



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Carrera de biología

“Evaluación de aberraciones cromosómicas en células de la médula ósea de ratones macho CD-1 tratados con fosforo de indio (InP) y tricloruro de indio (InCl₃)”

T E S I S

Que para obtener el título de

Biólogo

Presenta:

Martínez Amador Ulices Fabricio

Director: Dra. Álvarez Barrera Lucila

Asesor: Dr. Juan José Rodríguez Mercado



México, D. F. septiembre de 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Tesis realizada bajo la dirección de la Dra. Lucila Álvarez Barrera y el asesoramiento del Dr. Juan José Rodríguez Mercado, en el Laboratorio de Teratogénesis de la Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental (UNIGEN), que se encuentra a cargo del Dr. Mario Agustín Altamirano Lozano. Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ), UNAM.

Durante el desarrollo de este trabajo se contó con el apoyo del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-DGAPA-UNAM IA201312).



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE.**

Comunico a usted que el alumno **MARTÍNEZ AMADOR ULICES FABRICIO**, con número de cuenta **305028288**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **9 de septiembre de 2014** a las **14:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE M. en C. CARLOS BAUTISTA REYES

VOCAL Dra. LUCILA ÁLVAREZ BARRERA

SECRETARIO Dr. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO

SUPLENTE Dra. ELIA ROLDAN REYES

SUPLENTE Biól. MARÍA CRISTINA ALVARADO DOMÍNGUEZ

El título de la tesis que presenta es: **Evaluación de aberraciones cromosómicas en células de la médula ósea de ratones macho CD-1 tratados con fosforo de indio (InP) y tricloruro de indio (InCl₃).**

Opción de titulación: Tesis

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

México, D. F., a 29 de mayo de 2014

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
DIRECTOR



RECIBÍ
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

VO. BO.
M. en C. ARMANDO CERVANTES SANDOVAL
JEFE DE CARRERA

Dedicatorias

*A mis amados padres, **Elena** y **Rodolfo**, porque siempre me han amado y cuidado, se han preocupado por enseñarme el camino indicado para ser un buen ser humano, además de apoyarme incondicionalmente en todo momento. Yo también les amo con la misma intensidad. Les agradezco infinitamente.*

*A mis hermanos y hermanas: **Javier**, porque en algún momento me apoyaste; **Reyna** porque siempre has estado para mí y has estado pendiente de mí como si me tratase de un hijo tuyo más; **Jesús** porque en mí hay cierto reflejo de tu personalidad; **Juan** porque siempre me has apoyado e inspirado tranquilidad; **Erika** porque has sido una enorme fuente de inspiración y a mi hermana **Marlene** porque tú también me has ayudado bastante, ¿recuerdas cuando me llevabas al kínder?, jeje. En general, a todos ustedes hermanos, porque desde pequeños nos hemos cuidado y divertido mucho, todos han contribuido de alguna u otra forma conmigo y por compartir momentos buenos y malos pero siempre saliendo adelante.*

*Una mención muy especial, para una personita extremadamente importante, a mi novia **Ana Laura**, por amarme intensamente, porque siempre me has brindado tu compañía, apoyo y confianza, porque nos hemos divertido en demasía, por los mil y un sobrenombres que nos hemos asignado mutuamente. Eres la mejor pandita del mundo.*

*A mis grandes amigos de ya muchos años, compañeros del **COH** y casi hermanos, **Rodrigo**, **Lalo**, **Nike** y **Anibal**, y mi gran amigo de la carrera **Antonio**, con quienes compartí momentos inolvidables, borracheras, fiestas, desmanes. Bien dice el refrán, "Dios los hace y ellos se juntan" Los quiero un chingo carnales.*

Agradecimientos

A la Dra. Lucila Álvarez Barrera por aceptarme como parte de su equipo, por todo el apoyo, tiempo, paciencia y conocimientos brindados durante la realización de esta tesis. Me llevo una grata experiencia compartida con usted. ¡Gracias doctora!

Al Dr. Juan José Rodríguez Mercado por sus precisas revisiones y comentarios en la redacción del escrito. Además, por su gran sentido del humor en el quehacer en el laboratorio.

Al Dr. Mario Altamirano Lozano quién fue el que me permitió ser parte del laboratorio 5, sin ello, esta tesis no hubiese sido posible.

Al M. en C. Rodrigo Anibal Mateos Nava, por ser un gran compañero de laboratorio, por las charlas en el mismo, y por compartir un poco de su conocimiento siempre.

A los miembros del jurado:

M. en C. Carlos Bautista Reyes

Dra. Lucila Álvarez Barrera

Dr. Juan José Rodríguez Mercado

Dra. Elia Roldan Reyes

Biól. María Pristina Alvarado Domínguez

por sus valiosos comentarios y sugerencias.

A mis compañeros de laboratorio, Iván y Karla, con quienes empecé esto que hoy culmina, a Gabby, Luz y Diana por aclararme muchas dudas, y por las conversaciones que teníamos, a Karina y Sarari porque al final también conviví con ustedes y hacían muy ameno el trabajo en el laboratorio.

ÍNDICE

Lista de figuras	I
Lista de cuadros	II
1. Resumen	1
2. Introducción.....	3
3. Indio	5
3.1. Características generales	5
3.2. Abundancia en la Tierra	5
3.3. Usos y aplicaciones	6
3.4. Exposición y toxicidad.....	8
4. Metabolismo	11
4.1. Exposición	11
4.2. Absorción	11
4.3. Distribución	12
4.4. Excreción.....	12
5. Fosforo de indio	13
5.1. Características	13
5.2. Producción.....	14
5.3. Usos	14
5.4. Efectos tóxicos.....	14
5.4.1. Genotoxicidad y citotoxicidad	15
5.4.2. Carcinogenicidad.....	16
6. Tricloruro de indio	16
6.1. Características	16
6.2. Usos	16
6.3. Exposición	17
6.4. Efectos tóxicos.....	17
6.5. Genotoxicidad y citotoxicidad	17
6.6. Teratogenicidad	18
6.7. Carcinogenicidad.....	18
7. El ratón como sistema de prueba	18

8.	Médula ósea	19
9.	El genoma del ratón	20
10.	Genotoxicidad	20
10.1.	Aberraciones cromosómicas	21
11.	Justificación	25
12.	Hipótesis	26
13.	Objetivos	27
13.1.	General	27
13.2.	Particulares	27
14.	Material y método	28
14.1.	Animales	28
14.2.	Reactivos	28
14.3.	Tratamiento	28
14.4.	Sacrificio y obtención de las células de la médula ósea.	29
14.5.	Evaluación	30
14.6	Análisis estadístico	30
15.	Resultados	32
15.1.	Efecto de los compuestos de In en el peso de los ratones.	32
15.2.	Efecto del fosforo de indio sobre el IM.	32
15.3.	Efecto del fosforo de indio sobre el porcentaje de células con ACE.	32
15.4.	Efecto del tricloruro de indio sobre el IM.	35
15.5.	Efecto del tricloruro de indio sobre el porcentaje de células con ACE.	35
16.	Discusión	40
16.1.	Efecto del InP y InCl₃ en el peso de los ratones.	40
16.2.	Efecto del InP y InCl₃ sobre el IM.	41
16.3.	Efecto de los compuestos de indio sobre el porcentaje de células con ACE.	42
17.	Conclusiones	47
18.	Referencias	48

Lista de figuras

- Figura 1** Mecanismos de carcinogenicidad producida por metales. Tomado de Beyersmann y Hartwig, 2008.
- Figura 2** Producción mundial de In de 1980 a 2012. Elaborado a partir de Fowler, 2007 y Tolcin, 2013.
- Figura 3** Ruta de absorción de In *in vivo*, unido a transferrina en sangre y su distribución a otros tejidos. Modificado de Fowler, 2007.
- Figura 4** Estructura y componentes de un hueso, donde se aprecian los tipos celulares que se originan de la médula ósea. Modificado de Ganong, 2004.
- Figura 5** Cariotipo normal de ratón macho. Tomado de Akeson y Davisson, 2000.
- Figura 6** Alteración numérica (Poliploidía).
- Figura 7** Microfotografía de células de médula ósea de ratón macho a 40X, donde se puede observar células en metafase (**A**) y células en interfase (**B**).
- Figura 8** Diagrama que muestra el procedimiento para obtener las preparaciones citogenéticas.
- Figura 9** Efecto del fosforo de indio sobre el IM en células de médula ósea de ratón macho CD-1.
- Figura 10** Porcentaje de células de médula ósea con ACE con y sin brechas, inducidas por fosforo de indio.
- Figura 11** Efecto del tricloruro de indio sobre el IM en células de médula ósea de ratón macho CD-1.
- Figura 12** Porcentaje de células de médula ósea con ACE con y sin brechas, inducidas por tricloruro de indio.
- Figura 13** Microfotografías a 100X de células en metafase de médula ósea de ratones macho CD-1. En **A** cariotipo normal, de **B** a **E** tratados con fosforo de indio y en **E** con 25 mg/Kg de CP. **B**) rompimientos y fragmentos, **C**) rompimiento cromosómico, **D**) deleciones, **E**) rompimiento cromatídico y **F**) pulverización.
- Figura 14** Microfotografías a 100X de células en metafase de médula ósea de ratones macho CD-1 tratados con tricloruro de indio de **A** a **D**. **A**) deleciones, **B**) rompimiento cromatídico, **C**) rompimiento cromosómico y **D**) fragmentos.

Lista de cuadros

- Cuadro I** In presente en minerales sulfurosos y en oxido de estaño. Tomado de Smith *et al.*, 1978.
- Cuadro II** Usos de In y sus compuestos. Tomado de Fowler, 2007.
- Cuadro III** Valores tóxicos para algunos compuestos de In. Tomado de Blazka, 1998.
- Cuadro IV** Alimentos que contienen In. Elaborado a partir de Repetto y del Peso, 2012.
- Cuadro V** Lesiones en pulmón en estudios experimentales de compuestos de indio (In). Tomado de Tanaka *et al.*, 2010.
- Cuadro VI** Aberraciones cromosómicas estructurales en médula ósea de ratón. Modificado de Dean y Danford, 1984.
- Cuadro VII** Grupos y concentraciones de los compuestos, así como la cantidad de In presente.
- Cuadro VIII** Pesos de los ratones tratados con diferentes compuestos de In.
- Cuadro IX** Índice mitótico (IM) y porcentaje de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) de las células de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1, tratados 24 h con diferentes dosis de fosfuro de indio (InP).
- Cuadro X** Índice mitótico (IM) y porcentaje de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) de las células de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1, tratados 24 h con diferentes dosis de tricloruro de indio (InCl₃).

1. Resumen

El indio (In) es un metal pesado que forma parte del grupo 13 (III A), que debido a sus propiedades únicas tiene una gran variedad de usos, por ejemplo se utiliza para la fabricación de dispositivos electrónicos, semiconductores, pantallas de cristal líquido y en el diagnóstico médico. Debido a que la producción mundial de In creció 200% del 2002 a 2012, se pronostica que su demanda se incremente aún más.

Algunos estudios muestran que compuestos que contienen In tales como el óxido de indio-estaño (ITO), arseniuro de indio (InAs), fosfuro de indio (InP) y tricloruro de indio (InCl₃), producen diversos efectos dañinos en el sistema respiratorio de animales de experimentación. Efectos carcinogénicos también han sido encontrados en ratas y ratones expuestos a InP, razón por la cual la IARC lo clasificó en el grupo 2A como probable carcinogénico en humanos y desde el 2003 se han reportado casos donde se ha detectado daño en pulmones de trabajadores expuestos a compuestos de In, incluida la muerte de un trabajador en Estados Unidos.

En México no hay producción de este metal, pero las principales fuentes de exposición se da en las ensambladoras de aparatos electrónicos, en las minas de zinc y en el ambiente ya que en el 2002 se realizó un monitoreo de calidad del aire en el Valle de México y se detectó In en las partículas menores a 10 micras, las cuales penetran la vía respiratoria. Además, se ha reportado que el In está presente en alimentos de consumo humano como carne de res y jamón (0.01 mg/Kg), algas, pescados (0.4-7 mg/Kg) y mariscos (10-15 mg/Kg).

En la literatura hay pocos trabajos relacionados con su toxicidad celular y genética del In y sus compuestos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el índice mitótico (IM), número y tipo de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en células de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 InP y InCl₃. Se utilizaron 9 grupos de 6 ratones cada uno; 3 grupos a los que se les administro InP en dosis de 5, 10 y 20 mg resuspendido

en aceite de maíz y un grupo control tratado con aceite. Tres grupos tratados con 7.89, 15.38 y 30.78 mg de InCl_3 disuelto en agua inyectable y un grupo control tratado con el vehículo. Además, un grupo tratado con 25 mg/kg de ciclofosfamida (CP) como testigo positivo. En todos los casos el tratamiento fue una dosis durante 24 horas.

Los resultados obtenidos muestran que en los grupos tratados con InP , el IM se redujo significativamente en las dosis de 10 y 20 mg, mientras que en los tratados con InCl_3 se presentó disminución en todas las dosis.

Por otro lado, los ratones tratados con 10 y 20 mg de InP , presentaron incremento en el porcentaje de células con ACE, y en los expuestos a InCl_3 se observa incremento en todas las dosis.

Los resultados de este trabajo establecen que ambos compuestos de In administrados vía intragástrica durante 24 horas a ratones macho de la cepa CD-1, disminuyen el IM, además producen el incremento del número de células con ACE, colocando así al fosforo y tricloruro de indio, como agentes citotóxicos y genotóxicos, con actividad clastogénica.

2. Introducción

De todos los elementos identificados 67 son metales. Comúnmente se utiliza el término “metal pesado” para describir a los que están asociados con la contaminación o con potencial tóxico. De manera estricta, los metales pesados pueden definirse de acuerdo sus características físicas tal como su reflectividad, conductividad eléctrica y térmica, sus propiedades mecánicas como dureza y ductilidad, pero particularmente porque su densidad específica debe ser 5.0 g/cm^3 o mayor, además de que su peso atómico puede encontrarse entre 63.5 y 200.6 g/mol (Cornelis y Nordberg, 2007).

Los metales han sido utilizados por el hombre desde la antigüedad como herramientas para la cacería, y en la época moderna en la minería, en la elaboración de baterías para obtener energía, en fertilizantes, pesticidas y en la industria electrónica en conductores o semiconductores (Fergusson, 1990).

También se han utilizado en la medicina, por ejemplo los chinos y árabes empleaban zinc para promover la cicatrización de las heridas, los egipcios utilizaban cobre para esterilizar el agua. Durante el renacimiento europeo usaban cloruro de mercurio como diurético y descubrieron el valor nutricional del hierro. Uno de los primeros usos terapéuticos con compuestos metálicos fue para tratar de la tuberculosis usando aurocianuro de potasio ($\text{K}[\text{Au}(\text{CN})_2]$) (Chen *et al.*, 2009).

Gran parte de los metales que existen en la naturaleza tienen funciones biológicas que son de gran importancia para los organismos vivos: Algunos incluyendo al sodio (Na^+), potasio (K^+) y magnesio (Mg^{+2}) actúan como iones orgánicos, otros como el cobre (Cu), níquel (Ni), zinc (Zn), cobalto (Co), hierro (Fe) y molibdeno (Mo) son constituyentes de pigmentos naturales y enzimas en las plantas (Fu y Wang, 2011).

Así como algunos metales poseen un papel biológico, otros pueden ser perjudiciales, ya que la exposición constante a ellos está relacionada con efectos adversos como toxicidad orgánica, en las células y en los componentes celulares (Rodríguez-

Mercado y Altamirano-Lozano, 2006; Fu y Wang, 2011; Rana, 2008). Metales como el cadmio (Cd), el plomo (Pb) y el mercurio (Hg) son extremadamente tóxicos debido a que ocasionan alteraciones en las funciones de algunas enzimas, reemplazan metales esenciales en sistemas enzimáticos, producen especies reactivas de oxígeno, inhiben la reparación del ADN (ácido desoxirribonucleico), alteran la expresión de genes y todo esto puede conducir al desarrollo de cáncer (Figura 1), (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999; Babula *et al.*, 2008; Beyersmann y Hartwig, 2008).

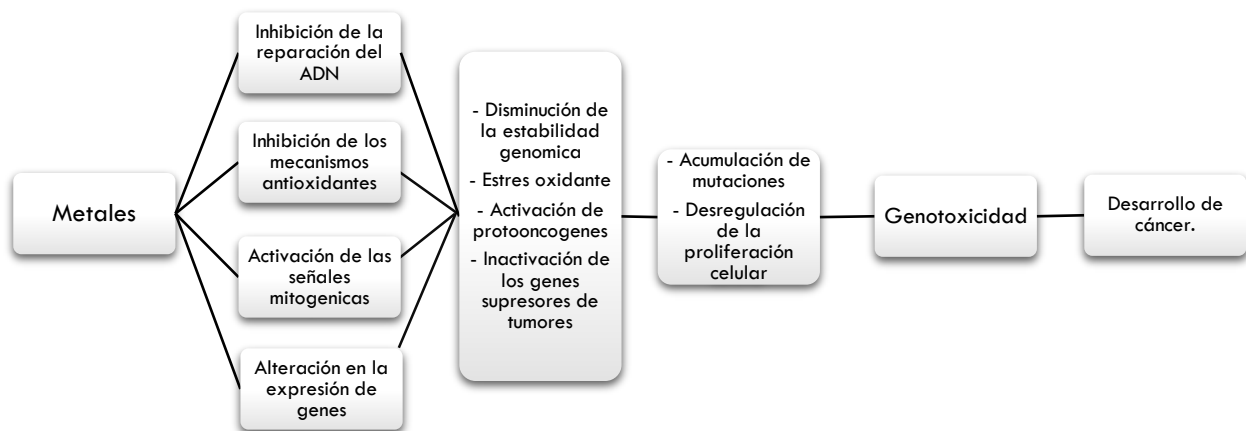


Figura 1. Mecanismos de carcinogenicidad producida por metales. Modificado de Beyersmann y Hartwig, 2008.

