 10, 000 moléculas odorantes agrupadas en muchas clases y estructuras químicas, desde cadenas simples de moléculas orgánicas alifáticas hasta largas y complejas moléculas aromáticas con múltiples grupos funcionales. En muchos casos el cambio de un solo átomo de carbono hace la diferencia entre un olor y otro; en otros, las interacciones químicas producen percepciones olfativas similares entre moléculas muy diferentes (Purves 2001).

Las funciones olfatorias se pueden situar básicamente en dos contextos distintos: el sociosexual y reproductivo por un lado, y el alimenticio, por el otro. En el primer caso, la percepción de los olores de congéneres les permite a los organismos determinar el sexo, la jerarquía social y el periodo reproductivo de una pareja potencial e incluso el estado de salud y consanguinidad de sus congéneres. El aprendizaje olfatorio es determinante para establecer vínculos de pareja (Brennan y Cantor 1995) y de tipo de madre cría (Kendrick et al., 1997) en diversas especies. Para la mayoría de los mamíferos los olores constituyen el principal estímulo sexual. En cuanto al contexto alimenticio, la detección de olores es fundamental para la formación de los hábitos de consumo; el olfato incluso más que el gusto, confiere a la comida cualidades afectivas de agrado o desagrado sobresalientes.

I.IX.I. Mucosa Olfatoria

La mucosa olfatoria está constituida por el epitelio olfatorio (EO) que contiene los quimiorreceptores, y por la lámina propia. En el ser humano, como también en los demás animales microsmáticos (no tienen altamente desarrollado el sentido del olfato, a diferencia de los macrosmáticos), el epitelio olfatorio ocupa una pequeña superficie; cubre aproximadamente 5cm^2 del receso posterior dorsal de cada fosa nasal. Bajo el epitelio olfatorio subyace una delgada lámina propia conjuntiva o submucosa, en la cual se encuentran las glándulas de Bowman, los axones olfatorios que conforman las fibras nerviosas olfatorias y vasos sanguíneos (Figura 1) (Gartner 1997).

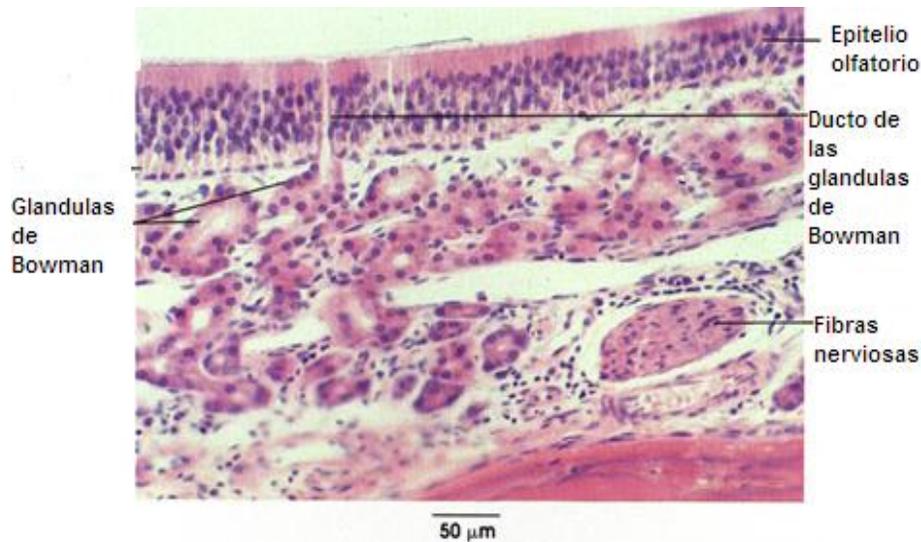


Figura 1. Vista histológica de la mucosa olfatoria (Atlas de Anatomía; Ronald A. Bergman, 1995).

I.IX.II. Epitelio olfatorio

El EO o neuroepitelio es un tejido en el cual las dendritas de las neuronas sensoriales olfatorias están en contacto con el medio ambiente en la cavidad nasal cuyos axones proyectan a los glomérulos del bulbo olfatorio (Figura 2).

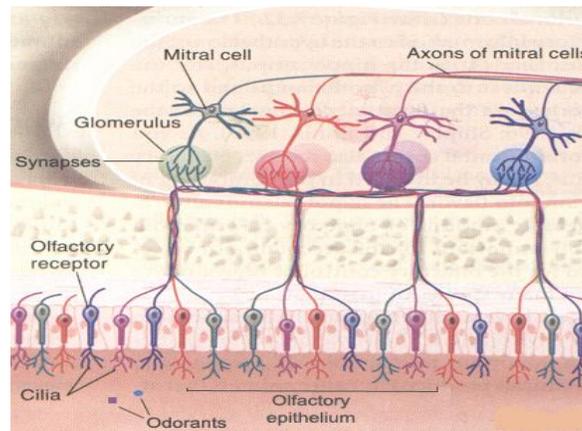


Figura 2. Vista del epitelio y bulbo olfatorio, la cual muestra las proyecciones axonales del epitelio olfatorio al bulbo olfatorio (Carpenter, 1978).

El EO se presenta como un epitelio cilíndrico pseudoestratificado que contiene diferentes tipos de células; las células de soporte, células basales, neuronas

inmaduras y neuronas sensoriales maduras (Carr y Farbman 1993) (Figura 3). Las células basales se distinguen histológicamente en dos tipos las células basales horizontales y las células basales globosas, se replican de forma constante cada 30-60 días, aproximadamente. La maduración final ocurre cuando el axón de la neurona olfatoria hace sinapsis en el bulbo olfatorio y sus dendritas alcanzan la superficie de la mucosa olfatoria, localizándose en los estratos más superficiales, junto a las células de soporte.

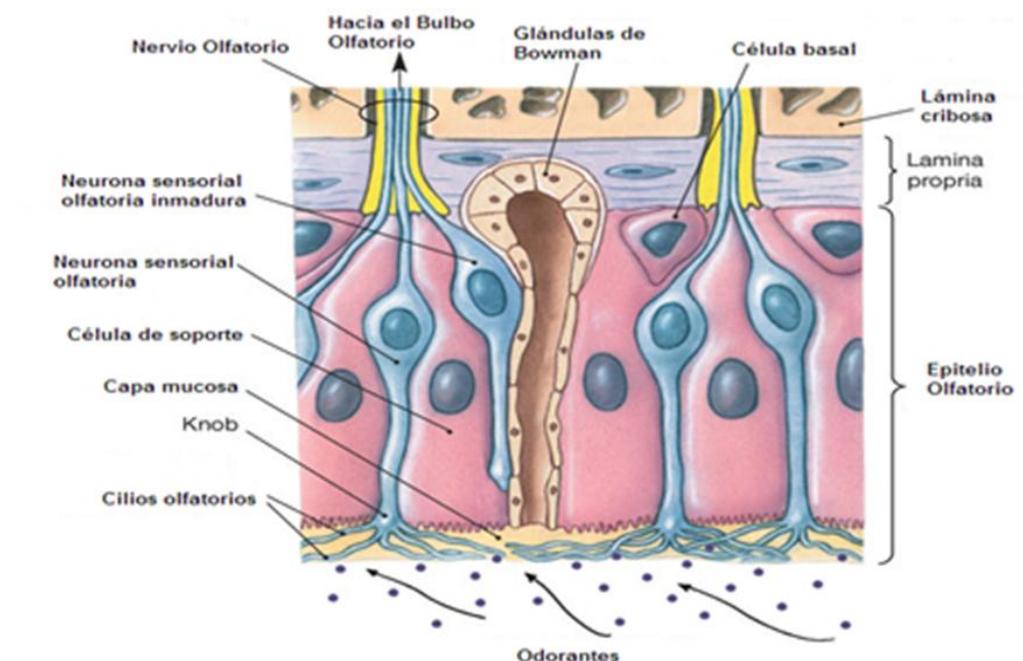


Figura 3. Vista de la mucosa olfatoria. En donde se presentan los tipos celulares presentes en el epitelio olfatorio y las glándulas de Bowman. (Modificado de Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings. 2003)

El sentido del olfato depende de la interacción de los estímulos odoríferos con el epitelio olfatorio. Las moléculas odoríferas se detectan cuando alcanzan la membrana o epitelio olfatorio, situado en la parte superior de cada fosa nasal. Esta

membrana es un área sensible que contiene unos 10-20 millones de neuronas receptoras olfatorias, cuya misión es la de enviar mensajes directamente al bulbo olfatorio. Cada neurona bipolar está cubierta al menos por 10 cilios que se proyectan hacia una capa mucosa situada en la región más superficial de la membrana olfatoria. Estos cilios incrementan la superficie funcional y, por tanto, la capacidad de detección (Fusari y Molina 2009).

Los receptores olfatorios se localizan sobre los cilios de las neuronas maduras y aproximadamente son codificados por 1.000 genes diferentes. Los receptores de los cilios transforman las señales químicas de los distintos aromas en respuestas eléctricas. Cada neurona olfatoria expresa un único tipo de receptor. Una anosmia específica podría ser el resultado de la incapacidad, por parte de los cilios, de sintetizar la proteína apropiada (Hadley et al., 2004).

I.IX.III. Lamina propia

El neuroepitelio se halla separado de la lámina propia (formada por tejido conectivo) por una membrana basal. Dicha membrana basal es atravesada por los axones de las neuronas y por las glándulas productoras de moco, llamadas glándulas de Bowman (Figura 3). Este moco está constituido por:

- Agua.
- Mucopolisacáridos
- Proteínas.
- Enzimas.
- OBP (Proteínas de unión a fragancias).

- Olfatomedinas (Factores neurotróficos que favorecen la transformación de las células basales).

En la lámina propia o submucosa, además de las glándulas de Bowman, se localizan las células envainadoras, que recubren a los axones de las neuronas olfatorias hasta alcanzar el bulbo. Los axones de las neuronas olfatorias, amielínicos, forman el primer par craneal o nervio olfatorio. Este nervio atraviesa a la lámina cribosa, alcanzando el bulbo olfatorio, donde tiene lugar la sinapsis (Fusari y Molina 2009).

I.IX.IV. Vías olfatorias

Los axones de las NSO proyectan hacia el bulbo olfatorio a través de la lámina cribosa, formando el nervio olfatorio y hacen sinapsis en los glomérulos sobre dendritas apicales de células mitrales en el bulbo olfatorio. Las neuronas de proyección del BO envían sus axones (las vías laterales olfatorias) a las diferentes estructuras de la corteza olfatoria, entre ellos el núcleo olfatorio anterior, la tectia tecta, el tubérculo olfatorio, la corteza piriforme, el complejo amigdalino, la corteza entorrinal, y el núcleo del tracto olfativo lateral. Las principales conexiones intracorticales se dirigen hacia las partes de la corteza cerebral, el hipocampo, el tálamo y el hipotálamo, así como a la neocorteza y la corteza olfativa contralateral (de Castro 2009) (Figura 4).

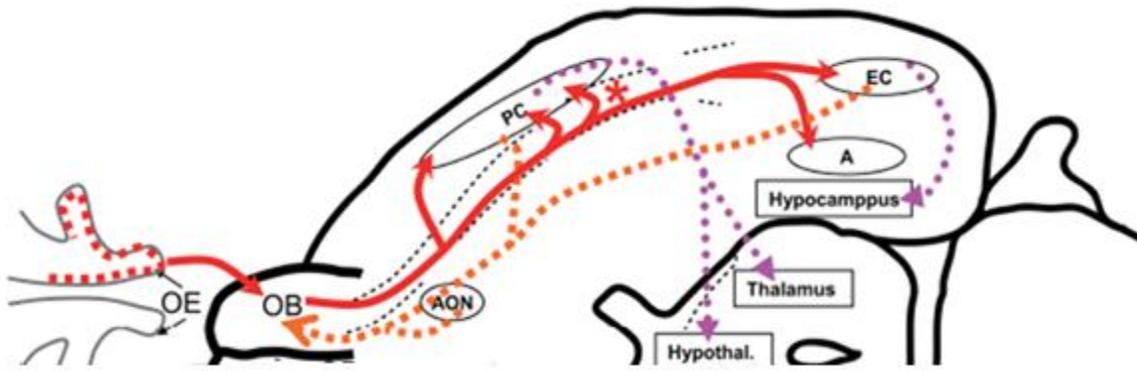


Figura 4. Esquema de las vías olfativas centrales del cerebro de ratona (Corte axial) (de Castro 2009).

II. JUSTIFICACIÓN

El vanadio es un metal cuyas concentraciones en la atmósfera de la Ciudad de México han aumentado en las últimas décadas como consecuencia del incremento en la quema de combustibles fósiles. El pentóxido de vanadio tiene efectos adversos sobre el bulbo olfatorio. Se ha reportado decremento en el número de espinas dendríticas, necrosis y apoptosis observando diferencias por sexo y recuperación funcional y morfológica en las neuronas granulosas del BO. Debido a la aferencia directa del epitelio olfatorio a dicha estructura, toma importancia evaluar las alteraciones en la citología de la mucosa olfatoria, ocasionadas por la exposición subcrónica a V_2O_5 y determinar si existe recuperación posterior a la exposición en ratones macho y hembra.

III. HIPÓTESIS

Si el Vanadio causa daño y muerte neuronal en el bulbo olfatorio, entonces la exposición a este metal puede causar alteraciones en la mucosa olfatoria.

IV. OBJETIVO

IV.I. Objetivo general

- Determinar las alteraciones en la citología de la mucosa olfatoria, producidas por la inhalación subcrónica de pentóxido de vanadio y evaluar si existe recuperación postexposición en ratones macho y hembra.

IV.II. Objetivo particular

- Determinar las alteraciones citológicas en la mucosa olfatoria de ratones macho y hembra después de 4 semanas de exposición a vanadio, y expuestos a vanadio y mantenidos 8 semanas postexposición libres del metal, mediante la técnica Kluver-Barrera

V. MATERIAL Y MÉTODO

V.I. Animales

Se utilizaron 18 ratones machos y 18 ratones hembras de la cepa CD-1 con peso de 30 a 35 gramos, los cuales se mantuvieron en cajas de acrílico bajo condiciones de luz (12h de luz / 12 de oscuridad) y alimentados con *Purina Rat Chow* y agua *ad Libitum*.

V.II. Exposición a pentóxido de Vanadio

Diferenciados por sexos se formaron tres grupos: 1) control (n=6) inhalaron solución fisiológica; 2) experimental (n=6) expuestos a una concentración 0.02 M de V_2O_5 (Sigma-Aldrich) por vía inhalada y 3) y expuestos a V_2O_5 0.02 M por vía inhalada y mantenidos 8 semanas sin exposición al metal (n=6). Las exposiciones se llevaron a cabo en una caja de acrílico conectada a un ultranebulizador, que emite vapor de solución fisiológica o de solución de V_2O_5 0.02 M con un flujo continuo de 10 L/minuto. Una hora dos veces por semana durante un mes. Concluidas las cuatro semanas de exposición se sacrificaron 3 ratones controles de cada sexo y 6 ratones expuestos por cada sexo. Transcurridos 8 semanas post-inhalación, se sacrificaron 3 ratones controles y 6 experimentales de cada sexo.

V.III. Sacrificio

Todos los ratones se anestesiaron con pentobarbital sódico (35 mg/Kg), posteriormente se perfundieron vía intra-cardiaca, donde se pasó solución salina 0.9%, después paraformaldehído al 4%.en buffer fosfatos 0.1M pH 7.4. Se les

extrajo el meato nasofaríngeo, se colocaron en solución de paraformaldehído 4 % durante un día a 4° C. Al día siguiente se descalcificaron con solución de EDTA al 7% durante 7 días y posteriormente se procesaron mediante la técnica histológica ordinaria. Se realizaron cortes a 8 µm de grosor y se procesaron con la técnica de Klüver-Barrera.

V.IV. Análisis citológico

Los cortes obtenidos se observaron en un microscopio óptico y se realizó el análisis citológico cualitativo y cuantitativo.

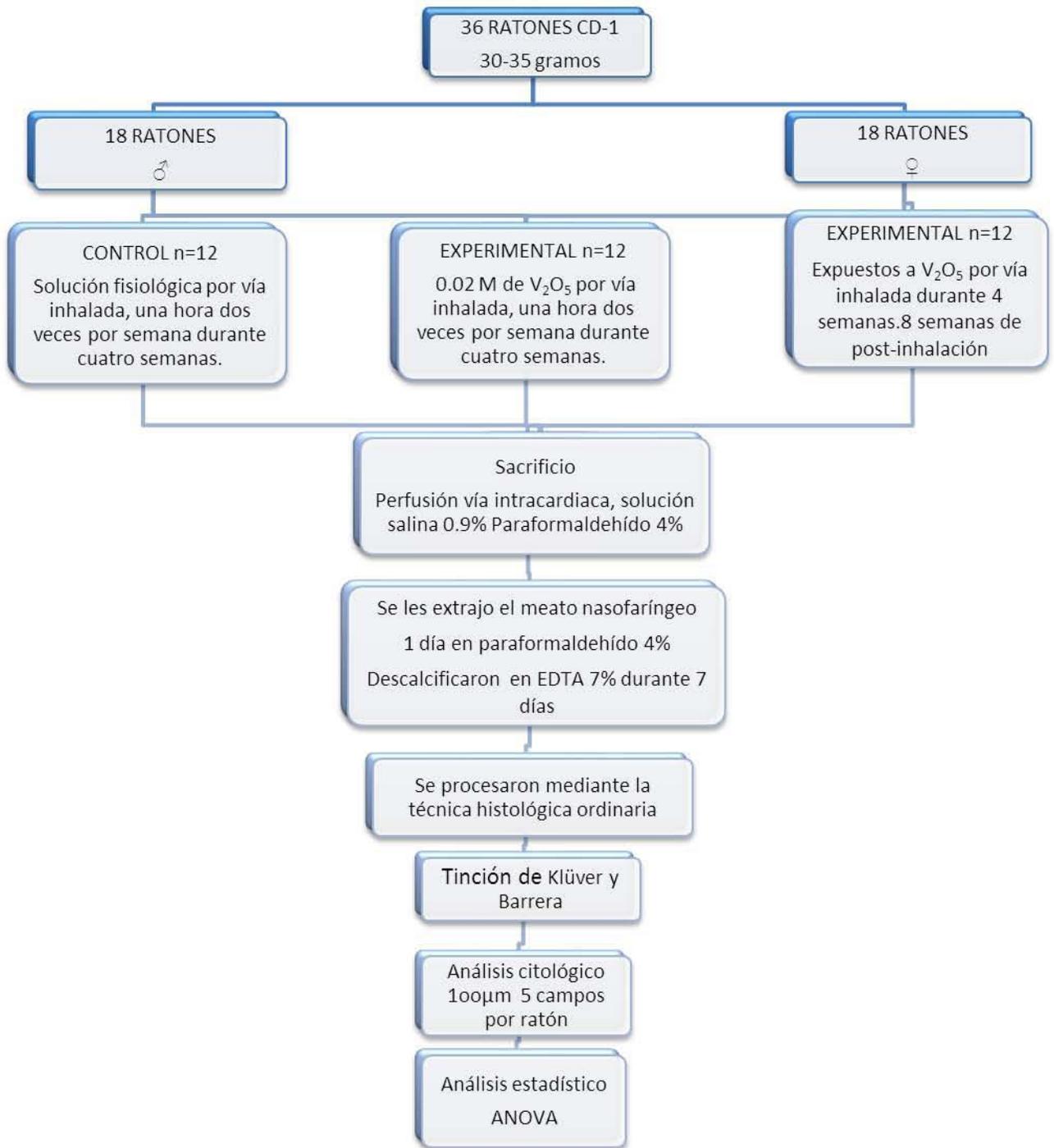
Para el análisis citológico cualitativo se analizó la citología del epitelio y mucosa olfatoria; de los grupos controles, expuestos y postexposición de ambos sexos.

Para el análisis histológico cuantitativo se tomaron 5 campos por ratón de 100 µm donde se cuantificó la muerte celular y picnosis en el epitelio olfatorio; en todos los grupos.

V.V. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de ANOVA con un nivel de significancia de $p < 0.001$. Para comparar si existen diferencias entre los grupos utilizados.

Figura 5. Representación esquemática del método



VI. RESULTADOS

VI.I. Análisis citológico cualitativo

El análisis citológico cualitativo se realizó, observando las muestras citológicas, tomando en cuenta las principales características morfológicas de la mucosa olfatoria, y comparando si existían diferencias entre los grupos control, expuesto y recuperado para cada sexo.

VI.I.I. Epitelio olfatorio

En el análisis citológico del epitelio olfatorio, las alteraciones morfológicas más evidentes, fueron: desorganización celular, picnosis y muerte celular. Las cuales se observaron en los ratones machos y hembras expuestos a V_2O_5 al compararlos con el grupo control (Figuras 6 y 7).

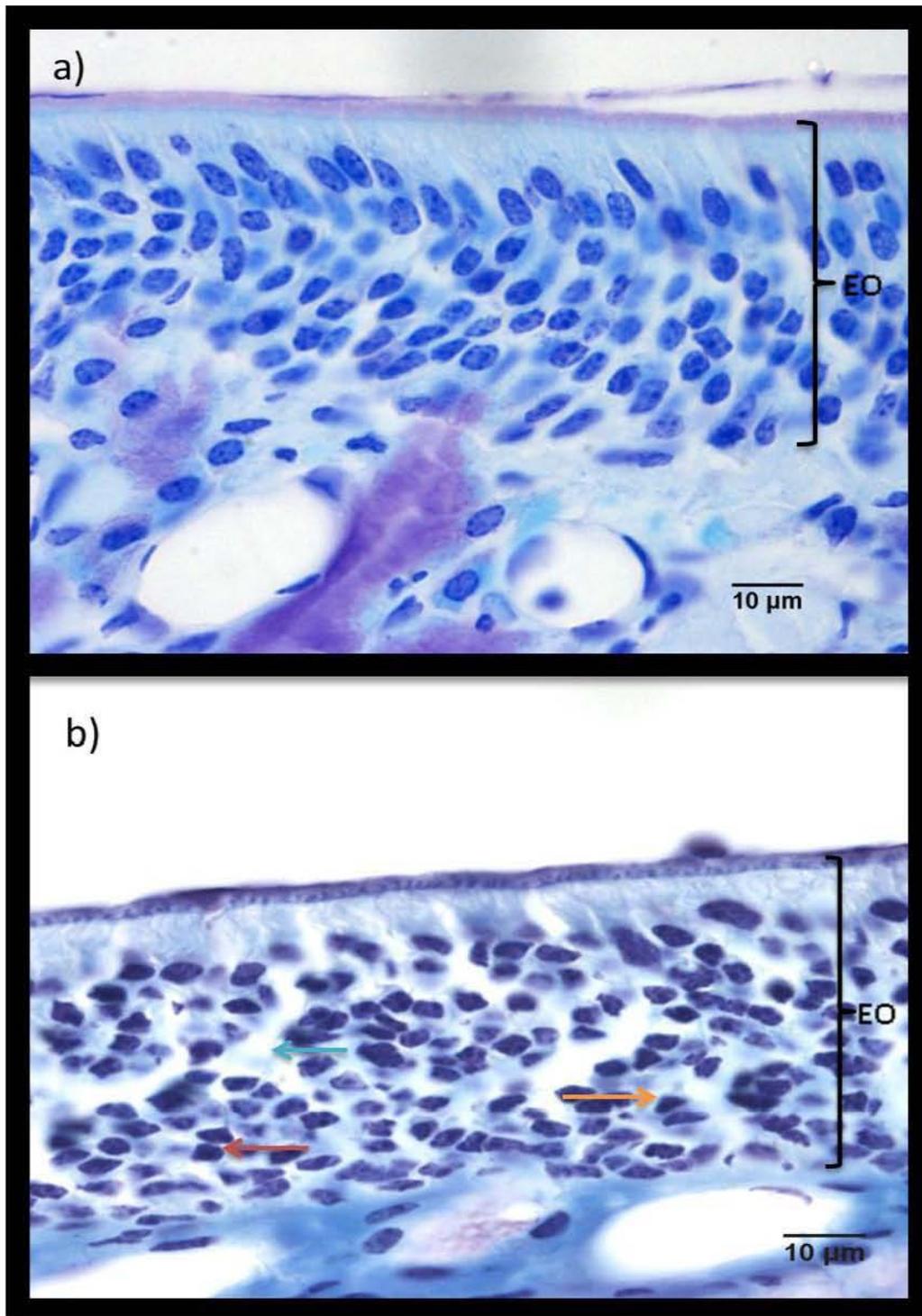


Figura 6. Mucosa olfatoria de ratones macho 1000x. a) EO de un ratón control. b) EO de un ratón expuesto durante 4 semanas a V_2O_5 , presenta desorganización celular, (←) picnosis (→) y muerte celular (←).

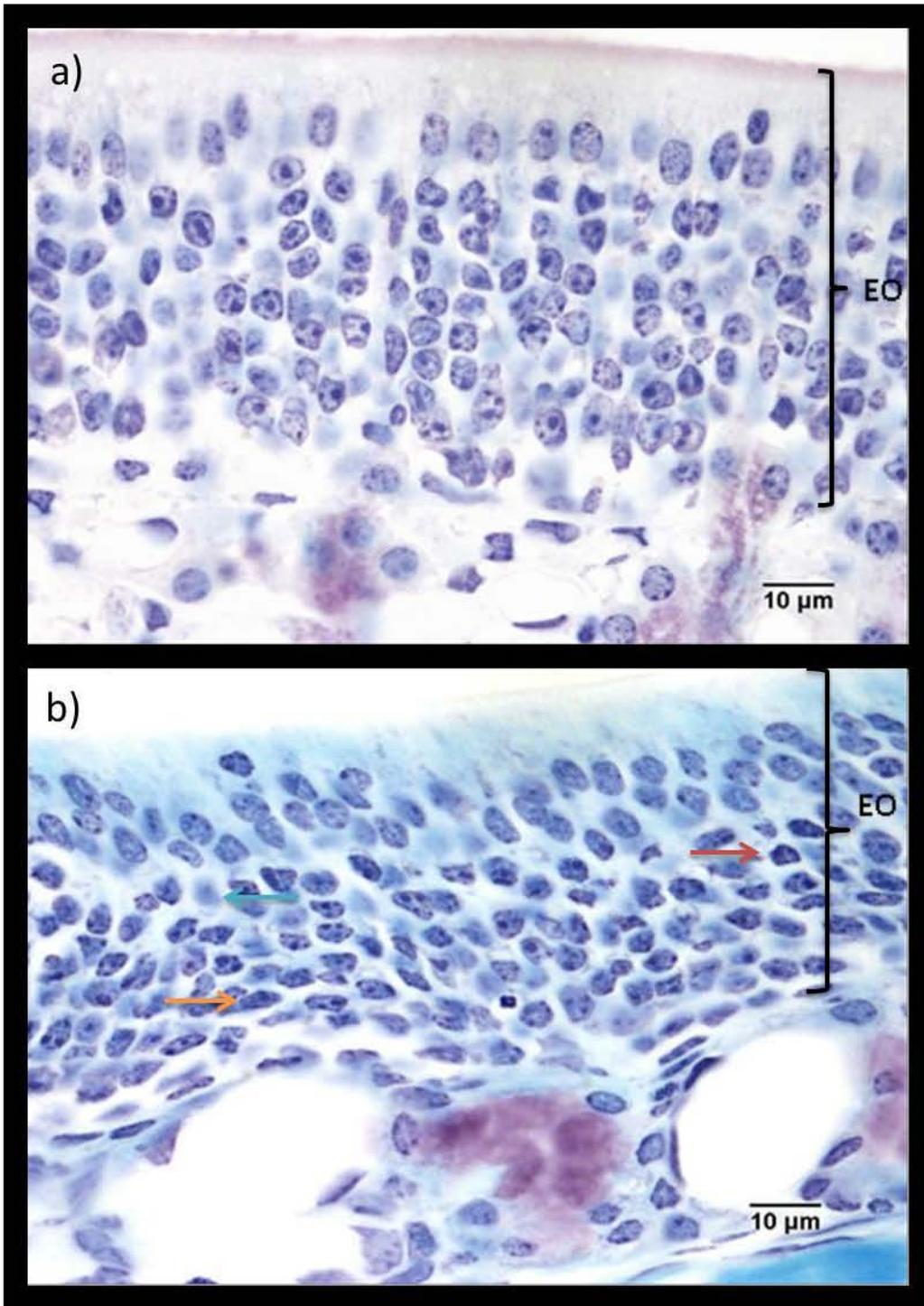


Figura 7. Mucosa olfatoria de ratones hembra 1000x. a) EO de un ratón control. b) EO de un ratón expuesto durante 4 semanas a V_2O_5 , presenta desorganización celular, (←) picnosis (→) y muerte celular (→).

Los ratones expuestos a V_2O_5 y que se mantuvieron sin exposición al metal durante ocho semanas presentaron características morfológicas en el epitelio olfatorio muy similares al grupo control (Figura 8 y 9).

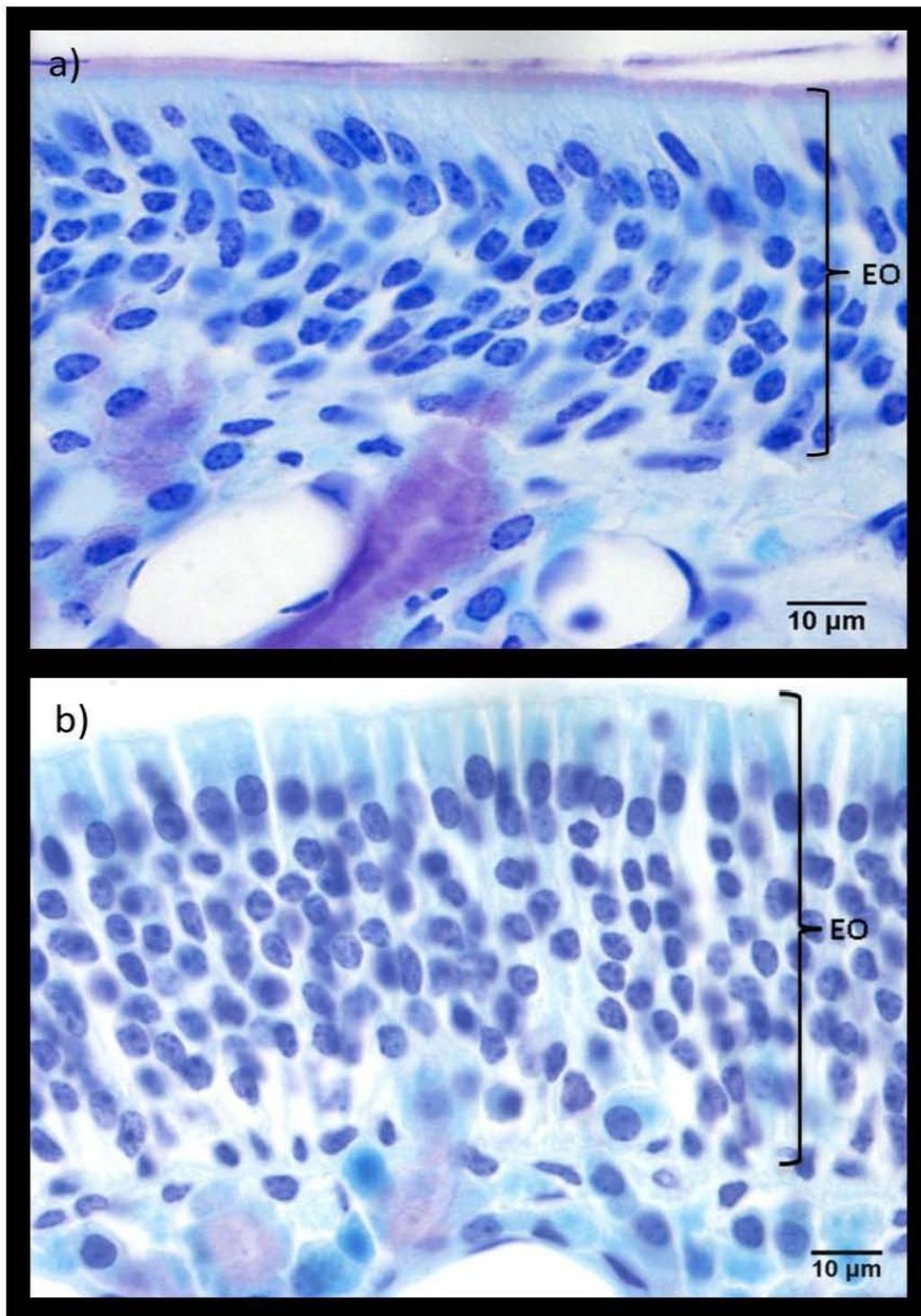


Figura 8. Mucosa olfatoria de ratones macho 1000X. a) EO de ratón control b) EO de ratón del grupo de post-inhalación