Los seres humanos y en general los seres vivos, estamos expuestos a una variedad y cantidad de metales a través del aire, agua, suelo y en los alimentos (Sandaltzopoulos *et al.*, 2009). Sin embargo, una de las principales fuente de exposición es la laboral, en los últimos años, la gran utilización y desarrollo de dispositivos opto-electrónicos y pantallas de LCD (Liquid Crystal Display) han posicionado al In, como uno de los metales de gran importancia para realizar estudios y evaluar su potencial tóxico, y así, comprender los efectos que ejercen sobre los organismos y su modo de acción.

3. Indio

3.1. Características generales

Fue descubierto por Reich y Richter en 1863, el nombre se debe al color azul índigo de su espectro (Alfantazi y Moskalyk, 2003), algunas características notables son su gran maleabilidad, su resistencia a la oxidación, su ligera solubilidad en ácidos minerales e insolubilidad en agua o ácidos orgánicos (Jorgenson y George, 2005). Pertenece al grupo 13 (familia III A) de la tabla periódica, posee un peso atómico de 114.818 g/mol, número atómico 49, densidad 7.31g/cm³, punto de fusión 156.6°C y punto de ebullición 2080°C. En su forma elemental es de color blanco-plateado, es considerado un metal suave y puede encontrarse en tres estados de oxidación I, II y III, donde los compuestos en estado de oxidación III son los más estables en sistemas acuosos (Fowler, 2007).

Por sus diversos usos, los compuestos inorgánicos de In de mayor interés toxicológico son fosfuro de indio (InP), arseniuro de indio (InAs), tricloruro de indio (InCl₃), óxido de indio (In₂O₃), sulfato de indio (In₂(SO₄)₃), sulfuro de indio (In₂S₃), sesquióxido de indio (In₂O₃) e hidróxido coloidal de indio (InOH). El fosfuro y el arseniuro de indio son usados en la manufactura de semiconductores, mientras que el fosfuro de indio es usado en la producción de nanopartículas y nanocables semiconductores y en la elaboración de pantallas de LCD (Akaogi *et al.*, 2004; Mikkelsen *et al.*, 2004).

3.2. Abundancia en la Tierra

El In es el elemento número 61 en abundancia en la Tierra y se estima que está presente en 0.24 ppm/Kg o en una concentración de 52 µg/Kg, esto hace que sea casi tres veces más abundante que la plata y el mercurio (Jorgenson y George, 2005). En sedimentos marinos, se encuentra en concentraciones que van de 74-120 µg/Kg (Matthews y Riley, 1970), en lagos presenta cantidades similares de 20-150 µg/Kg, mientras que el agua de manantiales tiene cantidades picomolares de In, semejantes a 0.1 ng/Kg (Grahn *et al.*, 2006). Se encuentra en plantas y en tejidos

de animales de consumo humano, los niveles se localizan por debajo de 0.01 mg/Kg para carne de res y jamón, para algas y pescados es de 0.4-7 mg/Kg y para mariscos que son colectados cerca de desagües de fundidoras se estimó que contienen de 10-15 mg/Kg de In (Fowler, 2007; Repetto y Del Peso, 2012).

El In se encuentra asociado con minerales que contienen estaño, plomo, cobre, así como minerales de hierro, aunque también es común encontrarlo unido a materiales con zinc como en la esfalerita (Cuadro I) (Alfantazi y Moskalyk, 2003).

Cuadro I. In presente en minerales sulfurosos y en óxido de estaño.

Mineral	Composición mineral	Concentración normal de In (ppm)	Concentración máxima de In (ppm)
Esfalerita	Sulfuro de hierro-zinc	5-100	5000
Galena	Sulfuro de plomo	5-10	100
Boulangerita	Sulfuro de antimonio-plomo	10-50	300
Calcopirita	Sulfuro de hierro-cobre	10-50	1000
Bournonita	Sulfuro de antimonio-plomo-cobre	10-50	300
Casiterita	Óxido de estaño	10-50	10000

Tomado de Smith *et al.*, 1978.

El In también forma parte de combustibles fósiles como el carbón, que contiene 100 µg/Kg, en petróleo donde la concentración normal es de 1 µg/Kg pero puede llegar hasta 20 mg/Kg (Smith *et al.*, 1978). En la minería este metal es recuperado de humos, polvos, residuos de aleaciones de Zn y de la fundición de minerales con plomo (White y Hemond, 2012).

3.3. Usos y aplicaciones

Los usos del In van desde formar parte del óxido de indio-estaño (ITO) utilizado como recubrimiento de pantallas de LCD, en la fabricación de celdas de gran eficiencia fotovoltaica, así como en los LED (Light-Emitting Diode) (Nakamura *et al.*,

1994). También es empleado en aplicaciones en nanoescala de punto cuántico, en pantallas flexibles, en paneles solares, entre otros usos (Cuadro II). El ^{111}In es un isótopo con una vida media de 2.8 días (de emisión gamma) empleado en tomografía computarizada para el escaneo de órganos (Wadas *et al.*, 2010) o para marcar fármacos usados en terapia contra el cáncer (Manyak, 2008).

Cuadro II. Usos de In y sus compuestos.

Usos	Forma química/Isótopo
Rodamientos de automóviles	Aleación con acero
Esmaltes	^{111}In , ^{114}In
Escaneo de órganos	^{111}In , ^{114}In
Amalgamas dentales	InHg
Dopado de semiconductores para chips de silicón	In con Ga, Al, As, Sb
Semiconductores III-V	InAs, InP, InAlGa
Pantallas de televisiones de plasma	InAs, InP
Fibra óptica, diodos emisores de luz (LED)	InAs, InP
Nanopartículas	InP, InSb, InSnO

Tomado de Fowler, 2007.

El principal país productor de In es China, seguido por Japón, Corea, Canadá y Bélgica (Jorgenson y George, 2005). La producción mundial de In de 1980 a 2012 muestra un gran incremento, en 1982 fue de más de 50 toneladas, para 2002 se registraron 335 y en 2012 la producción mundial fue de 670 toneladas (Figura 2).

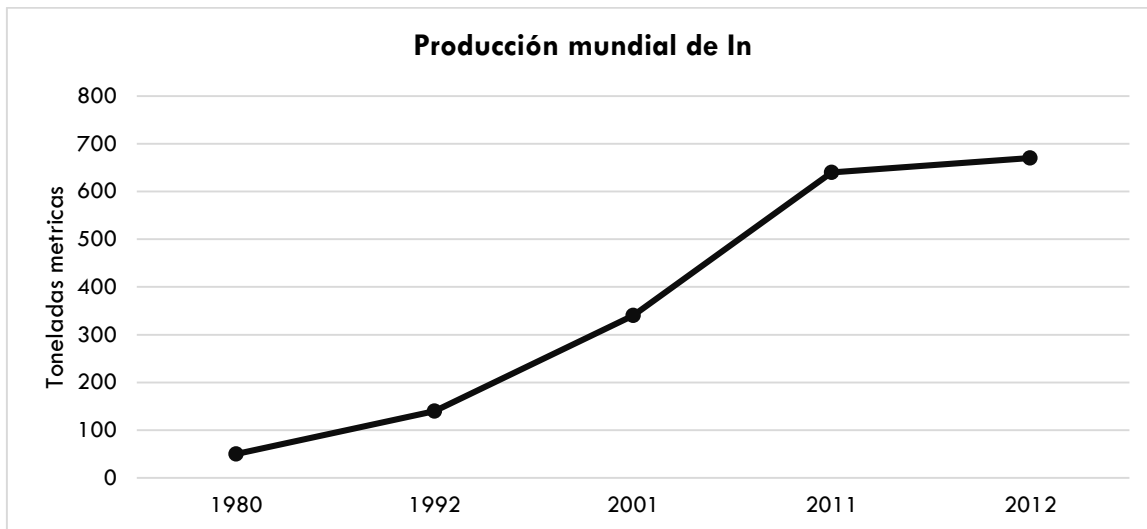


Figura 2. Producción mundial de In de 1980 a 2012. Elaborado a partir de Fowler, 2007; Tolcin, 2013.

3.4. Exposición y toxicidad

La elevada producción y uso de materiales que contienen partículas de In en la industria, como la microelectrónica, ha incrementado la preocupación por las cuestiones de seguridad de los trabajadores que están expuestos al cortar, moler y pulir materiales que contienen este metal (Gwiin *et al.*, 2013).

La exposición humana a In puede ocurrir durante la elaboración de sus diferentes compuestos, durante el manejo y reutilización de los desechos en la industria electrónica o como resultado de la utilización de isotopos para el escaneo de órganos y en el tratamiento de tumores (Friberg y Elinder, 1993; Flora, 2000).

El Instituto Nacional para la Salud y Seguridad Ocupacional y la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (NIOSH y ACGIH por sus siglas en inglés), han establecido límite de exposición recomendado para In en aire de 0.1 mg/m^3 (Hines *et al.*, 2013). La Sociedad Japonesa para la Salud Ocupacional (JSHO) ha propuesto un límite de exposición biológica de 0.0003 mg/L de In en suero y el Ministerio Japonés de Salud, Trabajo y Bienestar un límite de 0.0003 mg/m^3 para el In que se respira (JMHLW, 2013).

En la literatura, en 2003 se reportó el primer caso de neumonía intersticial en Japón, causada por exposición laboral a ITO (Homma *et al.*, 2003), para el 2010 ya se habían reportado 10 casos de enfermedad pulmonar y una muerte por la exposición a compuestos de In (Omae *et al.*, 2011), causada por fibrosis pulmonar con o sin enfisema (Cummings *et al.*, 2010) que se conoce como “pulmón de indio”.

Choi *et al.*, (2013) reportaron que en trabajadores expuestos a compuestos de In, principalmente ITO, presentó una relación entre dicha exposición y el desarrollo de daño intersticial en pulmón. Además, la concentración del metal en suero ($10.9 \mu\text{g/L}$) excedió el valor límite permitido que es de $0.3 \mu\text{g/L}$.

En otro estudio se reportaron efectos adversos entre trabajadores que llevaban 6 años laborando comparados con trabajadores recién contratados, dichos efectos fueron, baja capacidad pulmonar, baja capacidad de difusión, además de concentraciones de In en sangre iguales o mayores a $5 \mu\text{g/L}$, por lo que Cummings *et al.*, (2013) señala que existe una relación entre la concentración de indio en sangre y los efectos pulmonares antes descritos.

Es importante mencionar que en nuestro país se ensamblan productos que contienen este metal, como pantallas de LCD para televisores, computadoras y celulares (Centro de estudios de competitividad, 2005). Además, se tienen reportados datos de las concentraciones de In en la atmósfera del Valle de México, donde se encontró a este elemento formando parte del material particulado de origen antrópico, las PM_{10} , $\text{PM}_{2.5}$ y PM_1 , en 0.6, 0.8 y 2.5 %, respectivamente (Sepúlveda, 2002). Dichas partículas son algunas de las principales formas de contaminantes atmosféricos y se caracterizan por penetrar fácilmente en las vías respiratorias e interactuar con su superficie, provocando síntomas como ardor garganta, disnea, tos así como ardor de ojos y a largo plazo enfermedades crónicas como asma, bronquitis y enfisema pulmonar (Sepúlveda, 2002).

Se han estimado valores tóxicos de exposición para algunos compuestos de In en diferentes especies de animales de experimentación (Cuadro III) (Blazka, 1998).

Cuadro III. Valores tóxicos para algunos compuestos de In.

Compuesto (Formulación química)	Especie	mg/Kg	mg/Kg	Ruta de administración	Dosis
		Compuesto	Indio		
Trióxido de indio (In_2O_3)	Ratón	479	396	Intraperitoneal	DL ₅₀
	Ratón	5005	4136	Intraperitoneal	DL ₁₀₀
	Rata	1156	955	Intraperitoneal	DL ₁₀₀
Trióxido de indio hidratado ($\text{In}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	Ratón	0.4	0.3	Intravenosa	DL ₅₀
$\text{In}(\text{OH})_3$	Ratón	0.9	0.6	Intravenosa	DL ₅₀
	Ratón	1.6	1.1	Intravenosa	DL ₁₀₀
Tricloruro de indio (InCl_3)	Perro	1	0.5	Intravenosa	DL ₁₀₀
	Ratón	24.3	12.6	Intravenosa	DL ₅₀
	Ratón	5	2.6	Intraperitoneal	DL ₅₀
	Rata	4200	2180	Oral	DL ₅₀
	Rata	7.9	4.1	Intravenosa	DL ₅₀
	Rata	3.5	1.8	Intraperitoneal	DL ₅₀
	Rata	6.4	3.3	Intraperitoneal	DL ₁₀₀
	Conejo	2138	1110	Oral	DL ₅₀
	Conejo	0.6	0.3	Intravenosa	DL ₁₀₀
	Conejo	8.9	4.6	Intraperitoneal	DL ₁₀₀
Nitrato de indio [$\text{In}(\text{NO}_3)_3$]	Ratón	3350	1279	Oral	DL ₅₀
	Ratón	7.5	2.9	Intraperitoneal	DL ₅₀
	Ratón	100	38.2	Intraperitoneal	DL ₁₀₀
	Rata	5.5	2.1	Intraperitoneal	DL ₅₀
Sulfato de indio [$\text{In}_2(\text{SO}_4)_3$]	Rata	22.5	10	Subcutánea	DL ₅₀
	Rata	28.3	12.5	Subcutánea	DL ₁₀₀
	Rata	5.6	2.5	Intravenosa	DL ₅₀
	Rata	28.5	12.6	Intravenosa	DL ₅₀
	Rata	40.5	18	Intraperitoneal	DL ₁₀₀
	Conejo	2.5	1.1	Subcutánea	DL ₁₀₀
	Conejo	9.7	4.3	Intraperitoneal	DL ₁₀₀
Citrato de indio [$\text{In}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_3$]	Ratón	600	101	Subcutánea	DL ₅₀
Antimoniuro de indio (InSb)	Ratón	4770	1800	Intraperitoneal	DL ₅₀
	Ratón	5974	2900	Intraperitoneal	DL ₁₀₀

DL, dosis letal

Tomado de Blazka, 1998.

4. Metabolismo

4.1. Exposición

Los trabajadores en las industrias han estado expuestos a In y sus compuestos desde los años 40's; por ejemplo durante la extracción de minerales que contienen polvos con In, en la producción de cristales, en la metalurgia y en la fabricación de anticorrosivos (Blazka *et al.*, 1994). En los últimos 20 años, debidos a la diversificación del uso del In, también han estado expuestos mediante la elaboración de láseres, semiconductores, películas conductoras para pantallas de LCD y en la medicina con el uso de isotopos para el diagnóstico médico (Gwinn *et al.*, 2013; Choi *et al.*, 2013; Takagi *et al.*, 2011). Además se han reportado algunos alimentos de consumo humano que contienen In (CuadroIV).

Cuadro IV. Alimentos que contienen In

Alimento	Cantidad de In
Carne de res y jamón	0.01 mg/Kg
Algas y pescados	0.4-7 mg/Kg
Mariscos	10-15 mg/Kg

Elaborado a partir de Repetto y del Peso, 2012.

4.2. Absorción

Los compuestos de In a los que están expuestos los trabajadores, tanto en la minería, así como en la industria electrónica y en el manejo de residuos, entran al cuerpo mediante la respiración de los polvos que los contienen. No se conoce si el In es absorbido cuando es administrado oralmente, pero aparentemente es acumulado en riñones y las glándulas mamarias después de una administración parenteral (Maghraoui *et al.*, 2011a).

Estudios experimentales evaluando la administración de InCl_3 a humanos mediante nebulización ultrasónica demostró una mayor acumulación en las vías respiratorias, con un porcentaje de entre 1.3-4.4% de deposición en los alveolos (Isitman *et al.*,

1974). Coates *et al.*, (1973, citado por Fowler, 2007), reportaron que no hay niveles detectables después de la administración de 500- μ Ci de ^{113}In en forma de InCl_3 en humanos. Van Hulle *et al.*, (2005) después de administrar por vía oral ^{114}In en forma de InAs , en ratas, tampoco encontró niveles detectables de In .

Homma *et al.*, 2005 reportaron que en una persona que estuvo expuesta durante cuatro años a ITO, presento valores de In en suero de 51 $\mu\text{g/L}$ (valores normales son $<0.1 \mu\text{g/L}$), además del desarrollo de fibrosis pulmonar y enfisema. Concentraciones de In en sangre mayores o iguales 5 $\mu\text{g/L}$ han sido encontradas en trabajadores expuestos a polvos de ITO durante 6 años (Cummings *et al.*, 2013).