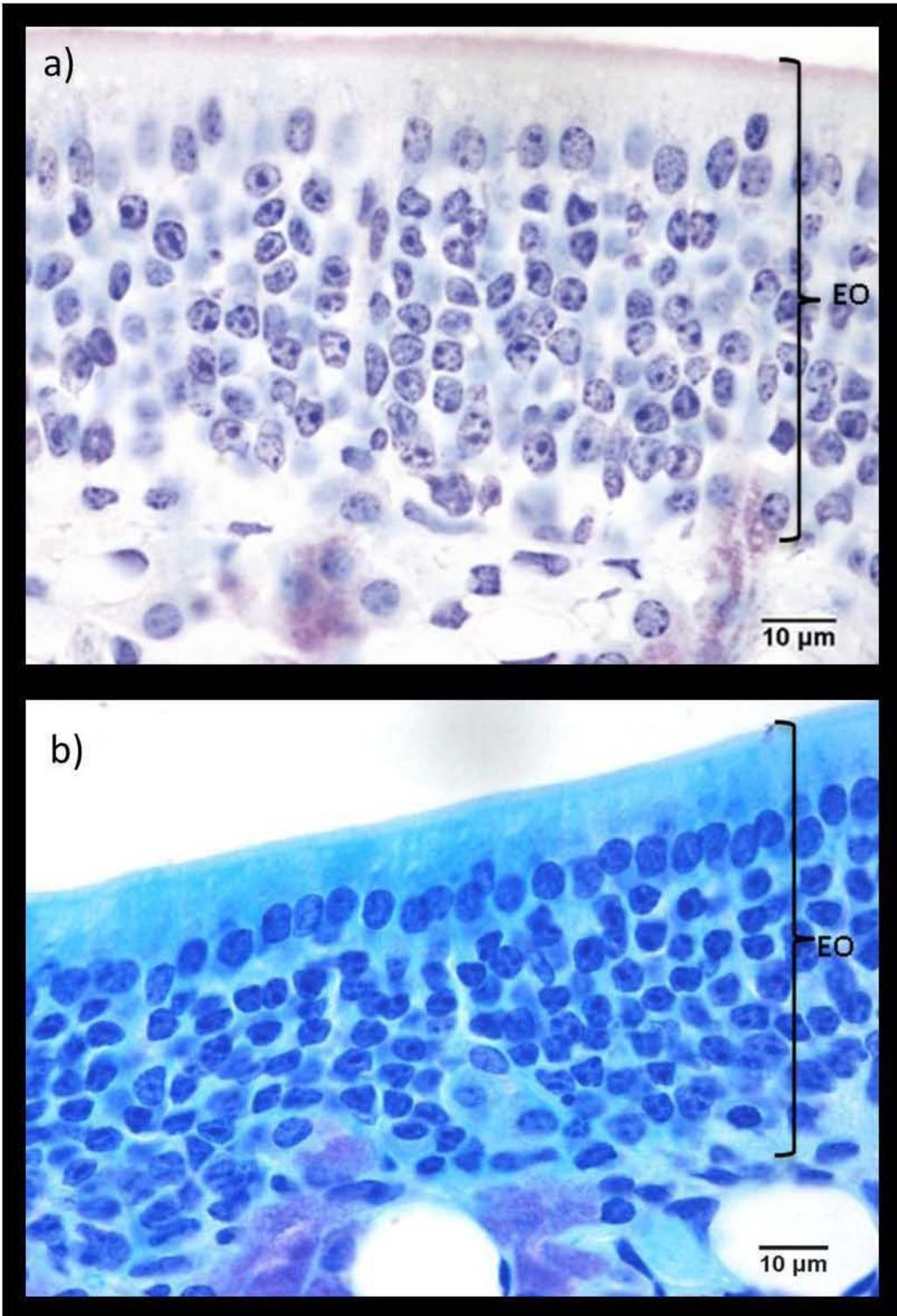


Figura 9. Mucosa olfatoria de ratones hembra 1000X. a) EO de ratón control b) EO de ratón del grupo de post-inhalación

VI.I.II Glándulas de Bowman

Al observar las glándulas de Bowman en la submucosa de ratones machos y hembras y comparar entre grupo control y grupo expuesto se observó que en este último, las glándulas de Bowman presentan vacuolización (Figura 10 y 11).

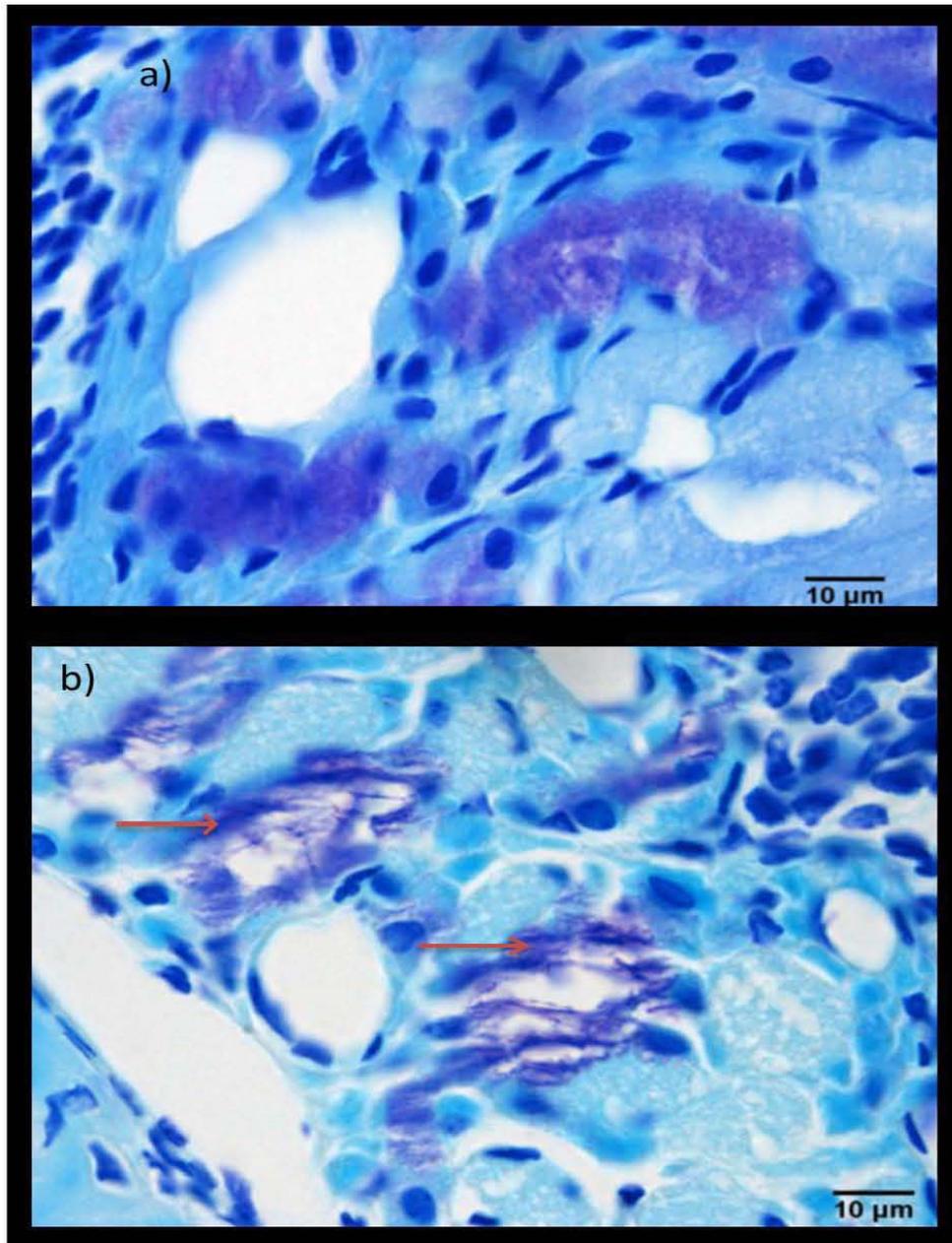


Figura 10. Submucosa olfatoria de ratones macho 1000X. En morado se observan las Glándulas de Bowman a) Glándulas de Bowman de ratón control b) las flechas rojas muestran la vacuolización de las glándulas de Bowman en el grupo expuesto a V₂O₅ durante cuatro semanas.

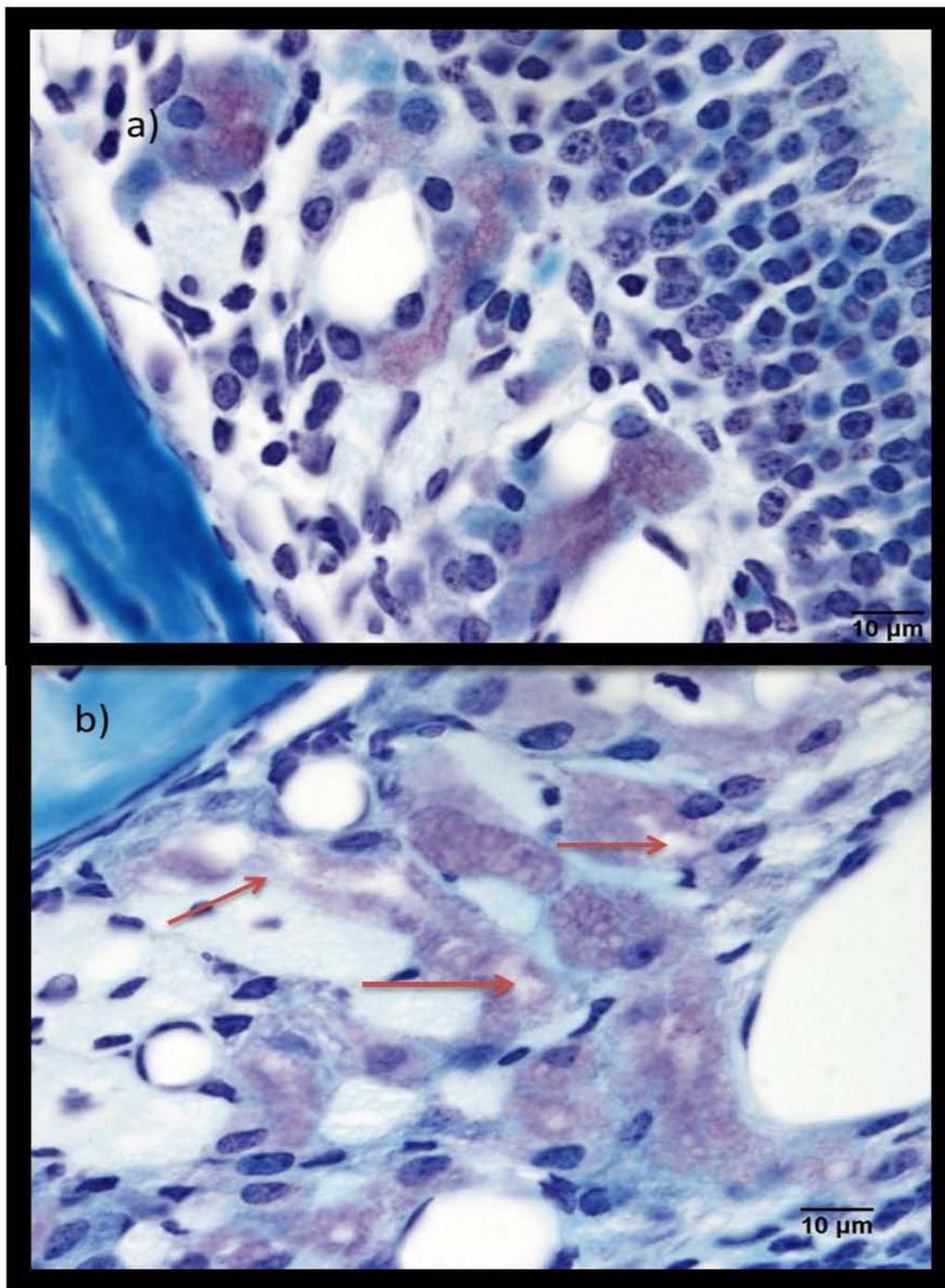


Figura 11. Submucosa olfatoria de ratones hembra 1000X. En morado se observan las Glándulas de Bowman a) Glándulas de Bowman de ratón control b) las flechas rojas muestran la vacuolización de las glándulas de Bowman en el grupo expuesto a V₂O₅ durante cuatro semanas.

En ambos sexos, se observó que los grupos expuestos y que se mantuvieron sin exponer a Vanadio durante dos meses, las características morfológicas de las glándulas de Bowman se asemejan al grupo control (Figura 12 y 13).

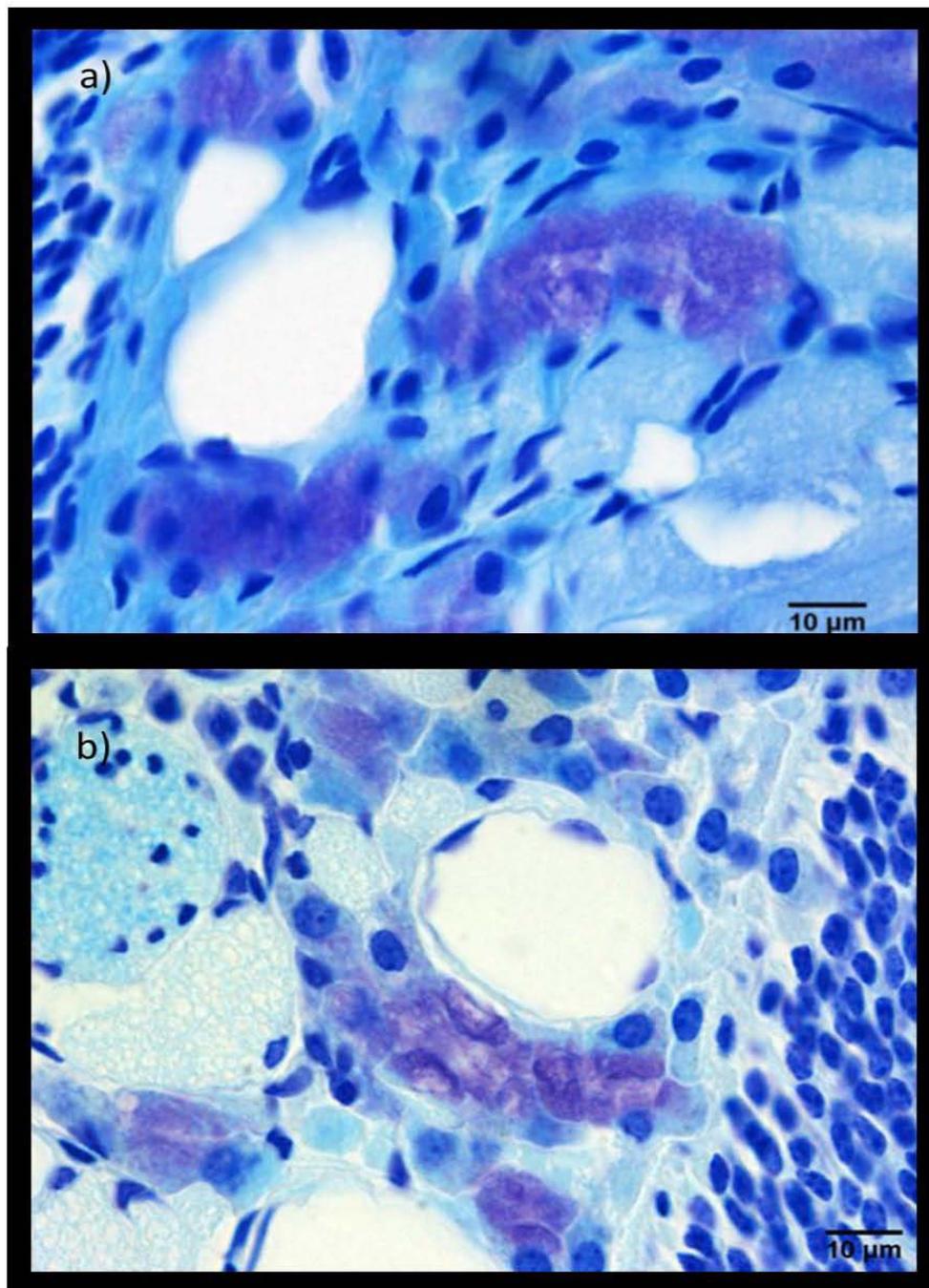


Figura 12. Submucosa olfatoria de ratones macho 1000X. En morado se observan las Glándulas de Bowman a) Glándulas de Bowman de ratón control b) Glándulas de Bowman de ratón del grupo de postinhalación.

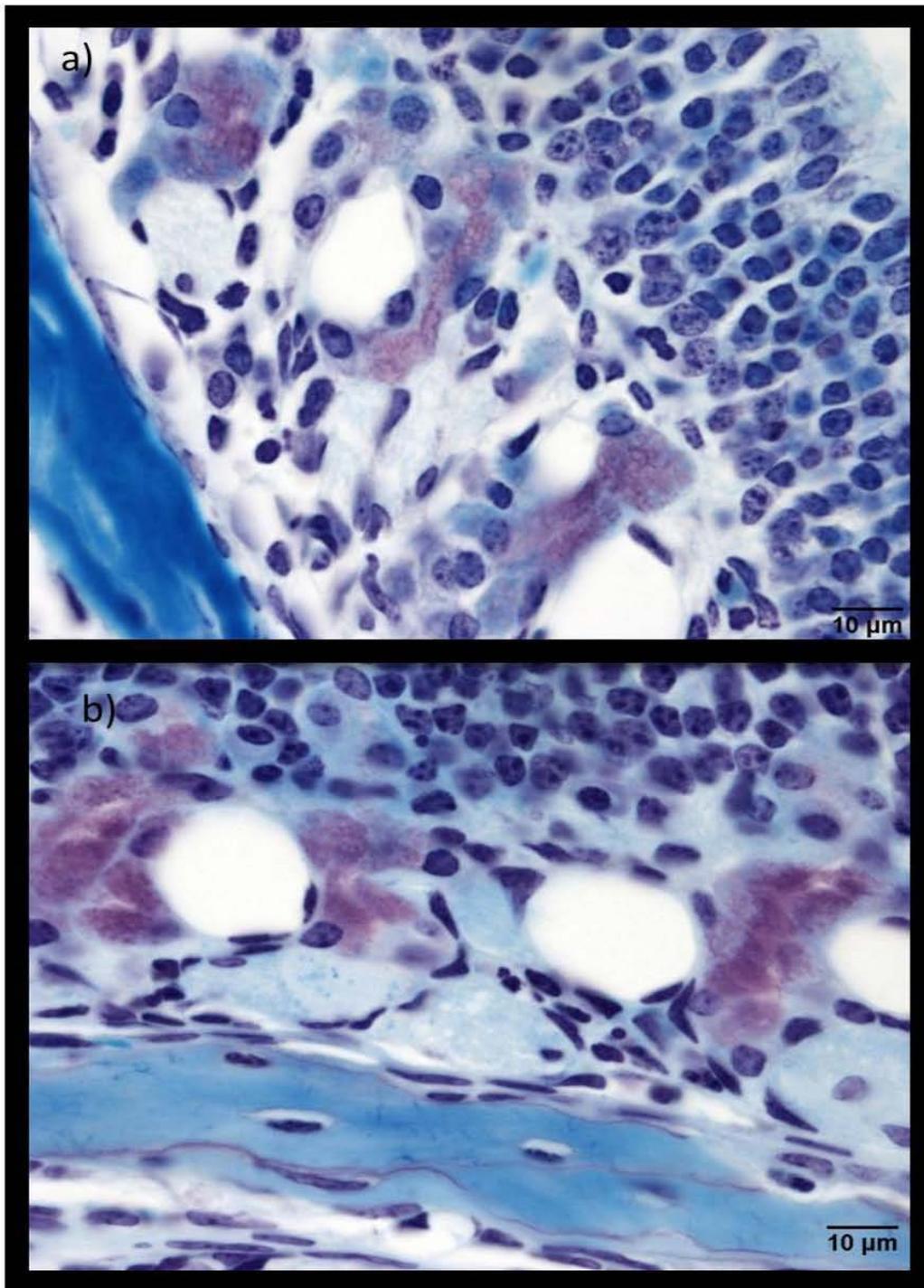


Figura 13. Submucosa olfatoria de ratones hembra 1000X. En morado se observan las Glándulas de Bowman a) Glándulas de Bowman de ratón control b) Glándulas de Bowman de ratón del grupo de postinhalación.

VI.I.III Fibras nerviosas

Se observó que en la submucosa de los ratones expuestos a V_2O_5 en ambos sexos, presentan vacuolización en las fibras nerviosas comparado con el grupo control (Figura 14 y 15). Esta vacuolización se observa disminuida en el grupo de post inhalación para ambos sexos (Figura 16 y 17).

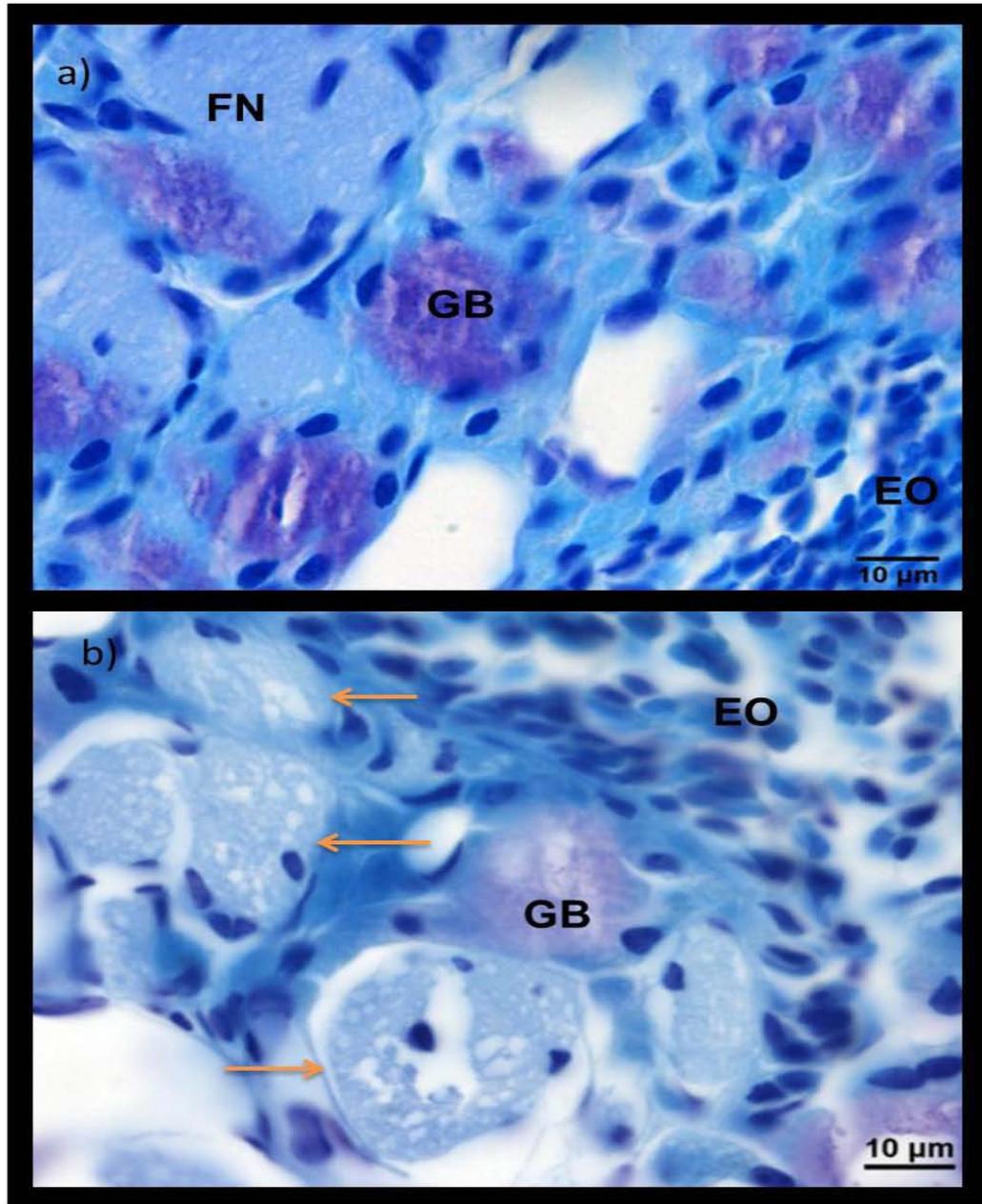


Figura 14. Submucosa olfatoria de ratones macho 1000X. a) Se muestran, el Epitelio Olfatorio (EO), las glándulas de Bowman (GB) y las fibras nerviosas (FN) de ratón control. b) se marca con flechas naranjas la vacuolización en las fibras nerviosas de ratón expuesto.

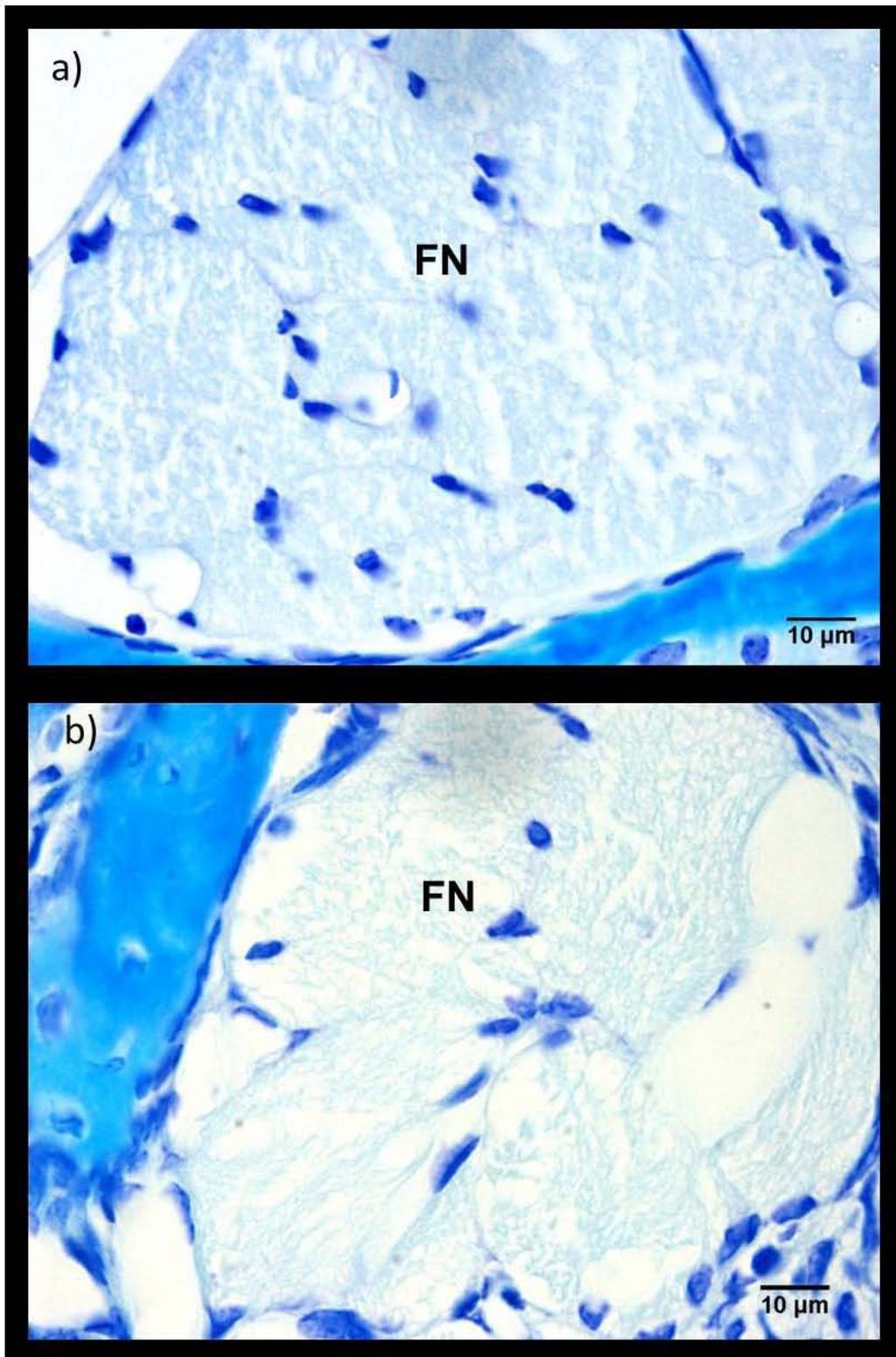


Figura 15. Fibras nerviosas (FN) de ratones hembra1000X. a) Se muestran, las fibras nerviosas de un ratón control b) Fibras nerviosas de ratón expuesto a Vanadio .