4.3. Distribución

Los iones de In son transportados en sangre al estar unidos a transferrina, y permanece principalmente en la fracción plasmática, sin embargo, se encuentra en pequeñas cantidades en las células rojas. La distribución a otros tejidos del organismo depende principalmente del compuesto metálico. El In iónico es ampliamente acumulado en riñones, mientras que el In coloidal es acumulado en hígado, vaso y sistema retículo-endotelial (Castronovo y Wagner, 1973). En hámsteres tratados con arseniuro de indio mostraron una mayor acumulación en hígado, riñones y vaso, y menor acumulación en pulmones (Yamauchi *et al.*, 1992), (Figura 3).

4.4. Excreción

La ruta primaria de excreción está determinada por la forma química administrada. Por ejemplo, el In iónico es excretado en mayor medida en orina, mientras que algunos complejos hidratados de In son excretados principalmente mediante heces. En ratón se ha encontrado que el 52% de In iónico es excretado en orina y 53% de In coloidal es eliminado a través de heces (Castronovo y Wagner, 1973; Fowler, 2007).

Yamauchi *et al.*, 1992, reportaron que en ratones tratados con una única dosis de arseniuro de indio (100mg/Kg), aproximadamente 0.05% del In es excretado diariamente, durante 30 días. Mediante la orina fue la vía de eliminación primaria, pero la eliminación a través de las heces fue mayor.

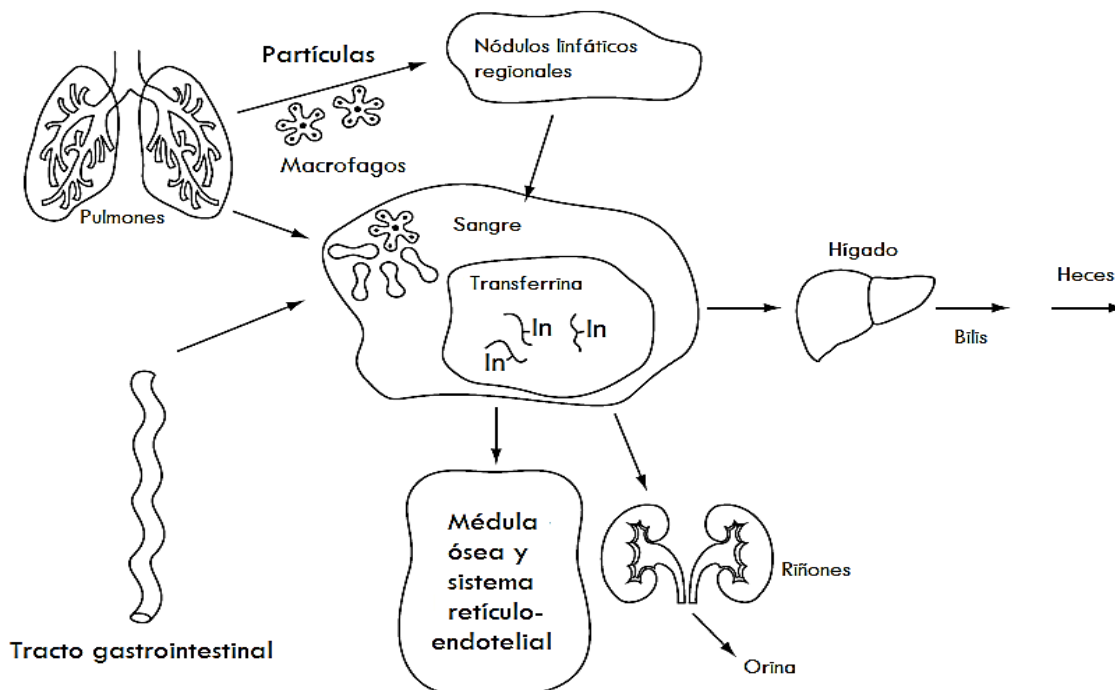


Figura 3. Ruta de absorción de In *in vivo*, unido a transferrina en sangre y su distribución a otros tejidos. Modificado de Fowler, 2007.

5. Fosforo de indio

5.1. Características

Es un polvo de color gris oscuro o sólido metálico quebradizo. Tiene un punto de fusión de 1070 °C y una densidad específica de 1.79 g/cm³. Se oxida en aire a temperaturas por encima de 700 °C. No es soluble en solución salina ni en fluido sintético de pulmón (solución de Gamble) y es parcialmente soluble en ácidos minerales. Sin embargo, el fosforo de In ha mostrado ser soluble en fluido gástrico sintético cuando se calienta a 37 °C (NTP, 2001).

5.2. Producción

El fosfuro de indio es un compuesto sintetizado artificialmente. Es preparado combinando indio y fósforo a una presión y temperatura elevadas, de 400 a 1100 °C (Smith *et al*, 1978). También se obtiene por descomposición térmica de una mezcla de trietilindio y fosfina (IARC, 2006).

5.3. Usos

Es ampliamente usado en la industria microelectrónica debido a sus propiedades fotovoltaicas. Comparado con otros materiales semiconductores, como el arseniuro de galio, el fosfuro de indio es más rápido para reaccionar, requiere menos energía, puede manejar mayor potencia de salida y posee buena estabilidad térmica. Con él se fabrican semiconductores, láseres de inyección, celdas solares, fotodiodos y LEDs (NTP, 2001).

5.4. Efectos tóxicos

A principios de los años noventa se publicaron trabajos que reportaron efectos tóxicos en humanos y animales, después a mediados de esa década, estudios de la administración intratraqueal de partículas de diferentes compuestos como el fosfuro, el arseniuro y el tricloruro de indio mostraron que tienen gran potencial para producir daño en pulmón fibrosis, proteinosis y enfisema (Nakano *et al.*, 2009).

Toxicidad pulmonar aguda fue observada después de la exposición a partículas de InP e ITO por aspiración orofaríngea en ratones (Kirby *et al.*, 2009) o después de la administración por sonda en hámsteres (Tanaka *et al.*, 2002, 2010).

Los compuestos insolubles de In son menos tóxicos cuando son administrados oralmente, sin embargo, no hay datos suficientes acerca de la dosis letal de compuestos insolubles del metal cuando estos son administrados de manera intratraqueal (Tanaka *et al.*, 2010). En Cuadro V, se muestran algunos de los efectos nocivos en pulmón de animales de laboratorio tratados con compuestos de In.

Cuadro V. Lesiones en pulmón en estudios experimentales de compuestos de In.

Compuesto de In	Modelo de prueba	Lesiones en pulmón
InAs	Hámster	Quiste epidermoide, lesiones parecidas a proteinosis pulmonar, metaplasia de células escamosas, hiperplasia con queratinización, neumonía, enfisema.
InP	Rata, ratón y hámster	Tumor en pulmón (adenoma, adenocarcinoma), hiperplasia con metaplasia de células escamosas, neumonía.
ITO	Hámster	Neumonía.

Tomado de Tanaka *et al.*, 2010.

5.4.1. Genotoxicidad y citotoxicidad

Un estudio realizado en el laboratorio de la Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental de la FES-Zaragoza, llevado a cabo por Beltrán-Mendoza en el 2011, en el que administro intragástricamente 5, 10 y 20 mg de InP, a ratones macho de la cepa CD-1, donde evaluó el daño al ADN en diferentes órganos, detecto que varios de los órganos presentaron células con daño al ADN en los ratones tratados durante 24 h con respecto al grupo control. En la dosis de 5 mg las células pequeñas de testículo y las del pulmón presentaron rupturas de cadena en el ADN, mientras que en el grupo de 10 mg se encontraron en las células sanguíneas, las de pulmón y las de corazón. Para el grupo al que se le administro 20 mg, además del daño encontrado en las células de los tejidos mencionados, también se encontró daño en el ADN en las células del hígado (Beltrán-Mendoza, 2011). Con respecto a la citotoxicidad, en el trabajo antes mencionado, se encontró que la viabilidad se mantiene arriba del 80% en todos los tratamientos.

5.4.2. Carcinogenicidad

Estudios donde se evaluó la exposición a InP, en forma de partículas en aerosol, por inhalación en ratas (Gottschiling *et al.*, 2001) y en ratones (NTP, 2001) demostraron claramente la presencia de inflamación asociada a estrés oxidante seguido del desarrollo de cáncer de pulmón, manifestado como carcinoma de bronquios y alveolos en ratones. En ratas se presentó el desarrollo de leucemia y carcinoma de glándula mamaria.

Por lo anterior, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, International Agency for Research on Cancer), ha clasificado al InP en el grupo 2A como probable carcinogénico en humanos, debido a que ocasiona una alta incidencia de neoplasmas malignos en pulmones de ratas y ratones, incrementa la incidencia de feocromocitomas en ratas e incrementa también la incidencia de neoplasmas hepatocelulares en ratón.

6. Tricloruro de indio

6.1. Características

Es un polvo blanco, inodoro y altamente delicuescente. Estas partículas son escamas o en forma de placas y muy solubles en agua y ácidos minerales (www.indium.com, 2013).

6.2. Usos

El tricloruro de indio es usado en medicina en forma de isotopo para el diagnóstico de mielopoyesis ya que es acumulado en eritroblastos, también es usado en la manufactura de películas conductoras transparentes para pantallas de LCD (Takagi *et al.*, 2011) y para la preparación de nanopartículas de óxido de indio-estaño (ITO) en proceso de co-precipitación con cloruro de estaño (Lin *et al.*, 2011).

6.3. Exposición

Las principales fuentes de exposición a este compuesto de In son la laboral y quizá, en la medicina (Takagi *et al.*, 2011).

6.4. Efectos tóxicos

El tricloruro de indio administrado a ratas, conejos y perros, en concentraciones que van de 0.33 a 3.6 mg/Kg provocó daño en riñones (Downs *et al.*, 1959, citado por Castronovo y Wagner, 1973). La administración intratraqueal en ratas produce daño severo en pulmones y fibrosis (Blazka *et al.*, 1994).

6.5. Genotoxicidad y citotoxicidad

En el 2011 Lin *et al.*, reportaron que el tricloruro de indio aplicado a fibroblastos de pulmón de hámster chino (células V79) incrementó la frecuencia de MN significativamente en las concentraciones que van de 0.1 a 1 μM , de manera dosis-dependiente.

Por otro lado en ratones BALB/c tratados con una dosis aguda, intraperitoneal de tricloruro de indio (0.625, 1.25, 2.5, 5.0 y 10.0 mg/Kg), se encontró que la frecuencia de micronúcleos aumenta significativamente en las cuatro primeras dosis, mientras que en la dosis de 10.0 mg/Kg la presencia de micronúcleos disminuye debido a que a esta concentración tiene un efecto tóxico que suprime la división de los eritroblastos (Takagi *et al.*, 2011).

Así mismo, Bustamante *et al.* (1997) encontraron que la viabilidad de timocitos de rata que fueron expuestos 6 horas a 1, 10 y 100 μM de tricloruro de indio, disminuye a 97%, 94% y 86% respectivamente. También midieron fragmentación del ADN en el mismo tipo celular, mediante electroforesis en gel de agarosa y obtuvieron fragmentaciones de 16 ± 2 , 22 ± 5 y $27\pm 6\%$ en las mismas dosis, respectivamente. Además es capaz de inducir muerte celular por apoptosis de manera dosis-dependiente a las concentraciones de 1 y 10 μM , y muerte celular por

necrosis a la dosis de 100 μM , y aunque se desconocen los mecanismos, el autor propone que pueden ocurrir alteraciones en la homeostasis de iones intracelulares y también es posible que el InCl_3 afecte el balance oxidante de la célula.

6.6. Teratogenicidad

En ratas preñadas la administración vía intraperitoneal de tricloruro de indio (0.4 mg/Kg) en el día 9, 10 y 11 de gestación, ocasiono malformaciones externas y de órganos en los fetos, braquiura, anuria, cola enroscada, atresia anal y oligodactilia fueron las observadas con más frecuencia (Nakajima *et al.*, 1998, 2000). Por otra parte, la administración oral repetida de tricloruro de indio a hembras gestantes, del día 6 al 15 de gestación, en concentración de 250 mg/Kg/día produce muerte fetal (Najakima *et al.*, 1999).

6.7. Carcinogenicidad

No se encontraron estudios de carcinogenicidad para tricloruro de indio en la literatura.

7. El ratón como sistema de prueba

El ratón domestico de Europa y Norte América (*Mus musculus*), es el animal más usado en la investigación. Es miembro del orden Rodentia, familia Muridae y subfamilia Murinae.

Los ratones son utilizados como modelos en distintas áreas de investigación, incluyendo la del cáncer, la inmunología, la toxicología, del metabolismo, la biología del desarrollo, diabetes, obesidad y otras. Estos roedores han sido seleccionados debido a múltiples ventajas que presentan con respecto a otros modelos *in vivo*, por ejemplo son de tamaño pequeño, relativamente económicos, fáciles de conseguir, de almacenar y de alimentar. Otras ventajas son que alcanzan la madurez sexual rápidamente, las camadas son numerosas, tienen un periodo corto de gestación, un tiempo natural de vida de dos años, que lo ubica como un perfecto modelo en pruebas de reproducción o de exposición a compuestos, está caracterizado genéticamente y muchas de las enfermedades que afectan al ser humano también afecta a los ratones (Suckow *et al.*, 2001).

Al emplear el ratón como sistema de prueba *in vivo*, se pueden evaluar diversos parámetros para medir la toxicidad en diferentes tejidos, destacado el de médula ósea para pruebas de genotoxicidad (Suckow *et al.*, 2001).

8. Médula ósea

La médula ósea es un excelente tejido para realizar pruebas de genotoxicidad en modelos *in vivo* en ratones, posee la característica de ser un tejido siempre en proliferación (Krishna, 1986).

Es un componente importante del sistema inmune en los organismos superiores, se encuentra principalmente en los huesos largos y planos como el fémur; se compone de una gran variedad de tipos celulares multipotentes de origen hematopoyético (Figura 4). Al realizar el ensayos citogenéticos como el de aberraciones cromosómicas en células de la médula ósea de ratones, las principales células que se analizan son todas aquellas que tienen núcleo tales como los precursores de los leucocitos, cuyo ciclo celular dura alrededor de 12 horas (Akeson y Davisson, 2000).

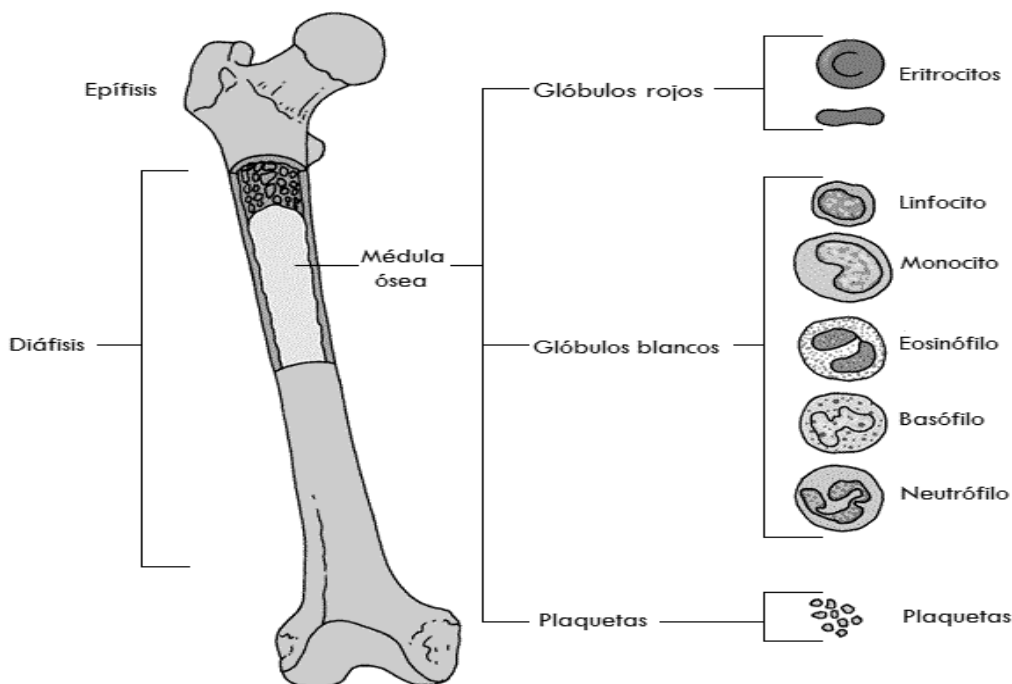


Figura 4. Estructura y componentes de un hueso, donde se aprecian los tipos celulares que se originan de la médula ósea. Modificado de Ganong, 2004.

9. El genoma del ratón

El cariotipo de ratón posee 19 pares de autosomas y 1 par de cromosomas sexuales, XX para hembra (homogamética) o XY para macho (heterogamético), quedando así configurado por 40 cromosomas para la condición diploide ($2n$) y 20 cromosomas para la haploide (n) (Figura 5). Todos los cromosomas son acrocéntricos, es decir, el centrómero está situado en un extremo (Akeson y Davisson, 2000).

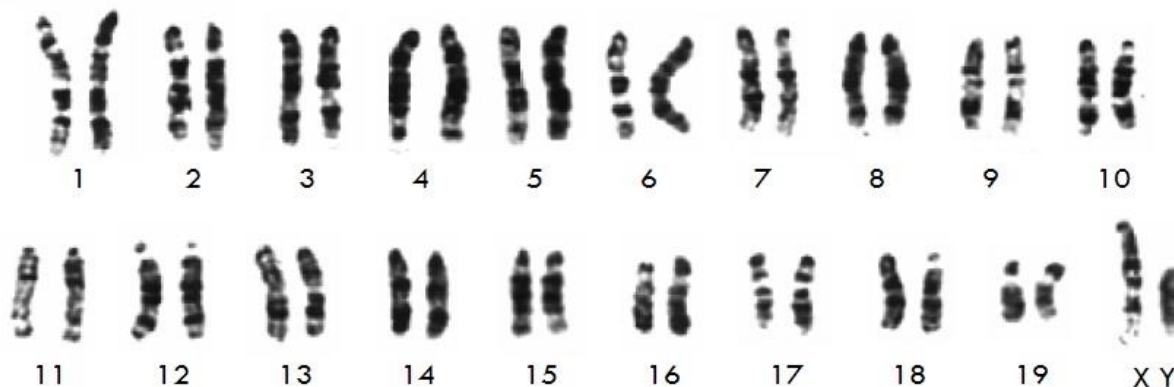


Figura 5. Cariotipo normal con bandas G de ratón macho. Tomado de Akeson y Davisson, 2000.

10. Genotoxicidad

Se define como genotoxicidad a los procesos que alteran la estructura o la segregación de los cromosomas, así también que afectan o alteran la información genética, incluyendo el daño que pueda inducirse en el ADN así como alteraciones en los procesos de reparación, de replicación y de síntesis del mismo (Andrae y Speit, 2008).

Las pruebas de genotoxicidad son usualmente tomadas como indicadores para detectar dichas alteraciones y daños que afectan el material genético (OECD, 2001).

Los sistemas de prueba para detectar aberraciones cromosómicas estructurales han sido desarrollados en una gran variedad de organismos superiores, incluyendo plantas, insectos, peces, aves y varias especies de mamíferos. Algunos de estos

ensayos se pueden realizar *in vitro* o *in vivo* y en células germinales o somáticas (EPA, 1986). La prueba de aberraciones cromosómicas en mamíferos *in vivo* es empleada usualmente en roedores para la detección de aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas inducidas por los compuestos químicos de los cuales se requiere conocer su potencial genotóxico (OECD, 2013). Es una prueba que pertenece a la citogenética convencional y se considera sensible y práctica para la detección de agentes que alteran la cantidad de ADN o bien que afectan estructura del mismo (Scott *et al.*, 1990).

La aneugénesis es el resultado de la alteración en las estructuras proteicas involucradas en la migración de los cromosomas durante la división celular (sea mitosis o meiosis) en el que se pierde o gana al menos un cromosoma; dichas estructuras proteicas son los centrómeros, el huso, los cinetocoros o las proteínas de la membrana nuclear (Houdy *et al.*, 2010). Mientras que la clastogénesis es el rompimiento de la cadena de ADN que conduce a modificación de la estructura del cromosoma, también llamados rearrreglos o reordenamientos cromosómicos (Repetto y Repetto 2009, Houdy *et al.*, 2010).

10.1. Aberraciones cromosómicas

Estas se pueden dividir en alteraciones numéricas (Figura 6) o estructurales. Las estructurales se refieren a reordenamientos que resultan de rompimientos cromosómicos o cromatídicos (Cuadro VI), y en ocasiones, a subsecuentes uniones de los cromosomas en una diferente configuración. En ellos puede existir o no un balance entre la cantidad de material genético, es decir, puede haber pérdida o ganancia del mismo. Por otra parte, las anormalidades numéricas involucran la ganancia o pérdida de uno o más cromosomas. Este fenómeno se conoce como aneuploidía y la ganancia de uno o más juegos haploides completos de cromosomas se conoce como poliploidía (Repetto y Repetto, 2009).

Los agentes que inducen aberraciones pueden ser o no dependientes del ciclo celular, es decir los hay S-dependientes y S-independientes. Un agente S-dependientes induce aberraciones cromatídicas en cualquier fase del ciclo celular y

las alteraciones solo serán visibles una vez que la célula haya pasado por la fase S. Los agentes S-independientes inducen aberraciones del tipo cromosómico cuando actúan las fases G_0 y G_1 del ciclo, aberraciones del tipo cromatídico durante G_2 y una mezcla de ambos tipos de aberraciones en la fase S (Dean y Danford, 1984).

El ensayo de aberraciones cromosómicas permite el análisis cromosómico como indicador de daño genético, puede realizarse *in vivo* en células en constante proliferación como la médula ósea o, *in vitro* en células que no están en división como las que se encuentran en sangre periférica y que pueden ser estimuladas por un agente mitogénico (Carbonell *et al.*, 1996).

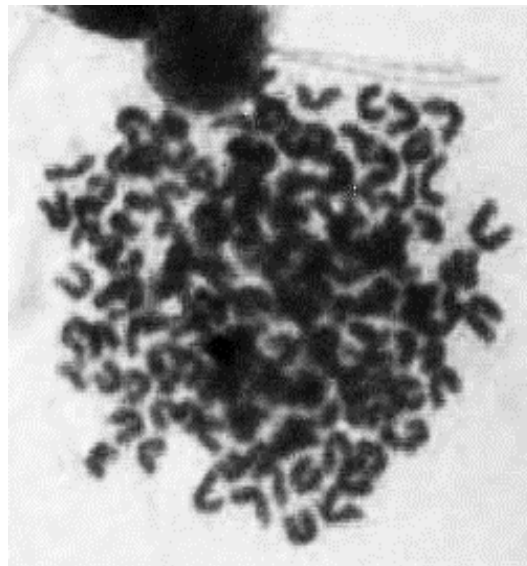




Figura 6. Alteración numérica (Poliploidía).

Cuadro VI. Aberraciones cromosómicas estructurales en médula ósea de ratón

Aberración	Figura	Descripción
Tipo cromosómico		
Brecha (Gap)		- Involucra a ambas cromátidas de un mismo cromosoma en el mismo lugar (<i>loci</i>).
Rompimiento		- Discontinuidad en el mismo <i>locus</i> de ambas cromátidas, originando un fragmento acéntrico.

Intercambios

Intercambio entre cromosomas



Cromosoma dicéntrico con fragmento

- Se genera a partir de dos o más lesiones en un mismo cromosoma o dos diferentes. Se origina a partir de un intercambio asimétrico que produce un fragmento el cual se registra como un solo evento.

Intercambio entre un cromosoma



Anillo céntrico con fragmento

- Se produce por dos lesiones en el mismo cromosoma, uniéndose los extremos de ambas cromátidas, originando un fragmento acéntrico.

Intercambio dentro de una cromátida



Anillo acéntrico

- Las partes de donde se originaron los fragmentos o minutas pueden no ser identificadas. Los anillos acéntricos son pequeños y se llaman también deleciones intersticiales.

Tipo cromatídico

Brecha (Gap)



- Región discontinua o sin teñir en una sola cromátida del cromosoma. Lesión acromática donde no hay desalineación.

Rompimiento o ruptura alineada



- Región discontinua mayor al ancho de la cromátida del cromosoma. Puede estar alineado o no.

Desalineada



- Reunión incompleta o unión hermana de los extremos rotos.

Rompimiento isocromatídico



- Reunión incompleta o no unión. Los fragmentos alineados o desplazados se consideran rupturas *isolocus*.

Intercambios

Entre cromosomas

Asimétrico



- Se originan por rompimientos cromátidico entre distintos cromosomas, se forma un cromosoma dicéntrico y los fragmentos se unen a él, formando figuras cuadrirradiales

Simétrico



- No da lugar a la formación de cromosomas dicéntricos ni fragmentos, a menos que la unión sea completa, también es llamado cuadrirradial.

Asimétrico sin fragmentos



- Intercambio entre brazos de un mismo cromosoma.

Entre brazos



- Formando un anillo céntrico, no hay fragmentos si la reunión es completa.

Dentro de un brazo



- Minuta o rupturas intersticiales. El fragmento permanece asociado con el cromosoma original.
-

Isocromatídicos

Dicéntrico trirradial



- Con fragmento.

Monocéntrico triradia



- No se forman fragmentos si la unión es completa.
-

Modificado de Dean y Danford, 1984.

11. Justificación

Debido a sus propiedades únicas los compuestos de In tienen una gran variedad de usos, por ejemplo se utilizan para la fabricación de pantallas de cristal líquido (LCD) y de celulares e incluso en la medicina. Además, se pronostica incremento en su demanda mundial ya que la producción de In creció 200% de 2002 a 2012.

En México no hay producción de este metal, pero es probable que la principal fuente de exposición a In y sus compuestos sea de manera ocupacional en las ensambladoras de aparatos electrónicos, en las minas de zinc y de manera más importante, en el ambiente ya que en el 2002 se realizó un monitoreo de calidad del aire en el Valle de México y se detectaron concentraciones de In formando parte de partículas que pertenecen a las fracciones denominadas PM₁₀, PM_{2.5} y PM₁, que se caracterizan por penetrar las vías respiratorias. También está presente en alimentos de consumo humano como carne de res y jamón (0.01 mg/Kg), algas, pescados (0.4-7 mg/Kg) y mariscos (10-15 mg/Kg).

Además es un metal del cual se conoce poco de su toxicidad celular y en particular con su genotoxicidad.

Por todo lo anterior, en el presente trabajo se evaluó dicho efecto mediante la técnica de aberraciones cromosómicas en células de médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 tratados con dos compuestos inorgánicos de In.

12. Hipótesis

La administración *in vivo* de sales de In está relacionada con la formación de micronúcleos y el desarrollo de neoplasias, por lo anterior, si se administra tricloruro de indio o fosfuro de indio a ratones macho de la cepa CD-1 vía intragástrica, el metal será capaz de inducir toxicidad celular y daño cromosómico en las células de la médula ósea.

13. Objetivos

13.1. General

- ❖ Evaluar el índice mitótico (IM), número y tipo de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en células de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 expuestos 24 horas con fosfuro (InP) o tricloruro de indio (InCl₃).

13.2. Particulares

- ❖ Evaluar el número de células en metafase y calcular el IM de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 tratados con diferentes dosis de InP y InCl₃.
- ❖ Identificar y cuantificar el número de ACE en las células de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 tratados con diferentes dosis de InP y InCl₃.
- ❖ Evaluar el porcentaje de células con ACE y determinar las diferencias estadísticas en relación a un grupo control de los ratones tratados con los compuestos de In.

14. Material y método

14.1. Animales

Se utilizaron ratones macho de la cepa CD-1 del bioterio de la FES-Zaragoza, de 6 a 7 semanas de edad, con un peso de entre 30 a 35 g, con comida (Harlan Laboratories 2018S) y agua *ad libitum*, ciclos de luz-oscuridad de 12:12, humedad al 45% y temperatura en la sala de 22 °C. Se hicieron grupos experimentales de seis ratones por cada tratamiento y por cada dosis, todos los animales se pesaron antes y después del tratamiento en una balanza OHAUS SC2020.

14.2. Reactivos

Los compuestos de In (InCl_3 99.999%, CAS 429414 y InP 99.998%, CAS 22398-80-7) y otras sales ($\text{KCl} \geq 99\%$) fueron adquiridos de Sigma Chemical Co. EUA. El metanol absoluto y ácido acético glacial que se obtuvieron de JT Baker de México y el colorante Giemsa de Hycel de México.

14.3. Tratamiento

La administración de los compuestos se realizó con ayuda de una sonda gástrica para ratón, como lo indica el Cuadro VII. El fósforo de indio se administró suspendido en 0.3 ml de aceite de maíz (debido a que es insoluble en agua), las concentraciones aplicadas están en base a trabajos previos realizados en el laboratorio (Beltrán-Mendoza, 2011). En el caso del tricloruro de indio las concentraciones están en base a la cantidad de In contenida en el compuesto, de tal forma que sea equivalente a la encontrada en el fósforo de indio, este compuesto se aplicó disuelto en agua inyectable. En todos los casos los tratamientos fueron de 24 horas. Se contó además con dos grupos testigos, el positivo que consistió en administrar una dosis de 25 mg/Kg de ciclofosfamida (CP) y los grupos negativos que fueron ratones tratados con aceite de maíz para el caso de los grupos de InP , y para los de InCl_3 fueron ratones tratados con agua inyectable.

Cuadro VII. Tratamientos con los compuestos de In. Dosis administrada y cantidad de In presente.

Tratamiento	Dosis (mg)	Contenido de In (mg)
InP	5	3.93
	10	7.87
	20	15.75
InCl₃	7.89	3.93
	15.38	7.87
	30.78	15.75
Aceite de maíz	0.3 ml	0
Agua inyectable	0.1 ml/10 g	0
Ciclofosfamida	25 mg/Kg	0

6 ratones por dosis de cada tratamiento.

Aceite de maíz y agua inyectable testigos negativo.

Ciclofosfamida testigo positivo.

14.4. Sacrificio y obtención de las células de la médula ósea.

En todos los casos, Transcurridas 22 horas después del tratamiento se inyectó colchicina vía intraperitoneal en una concentración de 0.3% y en volumen de 0.1 ml/10 g de peso del ratón, se dejó actuar durante 2 horas y posteriormente los animales se sacrificaron por dislocación cervical. Se extirparon ambos fémures y se cortaron las epífisis diagonalmente. Para obtener la médula ósea, se introdujo en el canal femoral una aguja cuya jeringa contenía 5 ml de solución hipotónica (KCl 0.075 M), la médula ósea se recuperó en tubos cónicos para centrifuga y se mantuvo en baño de agua a 37°C durante 50 minutos. Posteriormente los tubos se centrifugaron, se descartó el sobrenadante y las células se fijaron con solución de metanol-ácido acético (3:1). Finalmente, el botón celular se goteó sobre portaobjetos limpios los cuales se secaron a la flama y posteriormente se tiñeron en solución de Giemsa al 10%.

14.5. Evaluación

El IM se determinó contando 8000 células por ratón, 48000 células por tratamiento, diferenciando células en metafase de células en interfase, utilizando la siguiente fórmula.

$$IM = (\text{Número de células en metafase} / \text{Número total de células}) (100)$$

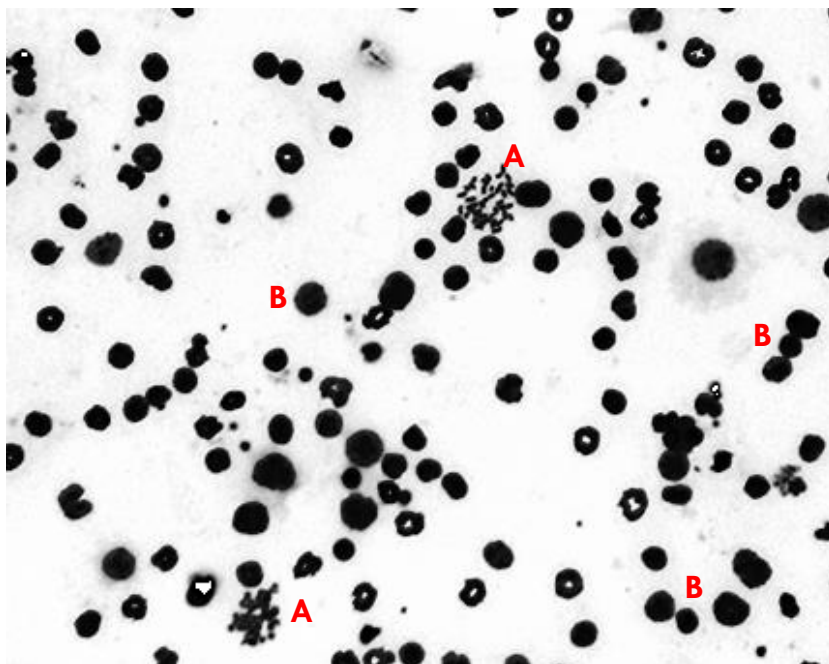


Figura 7. Microfotografía de células de médula ósea de ratón macho a 40X, donde se puede observar células en metafase (A) y células en interfase (B).

Para el análisis de las aberraciones cromosómicas se registraron las aberraciones encontradas en un mínimo de 100 metafases por ratón (624 metafases por tratamiento, seis ratones por grupo tratado) con 40 ± 1 centrómeros por cada metafase evaluada.

14.6 Análisis estadístico

Con la finalidad de establecer si hay diferencias significativas ($P < 0.05$) en el porcentaje de células con aberraciones cromosómicas, se aplicaron las pruebas de ANDEVA-Tukey, mientras que para IM se aplicó la prueba de Z para proporciones.