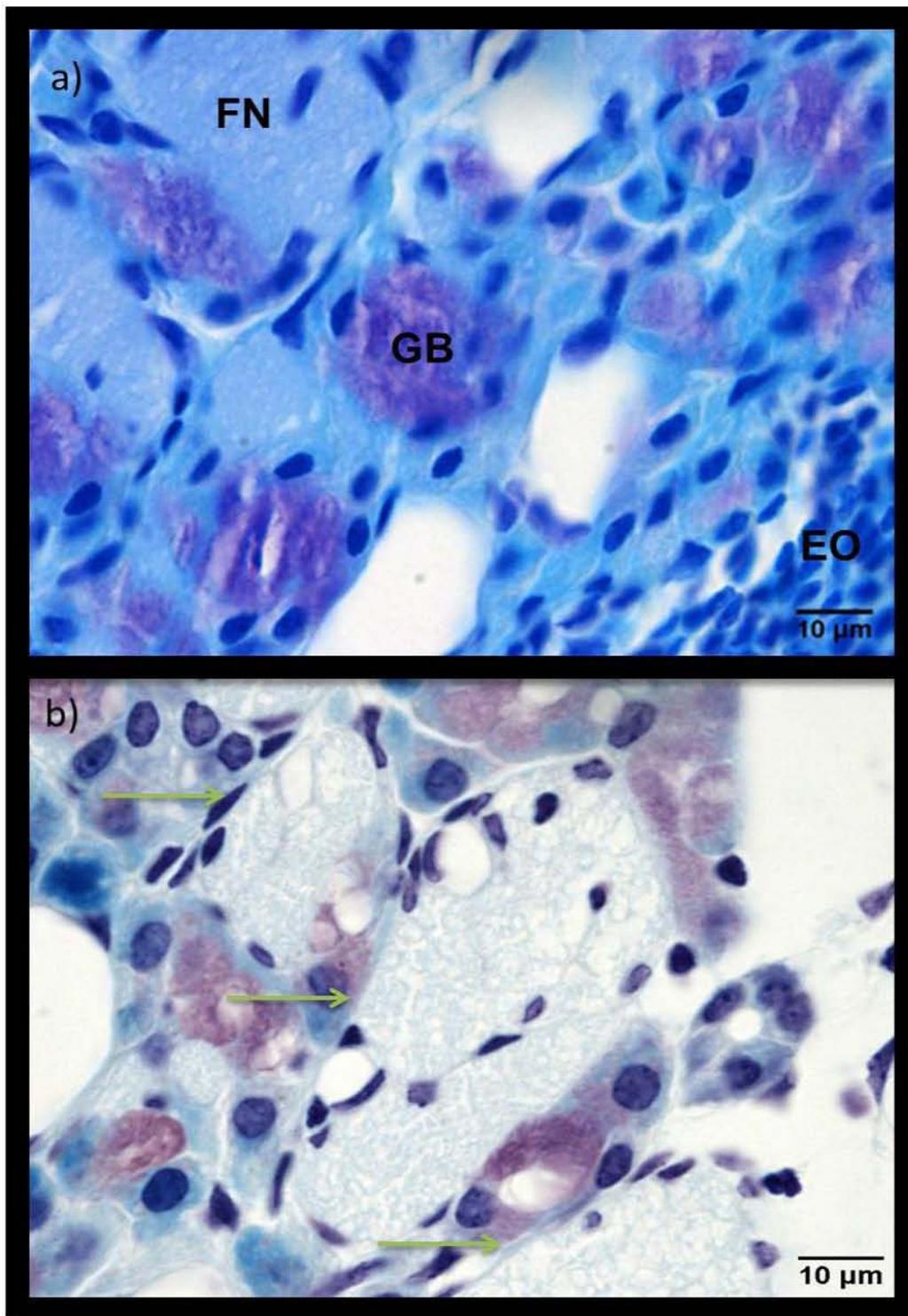


Figura 16. Submucosa olfatoria de ratones macho 1000X. a) Se muestran, el Epitelio Olfatorio (EO), las glándulas de Bowman (GB) y las fibras nerviosas (FN) de ratón control b) Se marca con flechas verdes la vacuolización en las fibras nerviosas de ratón del grupo de postinhalación.

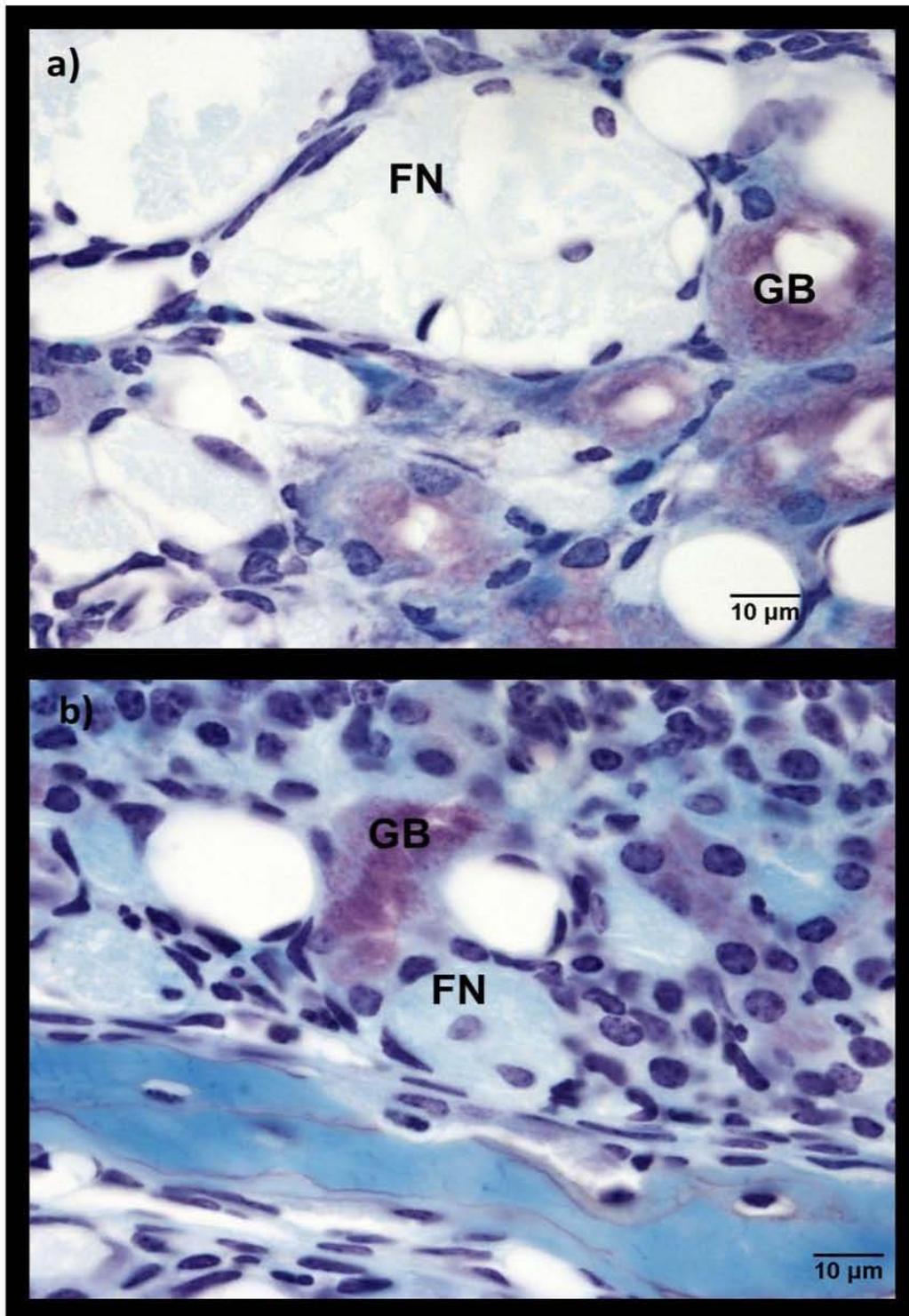
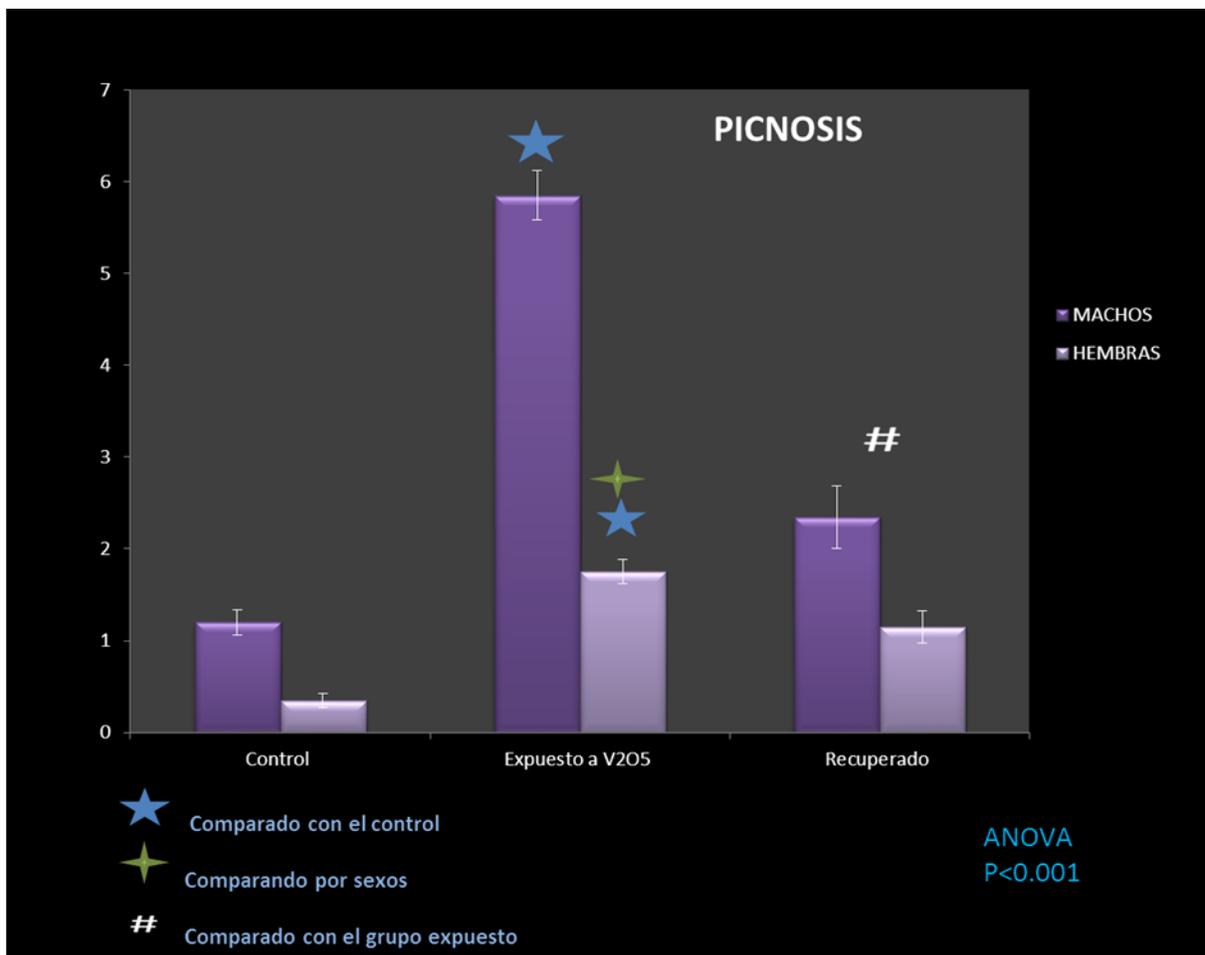


Figura 17. Submucosa olfatoria de ratones hembra 1000X. En azul se observan las fibras nerviosas (FN) a) Fibras nerviosas de ratón control b) Fibras nerviosas de ratón del grupo de postinhalación.

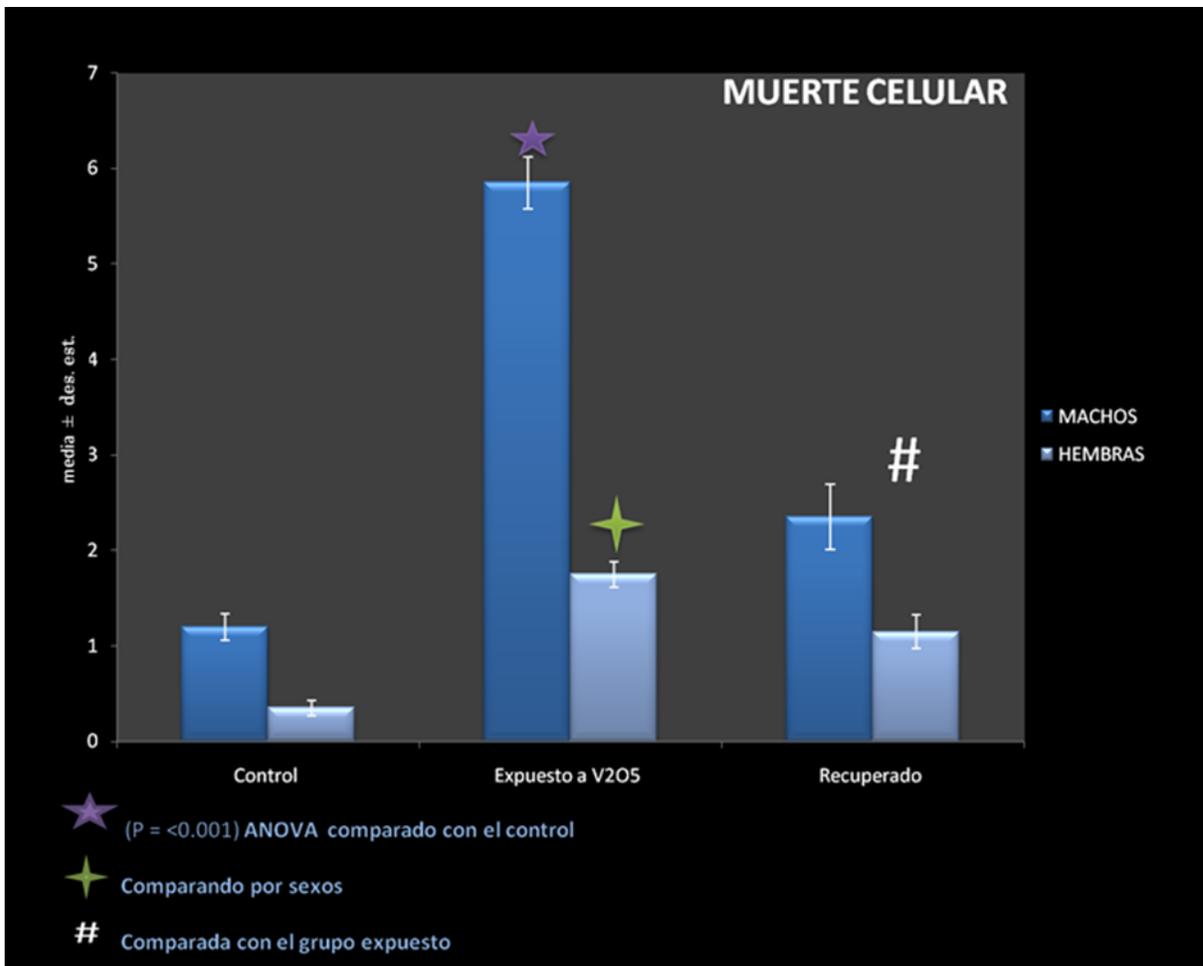
VI.II Análisis citológico cuantitativo

Los grupos de ratones expuestos a Pentóxido de Vanadio, tanto en machos como en hembras mostraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número de células picnoticas presentes en el epitelio olfatorio al compararlos con el grupo control (Gráfica 1). Al comparar por sexos también existen diferencias significativas en el grupo expuesto, en donde los machos presentan mayor número de células picnoticas en el epitelio olfatorio, comparado con el EO de los ratones hembra (Gráfica 1).



Gráfica 1. Muestra el número de células que presentan picnosis, en el epitelio olfatorio de ratones machos y hembras,

También se observó mayor muerte celular en el epitelio olfatorio de los ratones machos expuestos a V_2O_5 comparado con el grupo control y también comparado con el grupo de hembras expuestas (Gráfica 2).



Gráfica 2. Muestra el número de células que presentan muerte celular, en el epitelio olfatorio de ratones machos y hembras,

En los grupos de ratones de ambos sexos que inhalaban V_2O_5 durante un mes y se mantuvieron sin inhalar el metal durante dos meses; se observó que la muerte celular y picnosis en el epitelio olfatorio disminuyeron, comparado con el grupo expuesto (Gráficas 1 y 2), y no presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control.

VII. DISCUSIÓN

La contaminación en las grandes ciudades ha sido una de las principales causas por las cuales la población ha presentado alteración en la capacidad olfatoria, debido a que la exposición a ozono, cadmio, y otros contaminantes entre ellos el vanadio; afectan el rendimiento de la olfacción (Hudson et al., 2006; Cervantes 2009), lo cual también se ha asociado a enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, el Párkinson y Huntington, en donde uno de sus primeros síntomas es la pérdida de olfacción (Doty 2009). Se ha encontrado en organismos expuestos por vía inhalada a metales y otros contaminantes, partículas suspendidas en el bulbo olfatorio, además de susceptibilidad a la pérdida de olfato y enfermedades neurodegenerativas (Antunes et al., 2007). Por lo que se ha propuesto que estos agentes ambientales ingresan vía mucosa olfatoria al cerebro y pueden contribuir al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (Doty 2009).