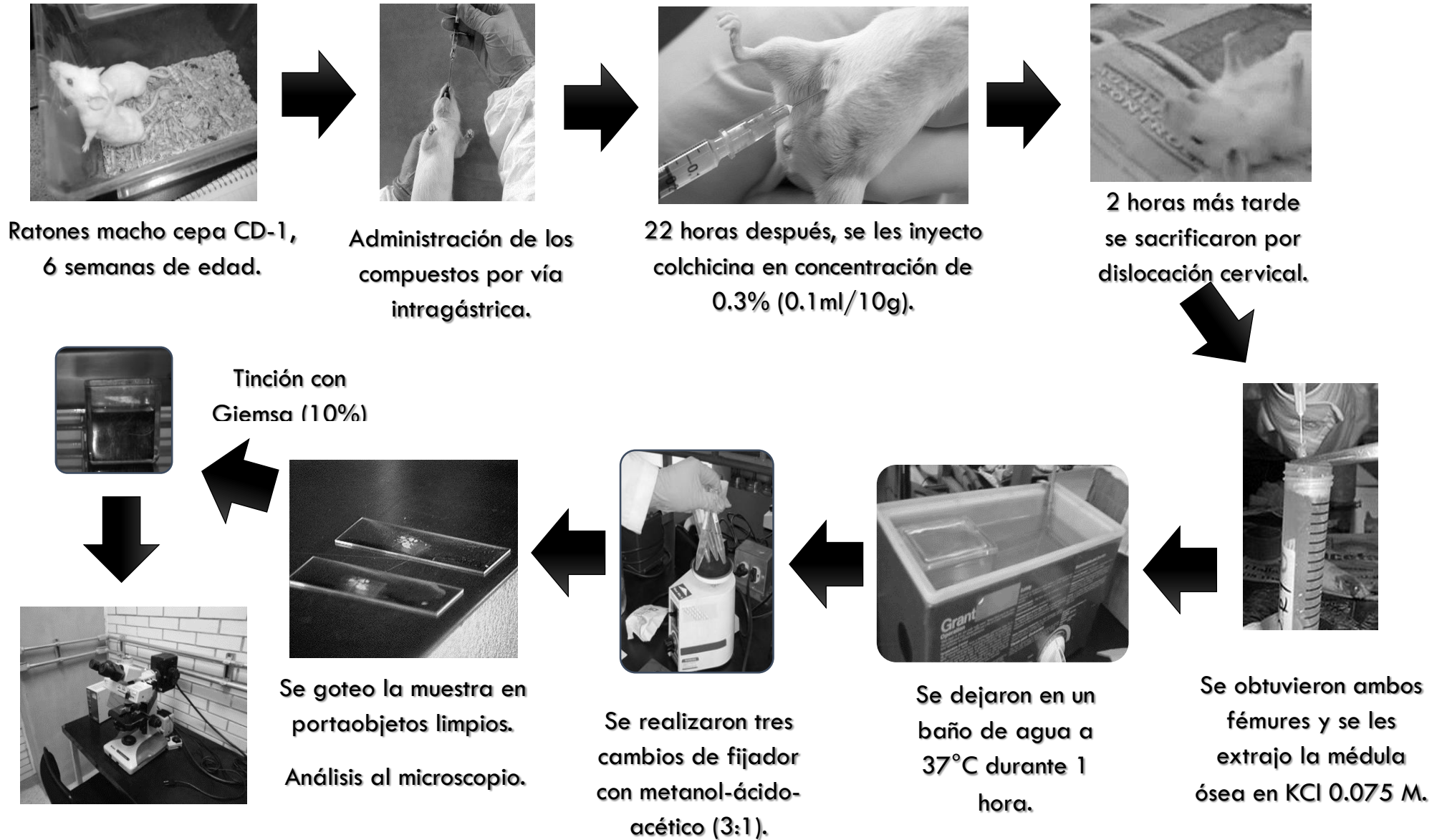


Figura 8. Diagrama que muestra el procedimiento para obtener las preparaciones citogenéticas.

15. Resultados

15.1. Efecto de los compuestos de In en el peso de los ratones.

En el Cuadro VIII se muestran los pesos de los ratones tratados 24 horas con diferentes dosis de los dos compuestos de In. No se observan diferencias en el peso de los ratones después del tratamiento.

Cuadro VIII. Pesos de los ratones tratados con diferentes compuestos de In.

Tratamiento	Dosis	Peso inicial	Peso final
InP en mg	5	34.33±2.16	34.39±2.99
	10	34.40±1.34	33.43±1.50
	20	33.02±3.84	33.21±4.31
InCl ₃ en mg	7.89	33.44±1.66	31.28±2.61
	15.38	33.24±3.43	32.27±4.59
	30.78	34.88±2.94	32.81±3.56
Aceite de maíz en ml	0.3	33.60±3.24	34.04±3.29
Agua en ml	0.3	35.09±1.48	36.60±2.33
CP en mg/Kg	25	36.42±2.90	35.86±3.63

Datos expresados por la media \pm desviación estándar.

Seis ratones por cada dosis de cada tratamiento.

15.2. Efecto del fosforo de indio sobre el IM.

Los datos obtenidos de los ratones tratados se presentan en el cuadro IX. Se observa que hay una disminución estadísticamente significativa en el IM de los grupos a los que se les administraron 10 y 20 mg de fosforo de indio, observándose que el IM disminuye conforme se aumenta la dosis, **Figura 8.**

15.3. Efecto del fosforo de indio sobre el porcentaje de células con ACE.

Los resultados del porcentaje de células con ACE se muestran en el cuadro IX, donde se puede observar que al excluir las brechas, los grupos tratados con 10 mg (21.31%) y 20 mg (18.75%) de fosforo de indio muestran diferencias significativas con respecto al grupo control (6.73%) en el porcentaje de células con ACE, sin embargo, al realizar la comparación incluyendo las células que presentan brechas, existen diferencias

estadísticamente significativas en todos los tratamientos. El porcentaje aumenta 1.81 veces para el grupo de 5 mg; 3 veces para el de 10 mg y 2.57 veces para el de 20 mg con respecto a su control. Se aprecia también que las aberraciones de tipo cromatídico son más frecuentes, específicamente los fragmentos, **Figura 9**.

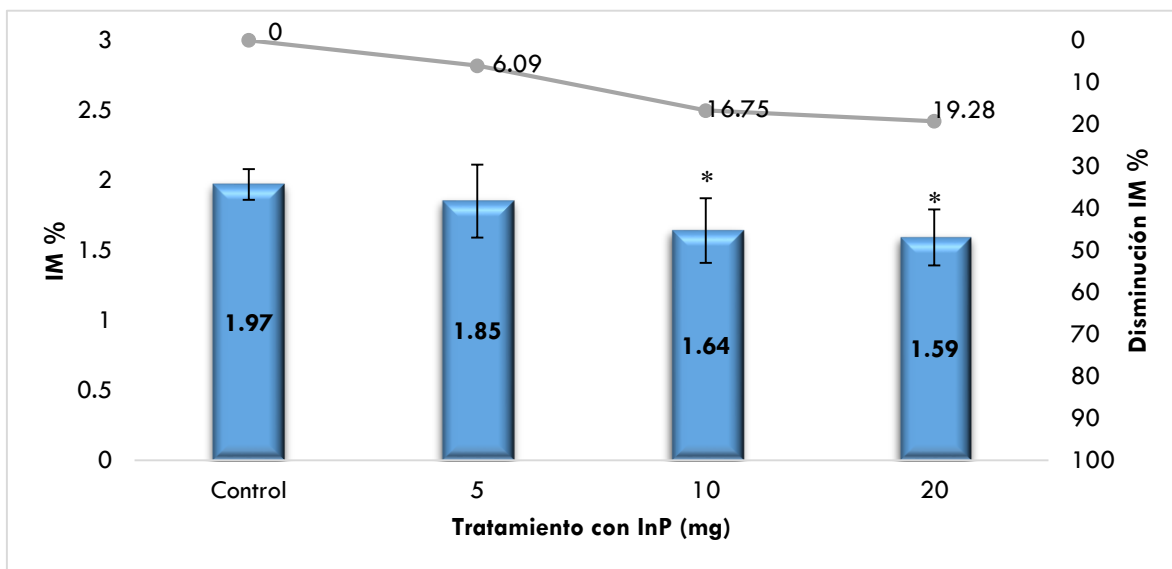


Figura 9. Efecto del fosforo de indio sobre el IM en células de médula ósea de ratón macho CD-1. Los datos están representados por la media \pm DE seis ratones (* $P < 0.05$ respecto al grupo control, Z para proporciones).

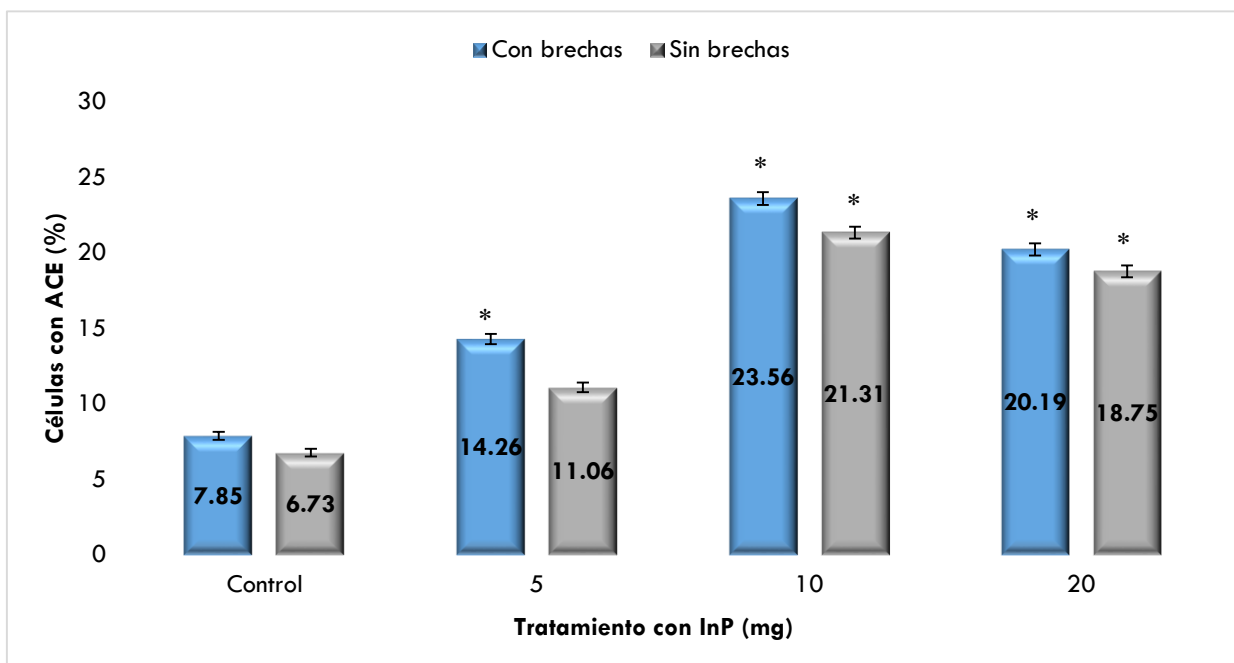


Figura 10. Porcentaje de células de médula ósea con ACE con y sin brechas, inducidas por fosforo de indio. Los datos están representados por la media \pm DE seis ratones (* $P < 0.05$ respecto al grupo control, ANDEVA-Tukey).

Cuadro IX. Índice mitótico (IM) y porcentaje de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) de las células de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1, tratados 24 h con diferentes dosis de fosforo de indio (InP).

Tratamiento InP (mg/ratón)	Ratón	IM±DE	Frecuencia de ACE					Total ACE		Total de células con ACE y porcentaje.			
			Tipo cromatídico				Tipo cromosómico	Sin brechas	Con brechas	Sin brechas	% sin brechas±DE	Con brechas	% con brechas±DE
			D	F	R	B	R						
Aceite de maíz 0.3 ml	1	2.04±0.44	3	7	2	2	0	12	14	8		9	
	2	1.88±0.50	2	9	0	0	0	11	11	8		8	
	3	1.82±0.39	2	9	1	4	0	12	16	9		12	
	4	2.04±0.32	3	2	0	1	0	5	6	5		5	
	5	1.93±0.25	2	2	0	3	0	4	7	4		7	
	6	2.14±0.25	0	4	7	1	0	11	12	8		8	
		1.97±0.11	12	33	10	11	0	55	66	42	6.73±0.25	49	7.85±0.26
5	1	1.86±0.25	4	11	1	0	0	16	16	9		9	
	2	1.67±0.42	4	8	0	8	0	12	20	8		16	
	3	1.66±0.29	3	2	3	3	0	8	11	7		10	
	4	1.56±0.43	9	8	1	4	0	18	22	10		14	
	5	2.19±0.21	9	8	0	3	0	17	20	15		18	
	6	2.15±0.25	9	15	0	4	0	24	28	20		22	
		1.85±0.26	38	52	5	22	0	95	117	69	11.06±0.31	89	14.26±0.34 ^a
10	1	2.09±0.21	7	11	4	3	1	23	26	15		17	
	2	1.53±0.23	8	9	2	2	0	19	21	15		17	
	3	1.57±0.35	5	10	0	1	0	15	16	11		12	
	4	1.40±0.24	18	33	3	2	0	54	56	34		36	
	5	1.67±0.21	14	14	8	7	1	37	44	29		34	
	6	1.61±0.33	13	35	1	3	0	49	52	29		31	
		1.64±0.23*	65	112	18	18	2	197	215	133	21.31±0.40 ^a	147	23.56±0.42 ^a
20	1	1.79±0.16	8	13	1	3	1	23	26	15		18	
	2	1.84±0.26	6	13	0	0	0	19	19	13		13	
	3	1.66±0.30	13	15	2	2	0	30	32	23		24	
	4	1.42±0.20	12	20	1	2	0	33	35	28		30	
	5	1.47±0.21	10	12	12	5	1	35	40	24		26	
	6	1.35±0.26	9	10	1	2	0	20	22	14		15	
		1.59±0.20*	58	83	17	14	2	160	174	117	18.75±0.39 ^a	126	20.19±0.40 ^a
CP 25 mg/Kg	1	1.51±0.24	11	31	3	4	5	50	54	28		31	
	2	1.43±0.30	35	108	20	3	4	167	170	43		43	
	3	1.40±0.20	32	48	17	5	4	101	106	37		39	
	4	1.24±0.30	22	62	10	1	6	100	101	35		36	
	5	1.47±0.27	46	64	15	0	7	132	132	38		38	
	6	1.23±0.22	33	72	9	5	2	116	121	33		34	
		1.38±0.11*	17	385	74	18	28	666	684	214	34.29±0.47 ^a	221	35.42±0.47 ^a

Se analizaron 104 células por ratón, 624 por grupo.

CP, ciclofosfamida; DE, desviación estándar; D, delección; F, fragmento; R, rompimiento; B, brechas

*P<0.05 comparado con el grupo control, mediante Z de proporciones.

^a P<0.05 comparado con el control utilizando ANOVA -Tukey.

15.4. Efecto del tricloruro de indio sobre el IM.

Los resultados de los grupos tratados con este compuesto, se muestran en el cuadro X. Se aprecia que el IM disminuye estadísticamente significativo en todos los tratamientos con tricloruro de indio, mostrando también que el IM disminuye al aumentar la dosis, **Figura 10**.

15.5. Efecto del tricloruro de indio sobre el porcentaje de células con ACE.

El porcentaje de células con ACE se presenta en cuadro X, al realizar el análisis se observa que al excluir las brechas, el incremento en todas las dosis es claro. Sin embargo en la dosis de 30.78 (27.40%) el incremento es mínimo con respecto al grupo tratado con 15.38 (26.92%) mg. Al realizar la comparación considerando las células que presentan brechas, el incremento en el porcentaje de células con ACE es siempre estadísticamente significativo en todas las dosis y de igual forma, el incremento es mínimo en la dosis de 30.78 (29.01%) con respecto a la dosis de 15.38 (28.85%), **Figura 11**. Aquí el porcentaje de ACE aumento 3.51, 4.61 y 4.64 veces respectivamente, comparado con el control. Los fragmentos también fueron el tipo de aberración cromatídica estructural más frecuente.

Cuadro X. Índice mitótico (IM) y porcentaje de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) de las células de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1, tratados 24 h con diferentes dosis de tricloruro de indio (InCl₃).