Las alteraciones morfológicas que se observaron en la mucosa olfatoria, como la vacuolización en las glándulas de Bowman y en las fibras nerviosas, así como desorganización celular, pincosis y muerte celular en el epitelio olfatorio; se puede asociar con las alteraciones morfológicas y funcionales, previamente reportadas en el bulbo olfatorio de ratones expuestos a vanadio (Colín-Barenque 2003, 2004,2005; Moscoso 2010). Ya que la vía de exposición inhalada es una de las principales entradas de contaminantes, los cuales tienen contacto directo con el epitelio olfatorio, donde se encuentran las NSO, las cuales mandan un impulso nervioso dentro del bulbo olfatorio, directamente a los glomérulos y estos a su vez

forman sinapsis con las dendritas de las neuronas de segundo orden (las células mitrales y las células en penacho) y las interneuronas (células granulosas) (Valverde 2003).

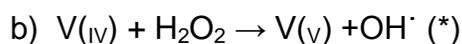
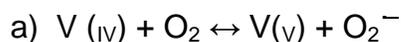
Disminución en la sensibilidad olfatoria y en la discriminación de olores se presentan en el envejecimiento (Cerf-Ducastel y Murphy 2003), así como en las enfermedades neurodegenerativas (Peters et al., 2003; Ross et al. 2006). En donde se presenta apoptosis en el epitelio olfatorio y bulbo olfatorio, como consecuencia del estrés oxidante, característico de envejecimiento y neurodegeneración; siendo tanto el EO como el BO la base del deterioro funcional en la capacidad olfatoria, ya que son la vía directa entre el medio ambiente y el sistema nervioso central (Vaishnav et al., 2008).

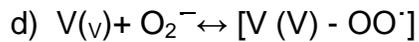
El estrés oxidante es el desequilibrio entre el nivel de radicales libres y la capacidad para prevenir sus efectos nocivos a través de los mecanismos de defensa antioxidante. El estrés oxidante se ha relacionado con la disminución en la función olfatoria que acompaña al envejecimiento (Humphries 2006; Kregel y Zhang 2006), y a las enfermedades neurodegenerativas, debido a que el tejido nervioso es vulnerable al daño oxidante ocasionado por especies reactivas de oxígeno (ROS) por el alto consumo de oxígeno, la moderada capacidad antioxidante y la presencia de gran cantidad de lípidos poliinsaturados (Fortoul 2007a).

Se considera que uno de los efectos adversos que el vanadio ejerce sobre los sistemas biológicos tanto *in vivo* como *in vitro*, son debidos en gran medida a la

inducción de estrés oxidante: generación de especies reactivas de oxígeno y de radicales libres (RL) (Evangelou 2002).

El vanadio, al ser un metal de transición, posee varios estados de oxidación y puede participar en reacciones que generan especies reactivas de oxígeno (ERO). Estas reacciones ocurren de la siguiente manera: a) La autooxidación del vanadio (IV) con el O₂ del aire produce anión superóxido (O₂⁻) y vanadio (V), b) el anión superóxido puede dismutarse espontáneamente o enzimáticamente (por acción de Super Oxido Dismutasa (SOD)), produciendo peróxido de hidrógeno (H₂O₂), este puede reaccionar con el vanadio (IV) produciendo radical hidroxilo (OH[·]) por medio de la reacción tipo Fenton. c) Teóricamente, el anión superóxido puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno para generar radical hidroxilo en la reacción de Haber-Weiss. d) Por otra parte, el superóxido puede mantener el complejo junto con el vanadio, formando peroxivanadil, e) Sin embargo, en contraste al superóxido, este peroxivanadil probablemente desaparece muy rápido bajo ciertas condiciones biológicas, por la abstracción de un hidrógeno de las biomoléculas. Esta reacción, a través del pervanadato (vanadil hidroperóxido), puede generar vanadio nuevamente y agua, los cuales realizarán continuas reacciones redox (Byczkowski y Kulkami 1998).





(*) Reacción tipo Fenton

Especialmente el vanadio estimula la oxidación de NAD(P)H en la mitocondria, promoviendo la reducción de vanadio (V) a vanadio (IV) para que este genere superóxido en presencia de oxígeno a), y así éste por la presencia de SOD forme peróxido de hidrogeno y se forme finalmente b) el radical hidroxilo (Byezkowski y Kuikami 1998), el cual es uno de los principales factores que dañan diferentes estructuras como hipocampo, estriado, corteza prefrontal y bulbo olfatorio (Colín-Barenque et al., 2005, 2007; Avila-Costa et al., 2005 y Juárez 2007).

Los radicales libres y ROS provocan la peroxidación de lípidos, por lo que las membranas celulares se pueden ver afectadas, lo cual puede manifestarse en pérdida de la homeostasis celular, que podría reflejarse en la vacuolización observada en las glándulas de Bowman de los grupos expuestos a vanadio.

El estrés oxidante promueve muerte celular por apoptosis en el epitelio olfatorio (Vaishnav et al., 2008 y Heidi et al., 2011). Por lo que la muerte celular observada en EO de los ratones expuestos a Vanadio podría asociarse al estrés oxidante producido por este metal.

El vanadio induce citotoxicidad por interacción con diferentes elementos del citoesqueleto, la exposición a este metal provoca decremento en los niveles de la gama-tubulina en células germinales y somáticas de testículo de ratón, dañando a los microtúbulos y microfilamentos, los cuales están constituidos de subunidades de tubulina y actina respectivamente (Mussali-Galante et al., 2005). Asimismo, Chen y cols. (2009), reportaron que alteraciones en la regulación de actina en el citoesqueleto, resultan en vacuolización y atrofia axonal; por lo que la vacuolización observada en las fibras nerviosas de la mucosa olfatoria en los ratones expuestos a vanadio podría ser resultado del daño que ocasiona este metal en el citoesqueleto.

Por otra parte, Avila-Costa y cols. (2005), reportaron que el vanadio produce, ruptura de las uniones estrechas en el epitelio endodermal, ya que la inhibición de la proteína tirosina fosfatasa en células endodermarias aumenta el grado de fosforilación de la tirosina en las proteínas de unión debilitando la adhesión celular (Rubin y Staddon 1999), lo cual puede correlacionarse con la desorganización celular observada en el epitelio olfatorio de los ratones expuestos al metal.

En el EO, la transducción de la señal olfativa, se da a través de la unión del odorante a los receptores olfativos y se activa una cascada de señales similar a la de otros receptores acoplados a la producción de AMPc (Figura 18). Dicha señalización podría afectarse por la pérdida de cilios en las NSO en los animales expuestos, como se observó previamente en las células endodermarias de animales expuestos a vanadio (Avila-Costa et al., 2005).

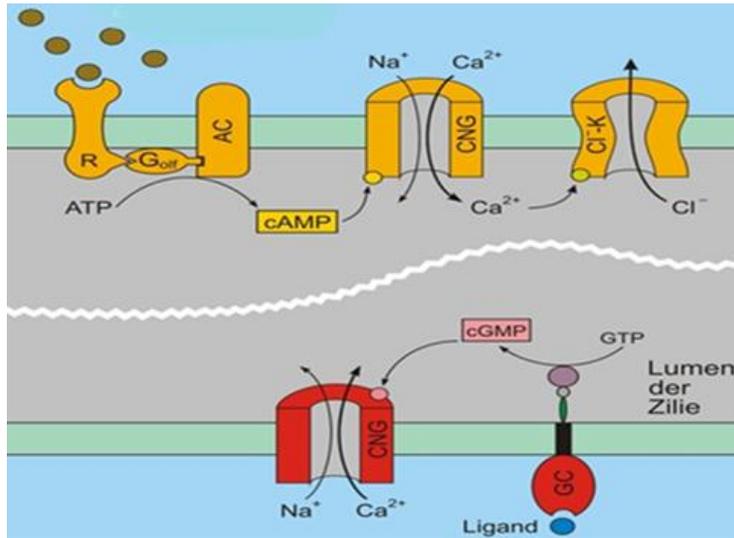


Figura 18. Recepción y transducción de la señal olfativa.

En la transducción de la señal olfativa, el receptor sufre un cambio conformacional que induce a la proteína trimérica G (olf) (subunidades α , β y γ), a intercambiar el GDP por GTP, lo cual induce a la disociación de las subunidades y la subunidad $G\alpha$ (olf) con el GTP unido lo cual activa a la adenilato ciclasa. Esta enzima tiene una isoforma específica que está presente solamente en el epitelio olfativo, la adenilato ciclasa tipo III, la cual sintetiza AMPc a partir de ATP. El incremento en los niveles del nucleótido cíclico activa los canales sensibles a AMPc, induciendo la entrada masiva de los iones Ca^{2+} y Na^{+} , lo que induce la despolarización de la célula y la generación de un potencial de acción que viaja a través del axón (Figura 19) de las NSO hasta el BO (Miras 2005). Debido a que el V compete con el fosforo, se propone que dicho metal podría alterar el funcionamiento de los

segundos mensajeros (AMPC y GMPc) en los animales del grupo experimental. En pacientes que manifiestan pérdida de olfato los niveles de AMPC y GMPc en moco nasal, son inferiores que en sujetos normales, y las mujeres presentan altos niveles de AMPC y GMPc, en comparación con los hombres (Henkin y Velicu 2008).

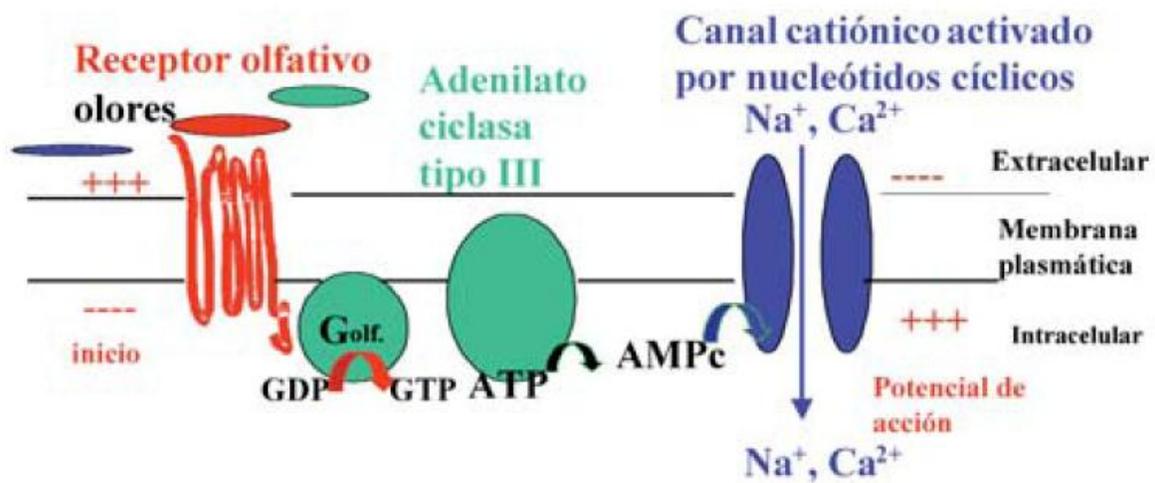


Figura 19. Transducción de la señal olfativa.

Los axones de las NSO son excitadores, de naturaleza glutamatérgica y en el glomérulo establecen las conexiones sinápticas con tres tipos de neuronas: las mitrales, en penacho y las periglomerulares. Las neuronas mitrales y en penacho son glutamatérgicas (Miras 2005), por lo que cuentan con receptores NMDA (Figura 20). El Vanadio es un inhibidor competitivo de la proteína tirosina fosfatasa la cual interviene en la regulación de receptores de algunos neurotransmisores tales como el NMDA, un tipo de receptores glutamatérgicos que al activarse inducen, entrada de Ca^{2+} , el cual entre otras funciones interviene en la generación del potencial de acción de las células, liberación de neurotransmisores y plasticidad neuronal, sin embargo si en las neuronas ingresa gran cantidad de

Ca^{2+} , se desencadenan una serie de acontecimientos de daño neuronal e incluso muerte celular por excitotoxicidad (Yu et al., 2001), generándose una cascada de reacciones relacionadas con proteínas dependientes de Ca^{2+} tales como las calpaínas, calcineurina y ácido araquidónico, las cuales regulan la proteólisis del citoesqueleto (Hyung-Wook et al., 2009).

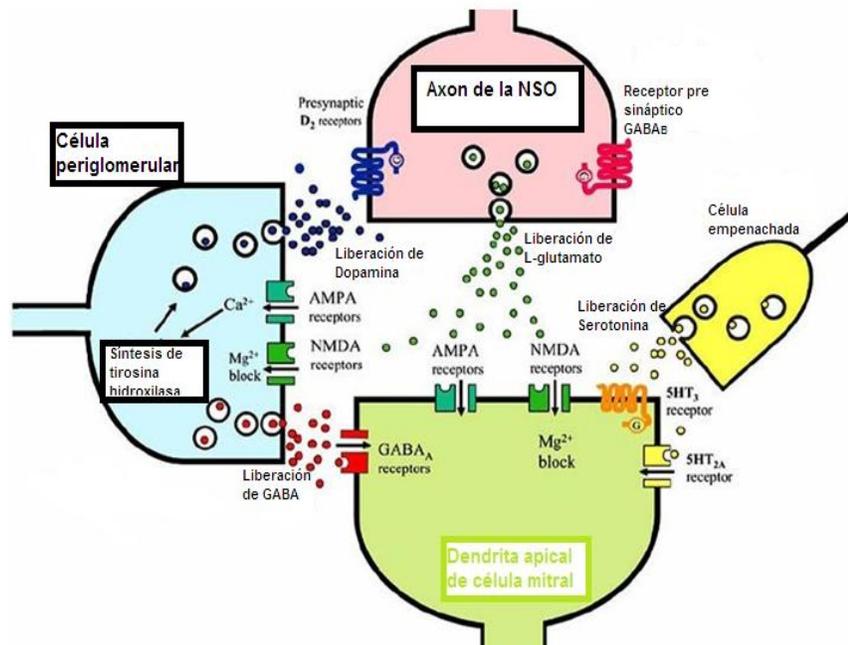


Figura 20. Conexiones sinápticas, de las neuronas sensoriales olfatorias

Con respecto al menor daño observado en la mucosa olfatoria del grupo de ratones expuestos a V_2O_5 y mantenidos sin exposición al metal durante dos meses, comparado con el grupo expuesto y que no tuvo periodo de post-exposición, podría atribuirse a la capacidad neurogénica de las neuronas sensoriales olfatorias y al recambio celular en el epitelio olfatorio cada 30- 60 días (Miras 2005). Cuando las neuronas sensoriales olfatorias son dañadas la tasa basal de mitosis incrementa dramáticamente (Camara y Harding 1984) y se

diferencian rápidamente en neuronas maduras. La tasa de mitosis celular es regulada por la densidad local de células y muerte de las neuronas sensoriales olfatorias (Féron et al., 1999).

Esta menor alteración en la citología de la mucosa olfatoria, se relaciona con la recuperación morfológica y funcional presentada en el bulbo olfatorio (Moscoso 2010), mostrando la plasticidad presente en el sistema olfatorio, reflejada en la capacidad de responder funcional y morfológicamente en el sentido de suplir las deficiencias correspondientes al daño celular (Arias-Carrión et al., 2007).