Tratamiento o InCl ₃ (mg/ratón)	Ratón	IM±DE	Frecuencia de ACE					Total ACE		Total de células con ACE y porcentaje			
			Tipo cromatídico				Tipo cromosómico	Sin brechas	Con brechas	Sin brechas	% sin brechas±DE	Con brechas	% con
			D	F	R	B	R						
Agua inyectable 10 ml/kg	1	2.30±0.15	1	0	0	2	0	1	3	2		3	
	2	2.08±0.33	1	9	0	2	0	10	12	5		7	
	3	2.47±0.34	2	1	1	1	0	4	5	4		5	
	4	2.05±0.40	3	8	0	3	1	12	15	8		10	
	5	2.5±0.21	2	3	0	0	0	5	5	5		5	
	6	2.40±0.32	5	2	0	1	0	7	8	8		9	
			2.30±0.19	14	23	1	9	1	39	48	32	5.13±0.22	39
7.89	1	1.49±0.15	7	11	3	6	0	21	27	16		21	
	2	1.28±0.17	17	21	0	1	1	39	40	29		30	
	3	1.51±0.18	14	24	1	2	0	39	41	28		30	
	4	1.72±0.26	11	6	0	2	0	17	19	9		11	
	5	2.03±0.67	14	19	1	1	0	34	35	26		27	
	6	2.07±0.16	8	8	3	3	0	19	22	17		18	
			1.68±0.31	71	89	8	15	1	169	184	125	20.35±0.40 ^a	137
15.38	1	1.42±0.17	16	21	2	3	0	39	42	29		31	
	2	1.51±0.28	19	25	1	1	0	45	46	28		29	
	3	1.55±0.29	15	24	0	2	0	39	41	28		30	
	4	1.79±0.31	19	19	0	5	1	39	44	27		30	
	5	2.05±0.17	20	24	1	2	0	45	47	28		31	
	6	1.36±0.23	18	20	1	4	0	39	43	26		29	
			1.62±0.25	10	13	5	17	1	246	263	166	26.92±0.44 ^a	180
30.78	1	1.28±0.14	13	26	2	2	0	41	43	30		31	
	2	1.42±0.30	14	16	0	3	0	30	33	21		23	
	3	1.64±0.25	27	18	2	5	0	47	52	34		37	
	4	1.28±0.21	22	18	3	3	0	43	46	31		33	
	5	1.27±0.28	26	28	0	2	0	54	56	31		32	
	6	1.33±0.29	13	16	2	1	0	31	32	24		25	
			1.37±0.14	11	12	9	16	0	246	262	171	27.40±0.44 ^a	181
CP 25 mg/Kg	1	1.51±0.24	11	31	3	4	5	50	54	28		31	
	2	1.43±0.30	35	10	2	3	4	167	170	43		43	
	3	1.40±0.20	32	48	1	5	4	101	106	37		39	
	4	1.24±0.30	22	62	1	1	6	100	101	35		36	
	5	1.47±0.27	46	64	1	0	7	132	132	38		38	
	6	1.23±0.22	33	72	9	5	2	116	121	33		34	
			1.38±0.11	17	38	7	18	28	666	684	214	34.29±0.47 ^a	221

Se analizaron 104 células por ratón, 624 por grupo.

CP, ciclofosfamida; DE, desviación estándar; D, deleción; F, fragmento; R, rompimiento; B, brechas

*P<0.05 comparado con el grupo control, mediante Z de proporciones.

^a P<0.05 comparado con el control utilizando ANOVA -Tukey.

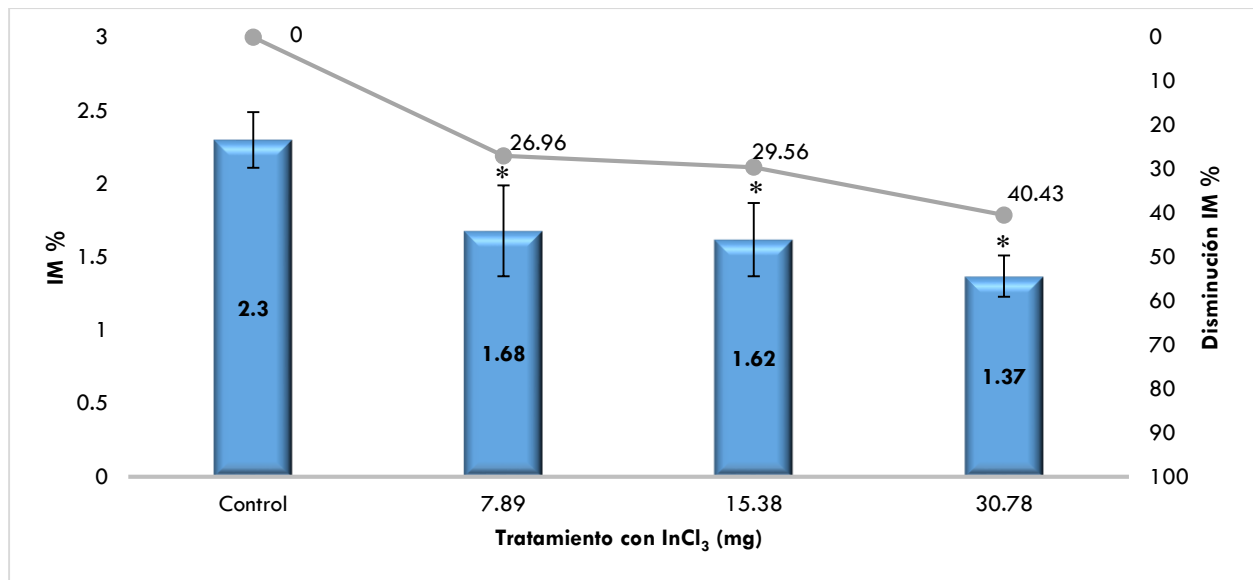


Figura 11. Efecto del tricloruro de indio sobre el IM en células de médula ósea de ratón macho CD-1. Los datos están representados por la media \pm DE de seis ratones (* $P < 0.05$ respecto al grupo control, Z para proporciones).

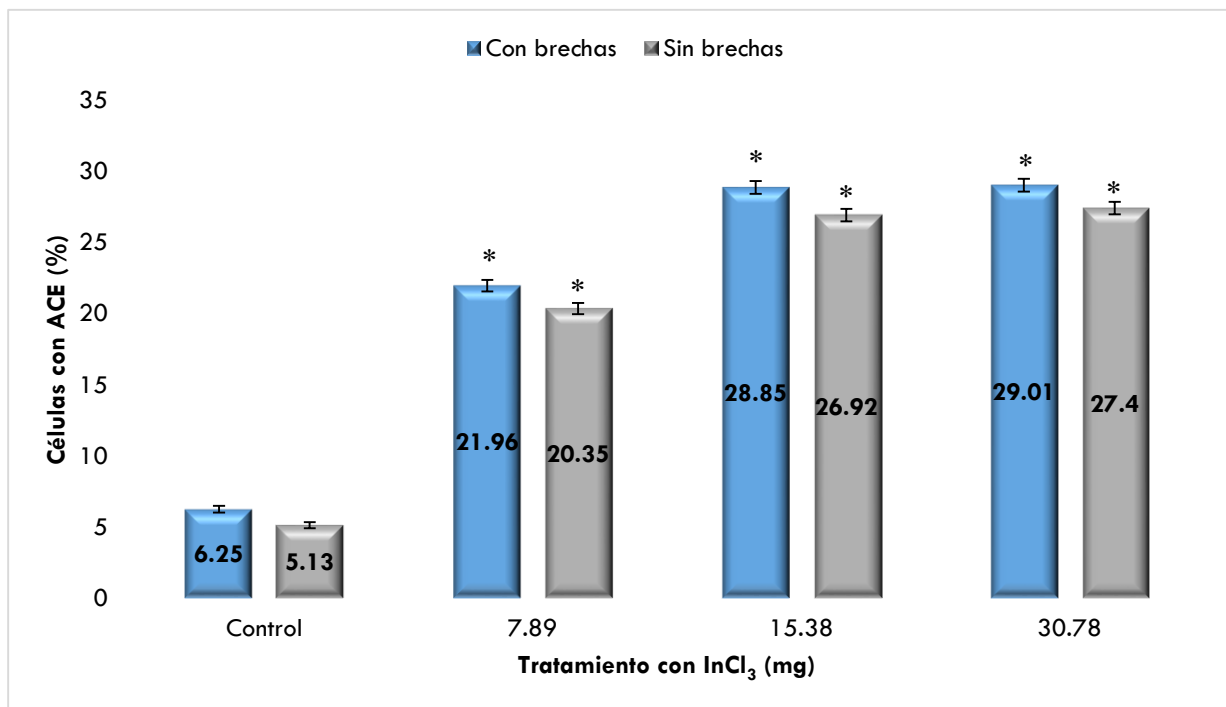


Figura 12. Porcentaje de células de médula ósea con ACE con y sin brechas, inducidas por tricloruro de indio. Los datos están representados por la media \pm DE de seis ratones (* $P < 0.05$ respecto al grupo control, ANDEVA-Tukey).

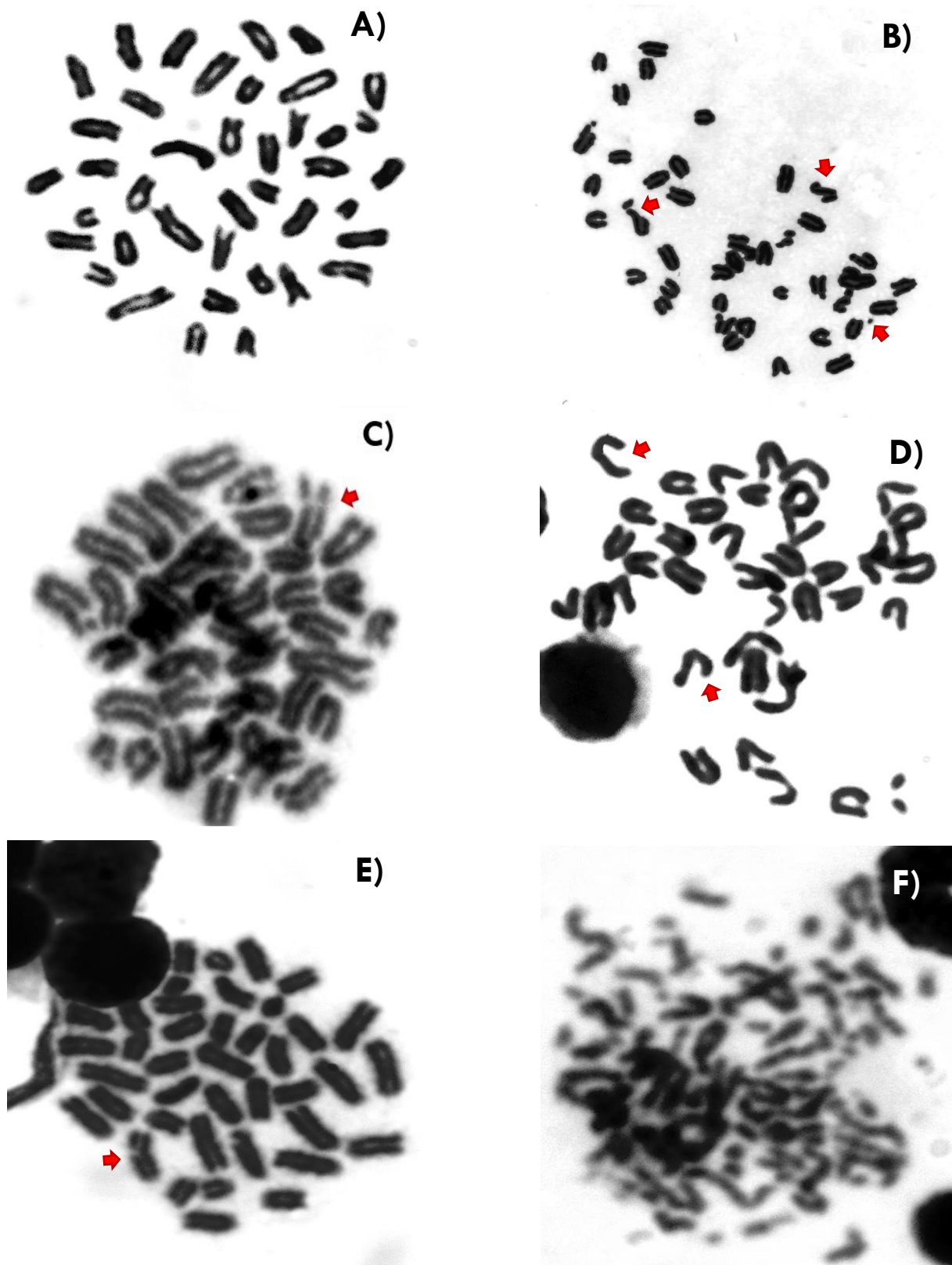


Figura 13. Microfotografías a 100X de células en metafase de médula ósea de ratones macho CD-1. En **A** cariotipo normal, de **B** a **E** tratados con fosforo de indio y en **E** con 25 mg/Kg de CP. **B)** rompimientos y fragmentos, **C)** rompimiento cromosómico, **D)** deleciones, **E)** rompimiento cromatídico y **F)** pulverización.

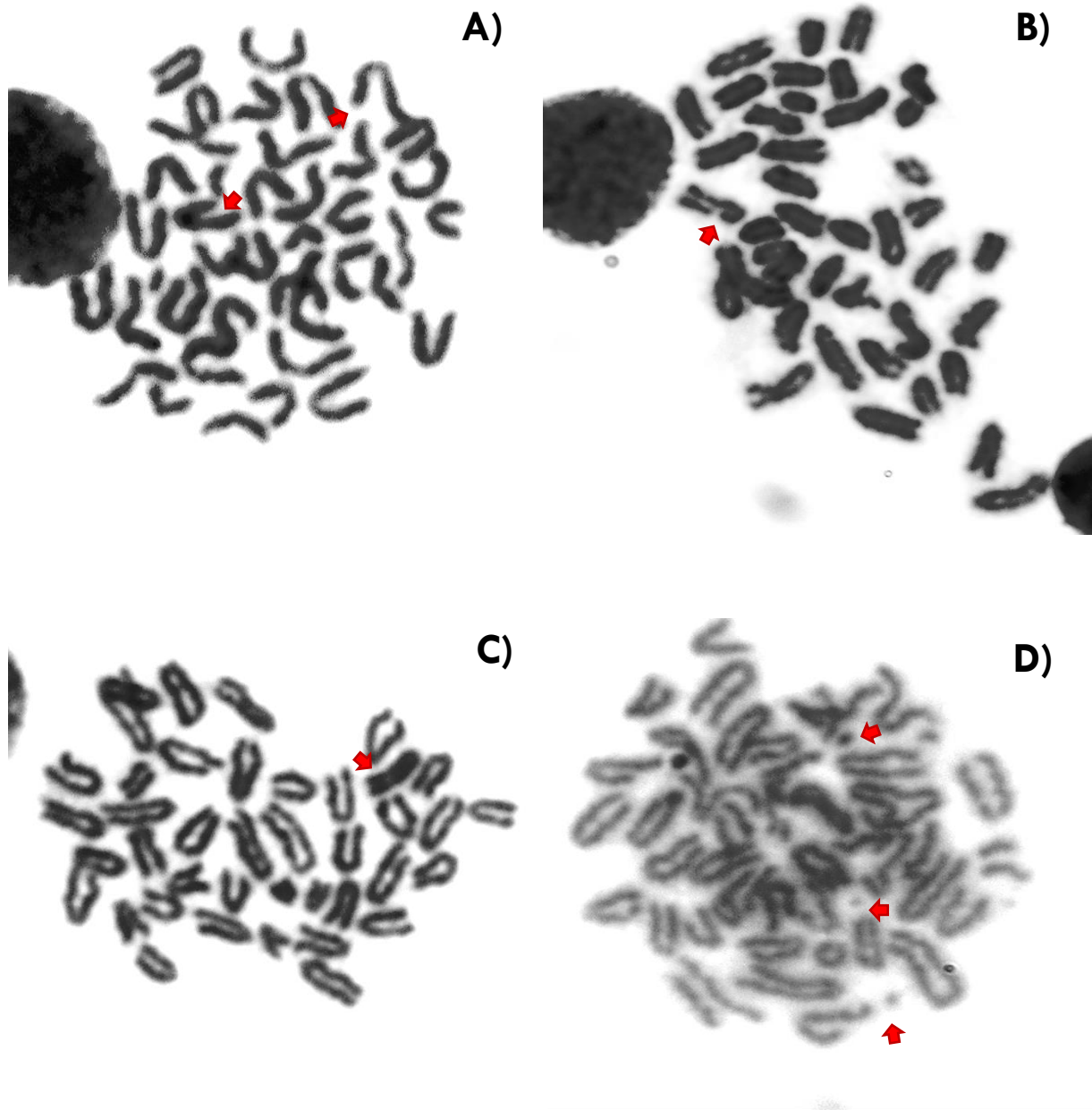


Figura 14. Microfotografías a 100X de células en metafase de médula ósea de ratones macho CD-1 tratados con tricloruro de indio de **A** a **D**. **A)** deleciones, **B)** rompimiento cromatídico, **C)** rompimiento cromosómico y **D)** fragmentos.

16. Discusión

El desarrollo tecnológico ha ido de la mano con el descubrimiento de los metales que se encuentran en la corteza terrestres, sin embargo, también deja como consecuencia contaminación ambiental y efectos dañinos a la salud humana debido a que los desechos que los contienen son continuamente liberados y acumulados en plantas y animales de la cadena trófica, por tal motivo es necesario entender los aspectos tóxicos de los metales (Sandaltzopoulos *et al.*, 2009; Truta *et al.*, 2014; Beltrán-Mendoza, 2011).

16.1. Efecto del InP y InCl₃ en el peso de los ratones.

Para considerar si un metal o compuesto metálico produce efectos tóxicos en los seres vivos, se han establecido diversos ensayos y sistemas de prueba, uno de los parámetros a considerar en la mayoría de los estudios es el peso ganado o perdido por el organismo después del tratamiento (OECD, 2013). En ocasiones es difícil asegurar que la diferencia en el peso de los animales tratados sea un reflejo del efecto tóxico de la sustancia o compuesto a prueba, o bien, una respuesta fisiológica del animal durante el experimento (Feron *et al.*, 1973).

Los resultados de este trabajo muestran que no hay diferencias en los pesos de los animales después de administrar vía intragástrica InP o InCl₃, estos datos coinciden con otros obtenidos en nuestro laboratorio por Beltrán-Mendoza (2011), donde se observó que tratamientos con 5, 10 y 20 mg de InP vía intragástrica a ratones macho no modificó el pesos de los animales, además otros realizados por Asakura *et al.*, 2008, donde administraron In metálico a ratas en una dosis aguda de 2000 mg/Kg, y otro tratamiento durante 28 días (100, 500 y 1000 mg/Kg) tampoco encontraron cambios en los pesos.

Sin embargo, al administrar por vía intraperitoneal nitrato de indio en dosis de 28 mg/Kg a ratas Wistar durante dos semanas si reportaron disminución en el peso de los animales (Maghraoui *et al.*, 2013), comportamiento similar fue observado al administrar InCl₃ en dosis de 2.5, 5 y 10 mg/Kg por vía intraperitoneal a ratones BALB/c en una dosis aguda de 24 horas (Takagi *et al.*, 2011).

Las disimilitudes entre los resultados encontrados en la literatura y los pesos de los ratones tratados con InP o InCl₃ puede deberse a que tanto la ruta de administración, la duración

de los tratamientos, así como la cepa de ratones e incluso la especie utilizada son diferentes.

16.2. Efecto del InP y InCl₃ sobre el IM.

El IM nos permite determinar si existen alteraciones en la progresión del ciclo celular (Clare y Clements, 2001). La disminución en el IM puede deberse a varios efectos tales como, por un lado que una fase del ciclo celular se alargue más de lo normal, retrasando así las demás etapas de la mitosis, por otra parte que el compuesto a evaluar actúe como inhibidor del huso mitótico o bien, que se induzca a la pérdida permanente de la capacidad proliferativa de las células por daños irreversibles sobre estas, lo que finalmente puede ocasionar muerte celular (Danford, 2012 y Scott *et al.*, 1990).

En este estudio se encontró que una dosis aguda de InP o de InCl₃ administradas a ratones por vía intragástrica, reduce el IM en todos los tratamientos, además de observarse un efecto dosis dependiente.

No hay reportes donde se evalué el efecto del InP sobre la división celular, sin embargo en ratones expuestos al mismo compuesto por vía orofaríngea, encontraron reducción del número de macrófagos alveolares viables, además la actividad de lactato deshidrogenasa (enzima citosólica, se usa como marcador de daño en la membrana celular cuando se detecta en el espacio extracelular) aumento, motivos por los cuales el autor sugiere incremento en la muerte de este tipo celular (Kirby *et al.*, 2009).

Respecto al efecto del InCl₃, Takagi *et al.*, 2011 al administrarlo por vía intraperitoneal en dosis de 1.25, 2.5 o 5 mg/Kg a ratones BALB/c durante 24 horas, encontraron en células de la médula ósea disminución en la proporción de eritrocitos policromáticos con respecto a los eritrocitos normocromáticos. También encontraron que a la dosis de 10 mg/Kg induce pérdida de la proliferación celular. De manera *in vitro*, concentraciones de 0.0006 a 5 µg/ml de este compuesto en células CHL/IU disminuye la proliferación a partir de la dosis de 0.313 µg/ml después de 48 o 72 horas de exposición.

En nuestro trabajo no se realizaron pruebas de viabilidad, pero los antecedentes muestran que al administrar compuestos de In se produce muerte de diferentes tipos celulares, lo que podría sugerir que las células de la médula ósea de los ratones tratados con InP o InCl₃, también podrían estar siendo afectadas y disminuir así el IM.

16.3. Efecto de los compuestos de indio sobre el porcentaje de células con ACE.

La importancia de llevar a cabo estudios para evaluar la genotoxicidad de compuestos químicos o fármacos a los que estamos expuestos los seres humanos radica en que puede producir efectos adversos en la salud, anomalías congénitas, daño al material genético y neoplasias (Natarajan, 2002; Danford, 2012).

Las ACE tienen origen en los rompimientos sobre la cadena de ADN, donde las rupturas de doble hebra están relacionadas con rompimientos en los cromosomas, los cuales pueden conducir a la generación de aberraciones del tipo cromatídico o cromosómico, dependiendo de la fase en el ciclo celular en que se produce la lesión (Natarajan, 1993).

En este trabajo, el porcentaje de células de la médula ósea con ACE se incrementó en los ratones tratados con InP o InCl₃, las aberraciones cromatídicas fueron las más frecuentes, donde se incluyen deleciones, fragmentos y rompimientos. Al realizar el análisis excluyendo brechas, resultaron estadísticamente diferentes los grupos de 10 y 20 mg de InP y todos los tratamientos de InCl₃, pero al incluir las brechas, todos los ratones tratados con los compuestos de In, fueron diferentes con respecto al control. Las ACE cromatídicas son generadas por daño al material genético y por errores en la reparación del ADN en la etapa final de S y en la fase G₂ (Natarajan, 1993).

Incluir o no a las brechas al realizar el análisis de las ACE es controvertido. Algunos autores consideran que las brechas pueden ser inconsistencias en la técnica o regiones que no se tiñen por el grado de compactación de la cromatina y que por ese motivo no deben ser consideradas, por otro lado, otros autores señalan que son verdaderas regiones discontinuas de material genético donde falta cromatina, por lo que si deben ser consideradas dentro de la evaluación de ACE y ser utilizadas como marcadores de daño

al ADN (Savage, 2004). En el caso de In, las brechas pueden ser un buen indicador de genotoxicidad.

Otros efectos genotóxicos han sido reportados por exposición a compuestos de In. En un informe realizado por el Programa Nacional de Toxicología, donde se expusieron a ratones macho y hembra a partículas de InP durante 14 semanas, encontraron incremento en la frecuencia de MN en eritrocitos policromáticos de machos, pero no en hembras (NTP, 2001). En ratones BALB/c tratados con una dosis aguda por vía intraperitoneal de InCl₃ en dosis de 0.625, 1.25, 2.5, 5.0 y 10.0 mg/Kg se reportó que la frecuencia de MN aumentó significativamente en las cuatro primeras dosis (Takagi *et al.*, 2011).

Por otro lado, en sistemas *in vitro* con células CHL/IU (Chinese hamster lung) expuestas a In metálico durante 6 horas se encontró una inducción ligera (<5%) de ACE en presencia o ausencia de activación metabólica (Asakura *et al.*, 2009). En tanto que, al incubar esta células con InCl₃ en concentraciones de 0.0006 a 5 µg/ml durante 24, 48 y 72 horas, los autores encontraron incremento en la frecuencia de MN en a partir de la concentración de 1.25 µg/ml en 48 y 72 horas de exposición (Takagi *et al.*, 2011).

Tomando en cuenta que lesiones en el ADN es necesario para generar ACE, un estudio de tesis realizado por Beltrán-Mendoza (2011), quién evaluó daño al ADN por InP administrado por vía intragástrica a ratones macho de la cepa CD-1, utilizando la técnica de electroforesis unicelular alcalina, Beltrán encontró incremento en la migración del ADN en células de testículo y pulmón en el grupo tratado con 5 mg/Kg, mientras que en el grupo de 10 mg/Kg, observó daño en las células de sangre, pulmón y corazón, mientras que en el grupo tratado con 20 mg/Kg además de los órganos mencionados encontró daño en el material genético de las células de hígado. Este último estudio y los arriba mencionados, junto con los datos obtenidos en el presente trabajo, colocan al In como un agente capaz de inducir por un lado daño primario en el ADN como rupturas de cadena sencilla y por otro daño cromosómico en forma de MN y ACE.

Otros metales del mismo grupo al que pertenece el In, como el aluminio y el talio, han mostrado ser inductores de ACE en modelos *in vivo*. Por ejemplo, en ratas a las cuales se administró Al₂O₃ en forma de nanopartículas de 30 y 40 nm por vía i. p., se incrementó la

frecuencia de MN en las dosis de 1000 y 2000 mg/Kg para ambos tamaños de partículas, a las 30 y 48 h después del tratamiento (Balasubramanyam *et al.*, 2009). También se reportó la inducción de ACE, endorreduplicaciones y poliploidías en linfocitos humanos tratados con 5, 10, 15 y 25 μM de AlCl_3 en todas la dosis después de 24 horas (Lima *et al.*, 2007). El talio también tiene actividad clastogénica, *in vitro*, en líneas celulares de ratón expuestas a Tl_2O_3 (no especifica concentraciones), indujo ACE e intercambios de cromátidas hermanas (ICHs) (IPCS, 1996), y en trabajos *in vivo*, el CH_3COOTl administrado por vía i. p. a ratones, fue capaz de incrementar las ACE en las dosis de 9.25, 18.5 y 37 mg/Kg, fue mayor el incremento en la segunda dosis (Buendía-Valverde, 2013).

Aún no se han descrito los mecanismo mediante los cuales el InP o el InCl_3 generan ACE, sin embargo se han propuesto varios mecanismos por los cuales se genera daño al ADN de acuerdo a la naturaleza de los compuestos que interactúan con él, particularmente los metales pueden cambiar de estado de oxidación, produciendo radicales libres o especies reactivas de oxígeno (EROs) (Rodríguez-Arnaiz, 2003). Cuando el mecanismo de balance antioxidante es superado por las EROs, se incrementa el potencial de daño hacia las biomoléculas como proteínas, lípidos o el ADN mismo (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006; Mateos-Nava, 2012).

Varios metales se caracterizan por ser inductores de daño al material genético, unos pueden ocasionar daño primario o rompimientos sencillos y dobles a la cadena de ADN (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2010) lesiones que son importantes en el origen de ACE (Natarajan, 2002), mientras que otros inducen micronúcleos o aberraciones cromosómicas, es decir, son agentes clastogénicos (Obe *et al.*, 2002).

Como lo reporto Gottschling *et al.*, 2001 la inhalación de partículas de InP por ratas que fueron expuestas a concentraciones de 0, 0.03, 0.1, o 0.3 mg/m^3 durante 6 horas al día, 5 días a la semana, por 21 semanas provoco la acumulación del compuesto en los alveolos y en el epitelio pulmonar, la presencia de macrófagos pulmonares incremento la inflamación crónica, lo cual aumento la presencia de EROs al mismo tiempo que disminuyo

la cantidad de antioxidantes, la producción constante de este daño oxidante genero hiperplasia alveolar, adenoma y finalmente carcinomas metaplásicos en el pulmón.

Por otra parte, Takagi *et al.*, 2011 en su discusión menciona que la administración de InCl_3 o de InAs , conducen a una potente inducción de hemo oxigenasa; la inducción de esta enzima es usada como un marcador molecular de estrés oxidante, motivo por el cual propone que ambos compuestos pueden producir estrés oxidante. Otro compuesto de In que también incremento el estrés oxidante es el nitrato de indio [$\text{In}(\text{NO}_3)_3$] aplicado por vía i. p. a ratas Wistar en dosis de 7 mg/Kg durante dos semanas, donde encontraron que el estrés oxidante aumento la producción de malondialdehído en células de testículo (Maghraoui *et al.*, 2013).

Entonces en base a lo anterior y aunque nuestro tratamiento fue de 24 horas (corto), es probable que tanto el fosfuro como el tricloruro de indio generen EROs, las que directa o indirectamente pueden interactuar con la molécula de ADN, ocasionando daño primario y lesiones en los cromosomas.

Para que un compuesto genere daño en el ADN, es necesario que sea absorbido y distribuido y así pueda llegar a las células de los diferentes tejidos de un organismo, o bien, que aunque se acumule a nivel de tejido u órgano, el compuesto en cuestión favorezca la formación de EROs u otros intermediarios que de manera directa o indirecta, interactúen con las biomoléculas.

Se ha reportado que la distribución de In en los tejidos está directamente relacionada con la forma química y la ruta de administración (Carson *et al.*, 1986).

Los reportes que existen acerca de la absorción, distribución y eliminación del InP son contradictorios. Por un lado por Zheng *et al.*, 1994, señalan que el In es escasamente absorbido en el tracto gastrointestinal, cuando es administrado por vía intragástrica en forma de partículas de $1.73 \pm 0.85 \mu\text{m}$ de diámetro a ratas macho Fischer en una dosis única de 10 mg/Kg durante 24, 96 y 240 horas. A las 24 horas después de su aplicación

el In fue distribuido uniformemente en la mayoría de los órganos, como hígado, riñones, bazo, musculo y testículos y también se encontró en cabello, piel y huesos.

De manera contrastante, Maghraoui *et al.*, 2011a, reporta que cuándo el In es administrado oralmente, no es absorbido por el tracto gastrointestinal ya que es atrapado en los lisosomas de los enterocitos del duodeno y eliminado en el lumen intestinal al ocurrir la muerte de las células, sin embargo cuando es administrado por vía i.p., el In es concentrado en los lisosomas de hepatocitos y en las células contorneadas de túbulos proximales de riñones, también es acumulado en células de Leydig y de Sertoli de los testículos (Maghraoui *et al.*, 2011b).

Cuando es administrado por vía respiratoria las partículas de compuestos de In son engullidas por los macrófagos alveolares, ocasionando principalmente su acumulación en los pulmones (Hamaguchi *et al.*, 2008). Por lo que Gwinn *et al* (2013), sugieren que la captación de partículas de compuestos de In por los macrófagos seguida de una acidificación lisosomal, resulta en la solubilización de las partículas en iones del metal, que pueden interactuar con biomoléculas importantes como el ADN, ya que se sabe que el InP no es soluble en agua, pero si es ligeramente soluble en ácidos orgánicos, produciendo hidrogeno, fosforo y fosfina (Kabe *et al.*, 1996).

Por otra parte, se sabe que el tricloruro de indio es soluble, lo que facilita su distribución (Takagi *et al.*, 2011) y así lo demuestran Castronovo y Wagner, 1973, quienes aplicaron tricloruro de indio a ratones y reportaron que es transportado en la sangre unido a la transferrina y acumulado en riñones, hígado y médula ósea (Kan y Miyamae, 1977).

Finalmente, podemos afirmar que tanto el fosfuro y el tricloruro de indio administrados por vía intragástrica a ratones tienen actividad clastogénica, aunque el tricloruro presento mayor efecto, ya que fue mayor el porcentaje de células de la médula ósea que presentaron ACE, en comparación con los datos obtenidos de los tratamientos con fosfuro de indio (diferentes estadísticamente).

17. Conclusiones

- ❖ El fosforo de indio reduce el IM de las células de médula ósea de los ratones macho de la cepa CD-1 tratados con 10 y 20 mg.
- ❖ El fosforo de indio induce ACE de tipo cromatídico principalmente en todas las dosis utilizadas en este trabajo a través de la vía intragástrica, sin embargo el porcentaje de células con ACE es estadísticamente significativo solo en las dosis de 10 y 20 mg excluyendo brechas, pero al considerarlas, el porcentaje aumenta en todas las dosis.
- ❖ El tricloruro de indio disminuye el IM de las células de la médula ósea de los ratones macho de la cepa CD-1 en todas las dosis.
- ❖ El tricloruro de indio incrementa significativamente el porcentaje de ACE de tipo cromatídico principalmente en las células de la médula ósea de los ratones macho de la cepa CD-1 en todos los grupos tratados, considerando o no las brechas.
- ❖ Los resultados de este trabajo establecen que ambos compuestos de indio aplicados intragástricamente 24 horas a ratones macho de la cepa CD-1, alteran el proceso normal de división celular, es decir, disminuyen el IM, además producen el incremento del número de células con ACE, estableciendo así al fosforo y tricloruro de indio, como agentes que inducen toxicidad celular, así como efectos genotóxicos provocados principalmente por actividad clastogena.

18. Referencias

Akaogi T., Tsuda K., Terauchi M., Tanaka M. (2004) Lattice parameter determination of a strained area of an InAs layer on a GaAs substrate using CBED. *J of Electron Microscop*, 53(1): 11-19.

Akeson E. C., Davisson M. T. (2000) Mitotic chromosome preparations from mouse cells for karyotyping. *Current protocols in human genetics*, 4.10.1-4.10.19.

Alfantazi A. M., Moskalyk R. R. (2003) Processing of indium: a review. *Min Eng* 16: 687-694.

Andrae U., Speit G. (2008) In vitro test for genotoxicity, En: Greim H. (Ed). *Toxicology and risk assessment*. John Wiley & Sons, USA, pp. 385-406.

Asakura K., Satoh H., Chiba M., Okamoto M., Serizawa K., et al. (2008) Oral toxicity of indium in rats: single and 28-day repeated administration studies. *J Occup Health*, 50: 471-479.

Asakura K., Satoh H., Chiba M., Okamoto M., Serizawa K., et al. (2009) Genotoxicity studies of heavy metals: lead, bismuth, indium silver and antimony. *J Occup Health*, 51: 498-512.

Babula P., Adam V., Opatrilova R., Zehnalek J., Havel L., Kizek R. (2008) Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. *Environ Chem Lett*, 6: 189-213.

Beltrán-Mendoza. R. (2011) Estudio del efecto de la aplicación del fosforo de indio (InP) en células de diferentes órganos de ratones macho de la cepa CD-1, utilizando la técnica de Electroforesis unicelular alcalina, para evaluar el daño al ADN. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

Beyersmann D., Hartwig A. (2008) Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms. *Arch Toxicol*, 82: 493-512.