En cuanto a las diferencias en las alteraciones citológicas en la mucosa olfatoria entre las hembras y los machos en donde se observó mayor número de células que presentan picnosis y muerte celular en los machos expuestos a Vanadio, se puede atribuir a la presencia de los estrógenos, ya que se ha estudiado el potencial del 17- β estradiol sobre los receptores E_{α} y E_{β} en el sistema nervioso central, presentes en corteza cerebral, septum, amígdala, tálamo, hipocampo, área ventral tegumental, sustancia nigra, cerebelo y bulbo olfatorio, entre otros (Maggi et al., 2003). Se ha demostrado que el 17- β estradiol, tiene numerosos efectos benéficos en el cerebro (Horsburgh et al., 2002). El estradiol regula la activación de las vías de señalización de las cinasas y la modificación de los niveles de Ca^{2+} , además de la síntesis de factores de crecimiento que actúan sobre la supervivencia neuronal bajo condiciones patológicas (Bourque et al., 2009), induce la regulación de niveles de fosfatasa, fosforilación de cinasas y de expresión de moléculas reguladoras de apoptosis (García-Segura y Balthazart 2009).

Los efectos del estradiol, en el sistema reparador olfatorio, muestran que el tratamiento con estradiol resulta en una rápida y significativa recuperación de la discriminación olfatoria, seguida del daño inducido en el EO (Dhong et al., 1999). Britto y cols. (2010), mostraron que en presencia del 17- β estradiol aumenta en el epitelio olfatorio: el número de células basales, la cantidad de NSO maduras y el espesor del EO.

Aunado a esto se ha reportado que los estrógenos tienen la capacidad de atenuar el daño neurotóxico inducido por estrés oxidante (Behl 2002); como el causado por el V, actuando como antioxidante ya que presentan un grupo hidroxilo intacto en el anillo A de la molécula esteroide al cual pueden unirse radicales libres (Figura 21).

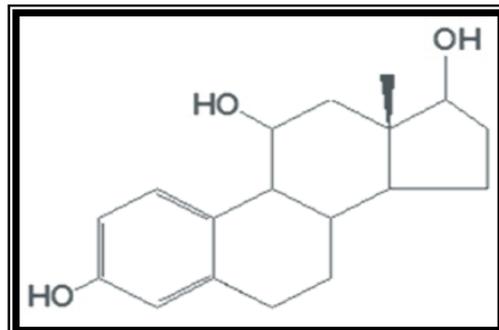


Figura 21. Estructura química del estradiol.

VIII. CONCLUSIONES

- La exposición a Vanadio produjo alteraciones morfológicas en la mucosa olfatoria de ratones machos y hembras; tales como picnosis, muerte celular y desorganización celular en el epitelio olfatorio, así como vacuolización en las glándulas de Bowman y fibras nerviosas las cuales proyectan directamente hacia el BO lo que podría explicar las alteraciones reportadas previamente en dicha estructura.
- Las alteraciones morfológicas en la mucosa olfatoria fueron más evidentes en los ratones machos expuestos comparados con las hembras. Lo cual se asocia a la presencia de estrógenos en las hembras, los cuales tienen un efecto neuroprotector.
- Para ambos sexos al suspender las exposiciones a vanadio durante dos meses, se observó recuperación morfológica en la mucosa olfatoria, que podrían correlacionarse con la recuperación morfológica y funcional del bulbo olfatorio previamente reportado, lo cual evidencia la plasticidad del sistema olfatorio

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre C, Mondragón A, Meza P, Fortoul TI, Avila- Costa MR, Sanchez I, López I, Niño-Cabrera G, Pasos F, Acevedo S, Espinosa J, Aley P y Colín-Barenque L (2002). Efecto del vanadio sobre la citología del bulbo olfatorio de ratón. Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Colima, Col.
- Al-Bayati M, Mohammad A, Culbertson R, Scheider JP, Rosenblatt LS y Raabe OG (1992). The lymphotoxic action of vanadote. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2:19-27.
- Albert LA (2004). Contaminación Ambiental: Origen, clases, causas y efectos. En Albert LA. *Toxicología Ambiental* (1ª edición). Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua México, pp.61-72.
- Al-Khashman OA (2004). Heavy metal distribution in dust, street dust and soil from the work place in Karak Industrial Estate, Jordan. *Atmospheric Environment*, 38, 6803– 6812.
- Altamirano-Lozano M, Alvarez BL, Roldán RE (1993). Cytogenetic and teratogenic effects of vanadium pentoxide on mice. *Medical Science Research*. 21:711-713.
- Antunes MB, Bowler R & Doty RL (2007). San- Francisco/Oakland Bay Bridge welder study: olfactory function. *Neurology* 69: 1278–1284.
- Aschner M, Erikson KM, Dorman DC (2005). Manganese dosimetry: Species differences and implications for neurotoxicity. *Crit. Rev. Toxicol*. 35:1–32.
- Avila-Casado MC, Soto-Abraham V, Lopez-Krauletz S, Fortoul TI (2007). The kidney and vanadium effects. Capítulo 7. En: *Vanadium: Its Impact on Health*. Editores: Fortoul TI & Avila-Costa MR. Ed. Nova Science Publishers Inc. New York. pp.57-62.
- Avila-Costa MR, Montiel Flores E, Colin-Barenque L, Ordonez JL, Gutierrez AL, Nino-Cabrera HG, Mussali-Galante P, Fortoul TI (2004). Nigrostriatal modifications alter vanadium inhalation: an immunocytochemical and cytological approach. *Neurochem Res*. 29:1365-1369.
- Avila-Costa MR, Colin-Barenque L, Zepeda-Rodriguez A, Antuna SB, Saldivar OL, Espejel-Maya G, Mussali-Galante P, del Carmen Avila-Casado M, Reyes-Olivera A, Anaya-Martinez V, Fortoul TI (2005). Ependymal epithelium disruption after vanadium pentoxide inhalation. A mice experimental model. *NeurosciLett*. 381:21-5.

- Avila-Costa MR, Fortoul TI, Nino-Cabrera HG, Colin-Barenque L, Bizarro-Nevares P, Gutierrez-Valdez AL, Ordonez-Librado JL, Rodriguez-Lara V, Mussali-Galante P, Díaz-Bech P, Anaya-Martínez V (2006). Hippocampal cell alterations induced by the inhalation of vanadium pentoxide promote memory deterioration. *Neurotoxicology* 27: 1007-1012
- Baran EJ (2003). Model studies related to vanadium biochemistry:Recent advances and perspectives. *Journal of Brazillian Chemistr Society*. 14:878-888.
- Barceloux DG (1999). Vanadium. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1999; 37:265-78.
- Barth A, Schaffer AW, Konnaris C, Blauensteiner R, Winker R, Osterode W, Rudiger HW. (2002) Neurobehavioral effects of Vanadium. *J Toxicol Environ Health A*. 65:677-683.
- Bhagavan S, Jandhyala G, Hom J (1983). Phyological and Pharmaceutical propierties of vanadium. *Life of Science* 33:1325-1340.
- Behl C (2002).Oestrogen as a neuroprotective hormone. *Neuroscience. Nature Reviwes*. 3:435-442.
- Bourque M, Dluzen DE, Di Paolo T (2009). Neuroprotective actions of sex steroids in Parkinson´s disease. *Frontiers in Neuroendocrinology* 30 2009: 142-157.
- Bravo-Alvarez HR, Torres-Jardón R (2002). Air pollution levels and trends in the México City metropolitan area. In: Fenn M, de Bauer L, Hernández T, editors. *Urban air pollution and forest: resources at risk in the Mexico City Air Basin*. Ecological studies, vol. 156. New York: Springer; p. 121–59.
- Brennan PF.Cantor M (1995). Characterizing the use of health care services delivered via computer networks. *J Am Med Inform Assoc* 1995, 2(3): 160-8.
- Britto P, Nathana, Michael Tonsor, Robert G. Strubleb (2010). Acute responses to estradiol replacement in the olfactory system of apoE-deficient and wild-type mice. *BRAIN RESEARCH* 1343 66–74.
- Brown RC, Lockwood AH, & Sonawane BR (2005). Neurodegenerative diseases: an overview of enviromental risk factors. *Environ. Health Perspect*. 113: 1250-1256.
- Byczkowski JZ, Kulkarni AP (1998). Oxidative stress and proxidant biological effects of vanadium. En *Vanadium in the enviromental*. Nriagu J. Ed. Vol 31. John Wiley and Sons. New York. pp 235-263.
- Cano-Gutiérrez G, Acevedo-Nava S, Santamaria A, Altamirano-Lozano M, Cano-Rodríguez C. and Fortoul TI. (2011). Hepatic megalocytosis due to

vanadium inhalation: participation of oxidative stress. *Toxicology and Industrial Health*. En prensa.

- Calderón Garcidueñas L, Rodríguez Alcaraz A, García R, Ramírez L, Barragán G. (1995). Nasal inflammatory responses in children exposed to a polluted urban Atmosphere. *J. Tox. Env. Health*. 45: 427-437.
- Calderón Garcidueñas L, Valencia-Salazar G, Rodríguez-Alcaraz A, Gambling T M, Osnaya N, Villarreal-Calderón A, et al. (2001) Ultrastructural nasal pathology in children chronically and sequentially exposed to air pollutants. *Am Respir Crit Care Med*. 24:132–138.
- Calderón Garcidueñas L, Biagio A, Acuna H, García R, Gambling T, Osnaya N, Monroy S, Tizapantzi MR, Carson J, Villareal- Calderon N y Rewcastle B. (2002). Air Pollution and Brain Damage. *Toxicol Pathol* 30:373- 389.
- Calderón Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Fordham L A, Valencia-Salazar G, Chung C J, Rodríguez -Alcaraz A, et al. (2003). Respiratory damage in children exposed to urban pollution. *Pediatr Pulmonol* 36:148–61.
- Calderón Garcidueñas, L, Franco-Lira M, Torres-Jardón R, Henríquez-Roldán C, Valencia-Salazar G, González- Maciel A, et al. (2007 a) Pediatric respiratory and systemic effects of chronic air pollution exposure: nose, lung, heart and brain pathology. *Toxicol Pathol* 35:154–62.
- Calderón Garcidueñas, L, Vincent R, Mora-Tiscareño A, Franco-Lira M, Henríquez-Roldán C, Garrido-García L, et al. (2007b) Elevated plasma endothelin-1 and pulmonary arterial pressure in children exposed to air pollution. *Environ Health Perspect*; 115:1248–53.
- Calderón- Garcidueñas L, Villarreal-Calderón R, Valencia- Salazar G, Henríquez-Roldán C, Gutiérrez-Castrellón P, Torres-Jardon R, et al. (2008a) Systemic inflammation, endothelial dysfunction, and activation in clinically healthy children exposed to air pollutants. *Inhal Toxicol*; 20:499–506.
- Calderón- Garcidueñas L, Solt A, Franco-Lira M, Henríquez-Roldán C, Torres-Jardón R, Nuse B, et al. (2008b) Long-term air pollution exposure is associated with neuroinflammation, an altered innate immuneresponse, disruption of the blood-brain-barrier, ultrafine particle deposition, and accumulation of amyloid beta 42 and alpha synuclein in children and young adults. *Toxicol Pathol*; 36:289–310.
- Calderón-Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Gómez-Garza G, Broadway J, Chapman S, Valencia-Salazar G, et al. (2008c) Air pollution, cognitive deficits and brain abnormalities: a pilot study with children and dogs. *Brain Cognit*; 68:117–27.

- Calderón Garcidueñas, L., Maricela Franco-Lira, Carlos Henríquez-Roldán, Norma Osnaya, Angélica González-Maciel, Rafael Reynoso-Robles, Rafael Villarreal-Calderon, Lou Herritt, Diane Brooks, Sheyla Keefe, Juan Palacios-Moreno, Rodolfo Villarreal-Calderon, Ricardo Torres-Jardón, Humberto Medina-Cortina, Ricardo Delgado-Chávez, Mario Aiello-Mora, Robert R. Maronpot, Richard L. Doty. (2010). Urban air pollution: Influences on olfactory function and pathology in exposed children and young adults. *Experimental and Toxicologic Pathology* 62:91–102.
- Camara CG. and Harding J. W. (1984) Thymidine incorporation in the olfactory epithelium of mice: early exponential response induced by olfactory neurectomy. *Brain Res.* 308, 63–68.
- Carter JD, Ghio AJ, Samet JM y Devlin RV. (1997). Cytokine production by human airway epithelial cells alter exposure to an Air Pollution Particle is Metal Dependent. *Toxicol Appl Pharmacol* 146:180-188.
- Carr VM and Farbman AI (1993). The dynamics of cell death in the olfactory epithelium. *Expl Neurol.* 124,308–314.
- Cerf-Ducastel B, Murphy C (2003). fMRI brain activation in response to odors is reduced in primary olfactory areas of elderly subjects. *Brain Res* 986:39–53.
- Cervantes PN (2009). Efecto de la exposición a Pentóxido de Vanadio sobre la preferencia olfatoria y las gelatinasas en bulbo olfatorio en un modelo murino por inhalación. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chen F, Vallyathan V, Castranova V y Shi X. (2001). Cell apoptosis induced by carcinogenic metals. *Mol Cell Biochem* 222:183-188.
- Chen Q, Peto CA, Shelton GD, Mizisin A, Sawchenko PE and Shubert D (2009). Loss of Modifier of Cell Adhesion Reveals a Pathway Leading to Axonal Degeneration. *J Neurosci.* 29(1): 118–130
- Colín-Barenque L, Ávila –Costa MR, Sánchez I, Niño G, Pasos F, Delgado V, Fortoul TI. (2003). Muerte neuronal en el bulbo olfatorio de ratón inducida por exposición subaguda y crónica de vanadio. XLVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Aguascalientes, 2003.
- Colín-Barenque L, Avila –Costa MR, Delgado V, López, Sánchez I, Pasos F, Fortoul TI. (2004). Mice olfactory bulb neural death after V₂O₅ inhalation. 43rd Annual Meeting of the Society of Toxicology. Baltimore, Maryland.

- Colín-Barenque L, Avila –Costa MR, Mussali Galante P, Reyes A., Ordoñez Librado JL, Bizarro Nevares P, Pasos F, Aley P, Espinosa Villanueva J, Fortoul Van DerGoes TI. (2005). Recuperación del daño citológico inducido por V₂O₅ en bulbo olfatorio de ratón. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.s. Guadalajara Jalisco, 2005.
- Colín Barenque L. Martínez-Hernández MG, Baiza-Gutman LA, Avila-Costa MR, Ordoñez Librado JL, Bizarro Nevares P, Rodríguez Lara V, Piñon Zarate G, Rojas-Lemus M, Mussalli-Galante P, and Fortoul TI (2007). Matriz metalloproteinases 2 and 9 in central nervous system and their modification after vanadium inhalation. *J. Appl Toxicol* 27:1-6.
- Cooper R. (2007) Vanadium pentoxide inhalation. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 11(3): 97-103.
- de Castro Fernando (2009). Wiring olfaction: the cellular and molecular mechanisms that guide the development of synaptic connections from the nose to the cortex. *Frontiers in Neuroscience*. 3 (52).
- Dhong HJ, Chung, SK, Doty RL (1999). Estrogen protects against 3-methylindole-induced olfactory loss. *Brain Res*. 824, 312–315.
- Dill AJ, Lee MK, Mellinger HK, Bates DJ, Burke LT, Roycroft JH. (2004). Lung deposition and clearance of inhaled vanadium pentoxide in chronically exposed F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicological Sciences*. 77:6-18.
- Doty RL (2009). Environmental Agents and Neurodegenerative Diseases. *International Symposium on Olfaction Taste: Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1170:610-614.
- Duffus JH (1983). *Toxicología ambiental*. Edición Omega. Barcelona. pp. 82-83,91.
- Englert N (2004). Fine particles and human health: a review of epidemiological studies. *Toxicology Letters* 149:249-265.
- Evangelou (2002). Vanadium in cancer treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 3:249-265.
- Fernández A, Wendt J, Wolsky N, Hein K, Wang S y Witten M (2003). Inhalation health effects of fine particles from de co- combustion of coal and refuse derived fuel. *Chemosphere*.51:1129-1137.
- Féron F, Mackay-Sim A, Andrieu JL, Matthaei Q K, Holley A and Sicaed G (1999). Stress induces neurogenesis in non-neural. *Neuroscience*, 88:2, pp. 571–583.