Blazka M. E. (1998) Indium, En: Zelikof J. T., Thomas P. T. (Eds). *Immunotoxicology of environmental and occupational metals*, Taylor and Francis, UK, pp. 93-109.

Blazka M. E., Tepper J. S., Dixon D., Winsett D. W., O'Connor R. W., Luster M. (1994) Pulmonary response to Fischer 344 rats to acute nose-only inhalation of indium trichloride. *Environ Res*, 67: 68-83.

Buendía-Valverde M. (2013) Evaluación *in vivo* del efecto genotóxico inducido por exposición al acetato de talio (CH₃COOTl) en ratón hembra CD-1 mediante la prueba de aberraciones cromosómicas. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

Bustamante J., Dock L., Vahter M., Fowler B., Orrenius S. (1997) The semiconductor element arsenic and indium induce apoptosis in rat thymocytes. *Toxicol*, 118: 129-136.

Carbonell E., Peris F., Xamena N., Creus A., Marcos R. (1996) Chromosomal aberration analysis in 85 control individuals. *Mutat Res*, 204: 379-406.

Castronovo F. P., Wagner H. N. (1973) Comparative toxicity and pharmacodynamics of ionic indium chloride and hydrated indium oxide. *J Nucl Med*, 14: 677-682.

Centro de estudios de competitividad (2005) La industria electrónica en México. Disponible en: http://cec.itam.mx/docs/Electronica_Mexico.pdf, fecha de consulta: 10/06/2013.

Cervantes C., Moreno-Sánchez R. (1999) *Contaminación ambiental por metales pesados: Impacto en los seres vivos*. A. G. T. Editor, S. A. México, pp. 1-11.

Chen D., Milacic V., Frezza M., Ping Dou Q. (2009) Metal complexes, their cellular targets and potential for cancer therapy. *Curr Phar Design*, 15: 777-791.

Choi S., Won Y., Kim D., Yi G. (2013) Subclinical interstitial lung damage in workers exposed to Indium compounds. *Ann Occup Environ Med*, 25: 1-7.

Clare G., Clements J. (2001) Industrial Genotoxicology Group (IGG): Cytotoxicity *in vitro*, Royal Society of Medicine, London, UK. *Mutagenesis*, 16: 179-182.

Cornelis R., Nordberg M. (2007) General chemistry, sampling, analytical methods, and speciation. En: Nordberg G. F., Fowler B. A., Nordberg M., Friberg L. (Eds). *Handbook on the toxicology metals*. Elsevier, USA, pp. 11-38.

Cummings K. J., Donat W. E., Ettensohn D. B., Roggli V. L. Ingram P., Kreiss K. (2010) Pulmonary alveolar proteinosis in workers at an indium processing facility. *Am J Respir Crit Care Med*, 181: 458-464.

Cummings K. J., Suarhana E., Edwards N., Liang X., Stanton M. L., Day G. A., et al. (2013) Serial evaluations at an Indium-tin oxide production facility. *Am J Ind Med*, 56:300-307.

Danford N. (2012) The interpretation and analysis of cytogenetic data. En: Parry J. M., Parry E. M. (Eds). *Genetic Toxicology: Principles and methods*. Humana Press, UK, pp. 93-120.

Dean B. J., Danford N. (1984) Assays for the detection of chemically-induced chromosome damage in cultured mammalian cells. En: Venitt S., Parry M. J. (Eds). *Mutagenicity testing: a practical approach*. IRL PRESS, England, pp. 187-231.

EPA, Environmental Protection Agency. (1986) Guidelines for mutagenicity risk assessment. EPA/630/R-98/003. Risk assessment forum, Washington DC.

Fergusson J. (1990) The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects. Pergamon Press, UK, pp. 3-10.

Feron V. J., Groot A. P., Spanjers M. T., Til H. P. (1973) An evaluation of the criterion organ weight under conditions of growth retardation. *Ift Bas Sym*, 11: 85-94.

Flora S. J. S. (2000) Possible health hazards associated with the use of toxic metals in semiconductor industries. *J Occup Health*. 42: 105-110.

Fowler A. B. (2007) Indium, En: Nordberg G. F., Fowler B. A., Nordberg M., Friberg L. (Eds). *Handbook on the toxicology metals*. Elsevier, USA, pp. 569-576.

Friberg L., Elinder C. G. (1993) Biological monitoring of toxic metals. *Scand J Work Environ Health*, 19: 7-13.

Fu F., Wang Q. (2011) Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *J Environ Manag* 92:407-418.

Ganong W. F. (2004) *Fisiología médica*. Decimonovena edición. Ed. El Manual Moderno. México, pp. 561-592.

Gottschling B. C., Maronpot R. R., Hailey J. R., Peddada S., Moomaw C. R., Klaunig J. E., Nyska A. (2001) The role of oxidative stress in Indium phosphide-induced lung carcinogenesis in rats. *Toxicol Scie*, 64: 28-40.

Grahn E., Karlsson S., Karlsson U., Duker A. (2006) Historical pollution of seldom monitored trace elements in Sweden. Part B: Sediment analysis of silver, antimony, thallium and indium. *J Environ Monit*, 8: 732-744.

Gwinn W. M., Qu W., Shines C. J., Bousquet R. W., Taylor G. J., Waalkes M. P., Morgan D. L. (2013) Macrophage solubilization and cytotoxicity of indium-containing particles *in vitro*. *Toxicol Scien*, DOI: 10.1093/toxsci/kft154.

Hamaguchi T., Omae K., Takebayashi T., Kikuchi Y., Yoshioka N., Nishiwaki Y., et al. (2008) Exposure to hardly soluble Indium compounds in ITO production and recycling plants is a new risk for interstitial lung damage. *Occup Environ Med*, 65: 51-55.

Hines C. J., Roberts J. L., Andrews R. N., Jackson M. V., Deddens J. A. (2013) Use of and occupational exposure to Indium in the United States. *J Occup Environ Hyg*, 10: 723-733.

Homma S., Miyamoto A., Sakamoto S., Kishi K., Motoi N., Yoshimura K. (2005) Pulmonary fibrosis in an individual occupationally exposed to inhaled Indium-tin oxide. *Eur Respir J*, 25: 200-204.

Homma T., Ueno T., Sekizawa K., Tanaka A., Hirata M. (2003) Interstitial pneumonia developed in a worker dealing with particles containing indium-tin oxide. *J Occup Health*, 44: 137-139.

Houdy P., Lahmani M., Marano F. (2010) *Nanoethcis and nanotoxicology*. Springer. France, pp. 142.

IARC, International Agency for Research on Cancer. (2006) Working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *Indium phosphide en cobalt in hard metals and cobalt sulfate, gallium, arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide*. Vol. 86, Francia, pp. 197-220.

IPCS, International Programme on Chemical Safety. (1996) Thallium. Environmental health criteria. Vol. 82. Geneva: World Health Organization.

Isitman A. T., Manoli R., Schmidt G. H., Holmes R. A. (1974) An assessment of alveolar deposition and pulmonary clearance of radiopharmaceuticals after nebulization. *Amer J Roentgenol RA*, 120: 776-781.

JMHLW, Japan Ministry of Health, Labor and Welfare. (2013) Technical guideline for preventing health impairment of workers engaged in the indium tin oxide handling processes. Disponible en:

<http://www.mhlw.go.jp/bunya/roudoukijun/anzeneisei42/dl/03.pdf>, fecha de consulta: 13/04/2014.

Jorgenson J. D., George M. W. (2005) Mineral commodity profile: Indium. USGS, USA.

Kabe I., Omae K., Nakashima H., Nomiyama T., Uemura T., Hosoda K., et al. (1996) *In vitro* solubility and *In vivo* toxicity of indium phosphide. *J Occup Health*, 38: 6-12.

Kan M., Miyamae T. (1977) Bone marrow scintigraphy with ¹¹¹In-chloride: a clinical study for systemic hematopoietic disorders. *Radioisotopes*, 26: 852-857.

Kirby P., Shines C. J. (2009) Pleural effects of Indium phosphide in B6C3F1 mice: nonfibrous particulate induced pleural fibrosis. *Exp Lung Res*, 35: 858-882.

Krishna G., Nath G., Ong T. (1986) Murine bone marrow culture system for cytogenetic analysis. *Mutat Res*, 164: 91-99.

Lin R., Yang M., Li Y., Chang H., Kuan Y. (2011) Indium chloride-induced micronuclei via reactive oxygen species in chinese hamster lung fibroblast V79 cells. *Environ Toxicol*, DOI 10.1002/tox: 595:600.

Lima P. D. L., Leite D. S., Vasconcellos M. C., Cavalcanti B. C., Santos R. A., Costa-Lotufo L. V., et al. (2007) Genotoxic effects of aluminum chloride in cultured human lymphocytes treated in different phases of the cell cycle. *Food Chem Toxicol*, 45: 1154-1159.

Maghraoui S., Ahlem A., Aouatef B. A., Habid J. M., Leila T. (2011a) Histological and ultrastructural study of the intracellular behavior of Indium in the testicular tissues. *Microscopy Res Tech*, 74: 546-550.

Maghraoui S., Ayadi A., Ammar A. B., Jaafoura M., Hili A. E., Galle P., Tekaya L. (2011b) Microscopy and microanalysis study of the indium (In) behavior in the intestinal mucosa, the liver, the kidney and the testicle. *J Electron Microsc*, 60: 183-190.

Maghraoui S., Clichici S., Ayaldi A., Login C., Moldovan R., Daicoviciu D., et al. (2013) Oxidative stress in blood and testicle of rat following intraperitoneal administration of aluminium and indium. *Acta Physiol Hunga*, DOI: 10.1556/APhysiol.100.2013.021

Manyak M. J. (2008) ¹¹¹In capromab pendetide in the management of recurrent prostate cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*, 8: 175-181.

Mateos-Nava R. A. (2012) Efecto del pentóxido de vanadio sobre la expresión de las proteínas ciclinas y CDK de la fase G1 en linfocitos humanos tratados *in vitro*. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

Matthews A. D., Riley J. P. (1970) Occurrence of indium in seawater and some marine sediments. *Nature*, 225: 12-42.

Mikkelsen A., Sköld N., Ouattara L., Borgström M., Andersen J. N., Samuelson L., et al. (2004) Direct imaging of the atomic structure inside a nanowire by scanning tunneling microscopy. *Nat Mater*, 3: 519-523.

Nakajima M., Sasaki M., Kobayashi Y., Ohno Y., Usami M. (1999) Developmental toxicity of Indium in cultured rat embryos. *Teratogen Carcin Mut*, 19: 205-209.

Nakajima M., Takahashi H., Sasaki M., Kobayashi Y., Awano T., Irie D., et al. (1998) Developmental toxicity of Indium chloride by intravenous or oral administration in rats. *Teratogen Carcin Mut*, 18: 231-238.

Nakajima M., Takahashi H., Sasaki M., Kobayashi Y., Ohno Y., Usami M. (2000) Comparative developmental toxicity of Indium in rats and mice. *Teratogen Carcin Mut*, 20: 219-227.

Nakamura S., Mukai T., Senoh M. (1994) Candela-class high-brightness InGaN/AlGaIn double-heterostructure blue-light-emitting diodes. *Appl Phys Lett*, 64: 1687-1689.

Nakano M., Omae K., Tanaka A., Hirata M., Michikawa T., Kikuchi Y., et al. (2009) Causal relationship between indium compound inhalation and effects on the lungs. *J Occup Health*, 51:513-521.

Natarajan A. T. (1993) Mechanisms for induction of mutations and chromosome alterations. *Environ Health Persp Suppl*, 101: 225-229.

Natarajan A. T. (2002) Chromosome aberrations: past, present and future. *Mutat Res*, 504: 3-16.

NTP, National Toxicology Program. (2001) Technical report on the carcinogenesis studies of indium phosphide in F344/N rats and B6C3F₁ mice (inhalation studies). USA, pp. 1-348.

Obe G., Pfeiffer P., Savage J. R. K., Johannes C., Goedecke W., Jeppsen P., et al. (2002) Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutat Res*, 504: 17-36.

OECD (2001) Harmonised integrated classification system for human health and environmental hazards of chemical substances and mixtures. OECD Series on testing and assessment No. 33. Environment directorate, Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology. Francia.

OECD (2013) Guideline for the testing of chemicals. DRAFT TG 475: Mammalian bone marrow chromosomal aberration test. Disponible en: http://www.oecd.org/env/ehs/testing/Draft_TG_475_third_commenting_round_Dec_2013.pdf, fecha de consulta: 06/05/14.

Omae K., Nakano M., Tanaka A., Hirata M., Hagamuchi T., Chonan T. (2011) Indium lung-case reports and epidemiology. *Int Arch Occup Environ Health*, 84:471-477.

Rana S. V. S. (2008) Metals and apoptosis: Recent developments. *Trace Elem Med*, 22: 262-284.

Repetto J. M., Repetto K. G. (2009) *Toxicología fundamental*. Ediciones Díaz de Santos, España, pp. 112-115.

Repetto G., Del Peso A. (2012) Gallium, Indium and thallium. En: Clayton G. D., Clayton F. E (Eds). *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*. John Wiley & Sons, USA, pp. 288-302.

Rodríguez-Arnaíz R. (2003) Las toxinas ambientales y sus efectos genéticos. 4ta ed. Fondo de Cultura Económica. México, p. 95.

Rodríguez-Mercado J. J., Altamirano-Lozano M. A. (2006) Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Rev Int Contam Ambient*, 22: 173-186.

Rodríguez-Mercado J. J., Álvarez-Barrera L., Altamirano-Lozano M. A. (2010) Chromosomal damage induced by vanadium oxides in human peripheral lymphocytes. *Drug Chem Toxicol*, 33: 97-102.

Sandaltzopoulos R., Galanis A., Karapetsas A. (2009) Metal-induced carcinogenesis, oxidative stress and hypoxia signalling. *Mutat Res* 674:31-35.

Savage J. R. (2004) On the nature of visible chromosomal gaps and breaks. *Cytogen Gen Res*, 104: 46-55.

Scott D., Danford N., Dean B. (1990) Metaphase chromosome aberration assays *in vitro*. En: Kirkland D. (Ed). *Basic Mutagenicity Test. UKEMS Recommended procedures*. The Bath Press, Great Britain, pp. 62-85.

Sepúlveda S. J. D. (2002) Estudio comparativo de las concentraciones de partículas antropogénicas entre las regiones centro, norte y sur, y oriente y poniente de la ZMVM, mediante microscopía electrónica de barrido y microanálisis elemental por espectrometría de rayos X. Informe final. INE-CENICA, México.

Smith C., Carson B. I., Hoffmeiser F. (1978) *Trace elements in the environment*. Ann Arbor Science Publishers, USA, pp. 87-105.

Suckow M. A., Danneman P., Brayton C. (2001) *The Laboratory mouse*. CRC Press, USA, pp. 1-167.

Takagi R., Suzuki Y., Seki Y., Ikehata M., Kajihara C., Shimizu H., Yanagisawa H. (2011) Indium chloride-induced micronuclei in *In vivo* and *In vitro* experimental systems. *J Occup Health*, 53: 102-109.

Tanaka A., Hirata M., Kiyohara Y., Nakano M., Omae K., Shiratani M., Koga K. (2010) Review of pulmonary toxicity of indium compounds to animals and humans. *Thin Solid Films*, 518: 2934-2936.

Tanaka A., Hirata M., Omura M., Inoue N., Ueno T., Homma T., Sekizawa K. (2002) Pulmonary toxicity of Indium-tin oxide and Indium phosphide after intratracheal instillations into the lung of hamsters. *J Occup Health*, 44: 99-102.

Tolcin A. C. (2013) Indium. Mineral Commodity Summaries. U. S. Geological Survey. Reston Virginia.

Truta E., Mihai C., Ghergel D., Vochita G. (2014) Assessment of the cytogenetic damage induced by chromium short-term exposure in root tip meristems of barley seedings. *Water Air Soil Pollut*, 225: 1933.

Van Hulle. M, De Cremer K., Vanholder R., Cornelis R. (2005) *In vivo* distribution and fractionation of Indium in rats after subcutaneous and oral administration of [^{114m}In]InAs. *J Environ Monit*, 7: 365-370.

Wadas T., Wong E. H., Weisman G. R., Anderson C. J. (2010) Coordinating radiometals of copper, gallium, Indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease. *Chem Rev*, 110: 2858-2902.

White S. J. O., Hemond H. F. (2012) The anthropiogeochemical cycle of indium: a review of the natural and anthropogenic cycling of indium in the environment. *Crit Rev Envir Sci Tech*, 42: 155-186.

www.indium.com (2013) Indium trichloride. Disponible en: www.indium.com/inorganic-compounds/indium-compounds/indium-trichloride, fecha de consulta: 01/06/2013

Yamauchi H., Takahasi K., Yamamura Y., Fowler B. A. (1992) Metabolism of subcutáneos administered indium arsenide in the hámster. *Toxicol Appl Pharmacol*, 116: 66-70.

Zheng W., Winter S. M., Kattnig M. J., Carter D. E., Sipes I. G. (1994) Tissue distribution and elimination of Indium in male Fischer 344 rats following oral and intratraqueal administration of Indium phosphide. *J Toxicol Env Health*, 43: 483-494.