- Flores RJ (2004). Causas y efectos de la contaminación atmosférica. En Albert L.A: Toxicología Ambiental (1ª edición). Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua México, pp. 167-189.
- Forno LS (1990). Pathology of Parkinson's disease: The importance of the substantia nigra and lewy bodies. In: Stern GM (ed), Parkinson's disease. Baltimore: Johns Hopkins Press, 1990:1985-238.
- Fortoul TI, Osorio LS, Tovar AT, Salazar D, Castilla ME, Olaiz-Fernández G (1996). Metals in lung tissue from autopsy cases in Mexico City residents: comparison of cases from the 1960s and the 1990s. Environ Health Perspect 104: 630-2.
- Fortoul TI, Quan-Torres A, Sanchez I, Lopez IE, Bizarro P, Mendoza ML, Osorio LS, Espejel-Maya G, Avila-Casado Mdel C, Avila-Costa MR, Colín Barenque L, Villanueva DN, 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. 57:446-9.
- Fortoul Teresa I y Avila-Costa Maria Rosa (2007a). Vanadium: its Impact on Health. Nova Science Publishers, Inc. New York.
- Fortoul TI, Bizarro-Nevarés P, Acevedo-Nava S, Piñón-Zárate G, Rodríguez-Lara V, Colín-Barenque L, Mussali-Galante P, Avila-Casado Mdel C, Avila-Costa MR, Saldivar-Osorio (2007b) Ultrastructural findings in murine seminiferous tubules as a consequence of subchronic vanadium pentoxide inhalation. Reprod Toxicol. 2007 Jun; 23(4):588-92. Epub 2007 Mar 27.
- Fusari A y Molina JA (2009). Olfato, envejecimiento fisiológico y enfermedades neurodegenerativas: I. Anatomía y exploración clínica. Revista de Neurología. 49 (6): 321-326.
- García-Guevara JA (1996). Una semblanza de la química bioinorgánica del vanadio. Profesores al día. Puebla, Mexico. 185-189.
- Garcia-Segura LM, Balthazart J (2009). Steroids and neuroprotection. New advances. Front Neuroendocrinol. 30(2): V-IX.
- Gartner L y Hiatt J (1997). Histología texto y atlas. Editorial Mc Graw-Hill interamericana. Primera Edición. Mexico. Págs: 301-304
- Genter, MB, Kendig EL & Knutson MD (2009). Uptake of materials from the nasal cavity into the blood and brain: are we finally beginning to understand these processes at the molecular level. In. N. Y. Acad. Sci. International Symposium on Olfaction and Taste. 1170:623-628.

- Gutiérrez-Castillo ME, Roubicek DA, Cebrian –García ME, De Vizcayana-Ruiz A, Sordo-Cedeño M y Ostrosky-Wegman P (2006). Effect of Chemicals compositions on the induction DNA damage by airborne particulate matter. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 47: 199-211.
- Hadley K, Orlandi RR, Fong KJ (2004). Basic anatomy and physiology of olfaction and taste. *Otolaryngol Clin N Am*. 37: 1115-26.
- Heidi C, O'Neill DJ, Orlicky TB, Hendry-Hofer JE, Loader BJ, Day, and Carl W (2011). Role of Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Olfactory Epithelial Injury by the Sulfur Mustard Analogue 2-Chloroethyl Ethyl Sulfide. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*.45:323-331.
- Henkin R.I., Velicu I. (2008) cAMP and cGMP in nasal mucus: relationships to taste and smell dysfunction, gender and age. *Clin Invest Med*; 31 (2): E71-E77.
- Horsburgh K, Macrae IM, Carswell H (2002). Estrogen is neuroprotective via an apolipoprotein E-dependent mechanism in a mouse model of global ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 22, 1189–1195.
- Hudson R, Arriola A, Martínez-Gómez M, Distel H (2006). Effect of air pollution on olfactory function in residents of México City. *Chem. Senses* 31: 79-85.
- Huisman E, Uylings HB, Hoogland PV. (2008) Gender-related changes in increase of dopaminergic neurons in the olfactory bulbo of Parkinson's disease patients. *Mov Disord*. 2008 30; 23 (10): 1407-1413.
- Humphries KM, Szweda PA, Szweda LI (2006). Aging: a shift from redox regulation to oxidative damage. *Free Radic Res* 40:1239–1243.
- Hunter D. (1969) *Diseases of Occupations*, 4th ed, English Universities Press, London; pp 311-313.
- Hyung-Wook K, Chang YC, Chen M, Rapoport SI, Rao JS (2009). Chronic NMDA administration to rats increases brain pro-apoptotic factors while decreasing anti-Apoptotic factors and causes cell death. *BMC Neuroscience*. 10:123.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS). (2000). Fumonisin B1. *Environmental Health Criteria* 219, 43–50.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS). (2001). Arsenic and Arsenic Compounds, 2nd edn. *Environmental Health Criteria* 224. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva.

- Jiménez-Jiménez FJ, Alonso-Navarro H., Ayuso-Peralta, I., Jabbour_Wadih, T. (2006). Estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol*; 42(7):419-427.
- Juárez SML (2007). Efecto de la inhalación del Vanadio en la sustancia Nigra y estriado en ratones. Comparación entre sexos. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiors Iztacala. UNAM
- Kampa M, y Castanas E (2007). Human Health Effects of air pollution. *Environ Pollution* 20:1-6
- Katsouyanni K (2003). Ambient air pollution and health. *British Medical Bulletin*. 68:143-156.
- Kendrick KM, Da Costa AP, Broad KD, (1997). Olfactory memory and maternal behaviour-induced changes in c-fos and zif/268 mRNA expression in the sheep brain. *Brain Res Mol Brain Res*.; 46(1-2):63-76.
- Kim Yoon, S. and Joh Tong H. (2006) Microglia, major player in the brain inflammation: their role in the pathogenesis in Parkinson's disease. *Experimental and Molecular Medicine*. 38:333-347.
- Kiviluoto M, Räsänen O, Rinne A, Rissanen M. (1979) Effects of vanadium on the upper respiratory tract of workers in a vanadium factory. *Scand J Work Environ Health*;5:50-58.
- Kregel KC, Zhang HJ. (2007). An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292:R18–36.
- Maggi A, Ciana P, Belcredito S, Vegeto E (2003). Estrogens in the nervous system: Mechanisms and nonreproductive functions. *Annu. Rev. Physiol*. 2004. 66:291-313.
- Martínez-Cayuela M (1998). Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. *Ars Pharmaceutica* 39:(1):5-18,
- Miller JR, Hudson-Edwards KA, Lechler PJ, Preston D, Macklin MG (2004). *Science of the total environment*., 320, 189-209.
- Miras Portugal Ma. Teresa (2005). Receptores olfativos: El perfume del éxito. *Anal. Real Acad. Nac. Farm.*, 71: 15-43
- Molina LT, Kolb CE, de Foy B, Lamb BK, Brune WH, Jimenez JL, et al. (2007). Air quality in North America's most populous city—overview of the MCMA-2003 campaign. *Atmos Chem Phys*; 7:2447–73.

- Molina MJ y Molina LT (2004). Megacities and atmospheric pollution. Air and waste manage association. 54:640-644.
- Mondragón A, Colín-Barenque L, Avila-Costa MR, Sánchez CI, López I, Niño CG, Pasos F, Delgado V, Ordoñez J, Gutierrez A, Aley P y Fortoul TI (2003). Efecto de la inhalación crónica de vanadio sobre la citología del bulbo olfatorio de ratón. XLVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Aguascalientes.
- Morinville A, Maysinger D y Shaver A (1998). From Vanadis to Atropos: Vanadium compounds as pharmacological Tools in cell death signalling. TIPS 19:452-460.
- Moscoso Caballero F (2010). Recuperación funcional y citológica en Bulbo Olfatorio posterior al daño inducido por la inhalación a Pentóxido de Vanadio (V_2O_5) en un modelo murino. Diferencias por género. Tesis de Licenciatura, UNAM. México D.F.
- Murkherjee B, Patra B, Mahapatra S, Banerjee P, Tiwari A, Chatterjee M (2004). Vanadium an elemento of a typical biological significance. Toxicological Letter. 150 (2):135-143.
- Mussali GV, Rodríguez B, Hernández M Ávila-Costa L, Colín-Barenque L, Bizarro P, Martínez G, Rojas M, Piñón G, Saldivar L, Díaz P, Herrera MA, Tovar E, Fortoul TI (2005). Inhaled vanadium pentoxide decrease gamma-tubulin of Mouse teste at different exposure times. Toxicology and Industrial Health. 21. pp. 215-222.
- Naylor GJ, Smith AH, Bryce-Smith D, Ward NI (1984). Tissue vanadium levels in manic-depressive psychosis. Psychol Med 14:767-772.
- Nechay BR (1984). Mechanisms of action of vanadium. Annual Review Pharmacology and Toxicology 24:501-524.
- Nriagu J (1998). Emission of vanadium to the atmosphere. En: Nriagu. J. Ed. Vanadium in the Environment. Part1: Chemistry and Biochemistry. New York. NY. John Wiley and sons. 505 pp.
- Parsadonian HK, Marchenko SN, Parsadonian KH, Barilyak IR(1998) Vanadium as a factor that disturbs phosphorus metabolismo in nervous tissue. Neurotoxicology 19:561-564.
- Peinado MA, del Moral ML, F. J. Esteban, E. Martínez-Lara, E. Siles, A. Jiménez, R. Hernández-Cobo, S. Blanco, J. Rodrigo, J.A. Pedrosa. (2000). Envejecimiento y neurodegeneración: bases moleculares y celulares. Rev. Neurol 2000; 31(11):1054-1065.

- Peralta García I, Colín-Barenque L, Ávila-Costa MR Ordoñez-Librado JL Bizarro-Nevarés P, Aley P., Espinoza-Villanueva J, Gutiérrez A., Rodríguez-Lara V, Piñón-Zárate G., Rojas Lemus M., Fortoul TI (2006). Diferencias citológicas en neuronas granulosas del bulbo olfatorio de ratón macho y hembra expuestos a pentóxido de vanadio. 2do. Congreso Académico Dr. Roberto Kretschmer Schmid. Facultad de Medicina UNAM.
- Peters JM, Hummel T, Kratzsch T, Lotsch J, Skarke C, Frolich L. 2003. Olfactory function in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an investigation using psychophysical and electrophysiological techniques. *Am J Psychiatry* 160:1995–2002
- Purves, D, Augustine, GL, Fitzpatrick, D, Katz, LC, LaMantia, AS, McNamara, JO, Williams, SM (2001). *The Chemical Senses*. En *Neuroscience*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland (MA). pp 337-367.
- Ress NB, Chon BJ, Renne RA, Dill JA, Miller RA, Roycroft JH, Hailey JR, Hasseman JK, Bucher RB (2003). Carcinogenicity of inhaled vanadium pentoxide in F344/N rats and B6C3F mice. *Toxicological Sciences*. 74:287-296.
- Rodríguez-Mercado JJ, y Altamirano- Lozano MA (2006). Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 22(4):173-189.
- Rodríguez M, Formoso M (2005). *Environmental geochemistry and health*, 27, 397-408.
- Rosales-Castillo JA, Torres-Meza VM, Olaiz- Fernández G, Borja-Aburto H. (2001). Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud Pública de México*. 43: 544-555.
- Ross GW, Abbott RD, Petrovitch H, Tanner CM, Davis DG, Nelson J, Markesbery WR, Hardman J, Masaki K, Launer L, White LR (2006). Association of olfactory dysfunction with incidental Lewy bodies. *Mov Disord* 21:2062–2067.
- Rubin LL, Staddon JM (1999). The cell biology of the blood–brain barrier, *Annu. Rev. Neurosci.* 22:11–28.
- Russanov E, Zaporowska H, Ivanchera E, Kirkova M and Konstantinivas (1994). Lipid peroxidation and antioxidant enzymes In vanadate treated rats. *Comparative Biochemistry and Physiology* 107(3):415-421.

- Sayre L, Perry G y Smith M. (2008). Oxidative Stress and Neurotoxicity. *Chem Res. Toxicol* 2:172-188.
- Secretaria de salud, 2005. Disponible en: <http://www.sma.df.gob.mx/simat/proteccion/nom-025-ssa1-1993.pdf>.
- Shi Zhe, Liu Hui-Xue, Yang Xiao-Da (2011). Vanadium stimulates mitochondrial ROS production in different ways. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 20:498-504.
- Soazo M, García GB. (2007). Vanadium exposure through lactation produces behavioral alterations and CNS myelin deficit in neonatal rats. *Neurotoxicol Teratol* 29:503-510.
- Stephens S, Madronich S, Wu F, Olson J, Ramos R, Retama A, et al. (2008). Weekly patterns of México City's surface concentrations of CO, NOx, PM10, and O3 during 1986–2007. *Atmos Chem Phys Discuss*; 8:8357–84.
- Sunderman FW Jr. (2001). Nasal Toxicity, Carcinogenicity, and Olfactory Uptake of Metals. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 31(1).
- Tahri M, Benyaïch F and Bounakhla M (2005). Multivariate analysis of heavy metal contents in soils, sediments and water in the region of Meknes (central Morocco). *Environmental Monitoring and Assessment* 102:405-417.
- Tjälve H and Tallkvist J (2003). The olfactory Pathway as a Route of Entry of Metals into the Brain. In *metal ions and Neurodegenerative Disorders*. Editor Paolo Zatta. World Scientific Publishing. Singapore. Pp. 67-98.
- Vaishnav RA, Getchell ML, Huang L, Hersh MA, Stromberg AJ, and Getchell TV (2008). Cellular and Molecular Characterization of Oxidative Stress in Olfactory Epithelium of Harlequin Mutant Mouse. *Journal of Neuroscience Research* 86: 165-182.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M.(2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1-40.
- Vallejo M, Jáuregui-Renaud K, Hermsillo AG, Márquez MF, Cárdenas M. (2003). Efectos de la contaminación atmosférica en la salud y su importancia en la Ciudad de México. *Gaceta Médica Mexicana*. 139: 56-63.
- Valverde F (2003). The olfactory bulb as a model for experimental studies. *Neurología*; 18(4):177-186.

- Vitarella D, Wong BA, Moss OR, and Dorman DC (2000). Pharmacokinetics of inhaled manganese phosphate in male Sprague-Dawley rats following subacute (14-day) exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 163: 279–285
- Vouk VB, Piver WT (1983). Metallic elements in fossil fuel combustion products: amount and form of emission and evaluation of carcinogenicity and mutagenicity. *Environmental Health Perspective*, 47: 201-205.
- WHO (World Health Organization). (1988) Environmental Health Criteria 81: Vanadium IPCS, UNEP, ILO, WHO, Suiza. pp. 1-31.
- WHO (World Health Organization). (2001). Vanadium Pentoxide and other inorganic Vanadium Compounds. International Program on Chemical Safety. Consise International Chemical Assessment. Document 29:1-52.
- World Health Organization (WHO) International Agency for Reserch on Cancer (2003). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 86. Cobalt in h and metals and Cobalt Sulfate, Gallium Arsenide, Phosphide and Vanadium pentoxide. pp 227-278.
- Yu SP, Canzonier LM, Choi DW (2001). Ion homeostasis and apoptosis. *Current Opinion in Cell Biology.* 13: 405-411.
- Zhang Z, Huang C, Li J, Leonard S.S, Lanciotti R, Butterworth L, and Shi X (2001). Vanadate-Induced Cell Growth Regulation and role of Reactive Oxygen Species. *Arch Biochem Biophys* 392, 311-320.