



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Carrera de Biología

**“EVALUACIÓN DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS EN  
CÉLULAS DE MÉDULA ÓSEA DE RATONES MACHO DE LA  
CEPA CD-1 TRATADOS CON DOS ÓXIDOS DE VANADIO”**

**TESIS**

Que para obtener el título de

**Biólogo**

Presenta:

**Acosta San Juan Adolfo**

Directora de tesis: Dra. Álvarez Barrera Lucila

Asesor: Dr. Rodríguez Mercado Juan José



México, D.F. 15 de Marzo 2016



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
P R E S E N T E.**

Comunico a usted que el alumno **ACOSTA SAN JUAN ADOLFO**, con número de cuenta **306057582**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **15 de marzo de 2016** a las **17:00 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** Dr. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO
- SUPLENTE** M. en C. RODRÍGO ANIBAL MATEOS NAVA

*[Handwritten signatures of the jury members]*

El título de la tesis que presenta es: **Evaluación de aberraciones cromosomicas en células de médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 tratados con dos óxidos de vanadio.**

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 05 de febrero de 2016

*[Handwritten signature]*  
**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

Nunca vamos a entender por qué cambian tanto las personas...  
Supongo que fue mucho dolor,  
se cansaron de lo mismo,  
quisieron llamar la atención o sentirse importantes..  
Olvidan quienes son en el proceso de buscar algo que los llene,  
pero sólo aumentan el vacío.

Veo fotos de gente que solía conocer, de amigos o de mi familia...  
y me pregunto quiénes son ahora y si serán felices con el resultado.

Quiero creer que sí lo son,  
pero aquellos ojos reflejan tanta angustia,  
tantos deseos de escapar de algo que estoy seguro ni siquiera ellos saben;  
no quieren estar ahí pero tampoco en ningún otro lado,  
y supongo que quedarse a fingir que son libres  
es mucho más fácil que tomar las riendas de su vida  
y ser responsables de sus actos,  
del daño de su cuerpo y el de todo su alrededor,  
supongo que sumergirse en una botella de alcohol,  
es mucho más fácil que enfrentar la vida a cara lavada..  
Aquí es donde dicen que los juzgo,  
o que no sé lo que se siente,  
y todas esas excusas baratas para justificarse.

Pero jamás he escrito una sola palabra sin saber lo que se siente,  
jamás he escrito mentiras,  
jamás me volvería a mentir a mí mismo,  
sé lo que se siente y puedo decir que la clave está en nunca rendirse,  
porque levantarte cuesta diez veces más que hundirse,  
así que mantén la mirada al frente,  
aunque sea de rodillas,  
y vuelve a leer este texto cuando sientas que ya no hay salida  
o cuando tu pensamiento se vuelva tan egoísta  
y creas que todo este trabajo, esta tesis  
este título, la persona que eres hoy y todo lo que tengas  
Lo lograste tú solo, recuerda esto siempre Adolfo,  
Por qué nunca vamos a entender por qué la gente cambia.

Es por lo anterior que **quiero agradecer** a tantas personas que me ayudaron a llegar hasta aquí.

En especial a mi **madre y padre**, por darme la vida, y todo lo que un hijo pueda desear y necesitar, por criarme con amor en un hogar con dulzura, nunca dejare de estar agradecido con ustedes por todo.... Los amo.

A mi **hermana Azalea** por todo su apoyo, cariño y comprensión, por siempre estar cuando la necesito, y en especial por impulsarme a lograr mis metas y ser ejemplo de vida te quiero hermana.

A **David solano** por todo el apoyo brindado desde que llego a la familia, en especial por traer al mundo a mis dos angelitos hermosos **Nazly y Meli**, a quienes amo mucho, gracias pequeñas por enseñarme la importancia de madurar y ser una buena persona y tener un motivo más para crecer en la vida.

A mi hermana **tere**, a **lucy**.

Muy especialmente a **la Dra lucy**, por haberme aceptado como su alumno y darme la oportunidad de realizar la tesis con su ayuda, por ser tan comprensiva y apóyame tanto, reconocermme cada logro y ser un ejemplo de vida.

Al **Dr. Juan José**, por toda su ayuda y consejos, el cual por todo es una delas personas que más admiro, y por impulsarme a seguir creciendo, y hacer de la ciencia y la biología una gran carrera.

A la Maestra **Vero** y al Maestro **Aníbal**, por toda su ayuda, consejos, pláticas, por ayudarme siempre que los necesite y por brindarme su amistad.

A los compañeros de labo L5PA por convertir ese lugar en mi segundo hogar en especial a **Heriberto y Fabricio, Miguelito a Iván, Karla, Yas, Joselin, Esau, Victor, Angelica, Beto, Miriam**. Y por último pero más importante a ti **amor Anais** por todo tu amor cariño, apoyo y compañía brindado incondicionalmente por compartir metas e ilusiones creo que sin ti esto hubiera tardado más gracias amor.

A mis compañeros universitarios que nunca olvidare, **Karen, aldo Irvin y marta mis amigos los chulos, a luis** . Los más importantes y especiales en mi vida a **Pompa, Iveth, Marisol solano, cristina, xochitl, Sofía, coneja**. A los que me impulsaron al final de la carrera y me ayudaron a terminar la carrera, mi gran amiga **Tere Guzmán, sado, chaparrito, mesie black, Nadiesna, Cesar Montoro , Liliana Valdovinos , Eva santos**.al profesor Gusman por darme el consejo de vida a mi hermano Juan del cch.

## Esta tesis está dedicada a:

A Dios, a mi madre Paula san Juan, a quien le prometí hace 10 años que sería un universitario, que a pesar de que no sabía que iba a estudiar le prometí que esas lágrimas de alegría que vi en sus ojos la volvería a ver, por brindarme todo lo que un hijo pudiera necesitar, por darme todas las facilidades y fuerzas para que pudiera seguir realizándome y superándome. Gracias por tus consejos, las experiencias y enseñanzas que me has dado por que en cada paso que he dado, siempre has estado tú al lado mío superando las adversidades y los retos que se han presentado, mostrando siempre una gran confianza en mí y en lo que hago, este triunfo es tuyo recuérdalo con amor y mucho orgullo .

## Índice

<b>1. Resumen</b> .....	1
<b>2. Introducción</b> .....	3
<b>3. Vanadio</b> .....	4
<b>3.1. Características generales</b> .....	4
<b>3.2. Abundancia en la Tierra</b> .....	5
<b>3.3. Producción</b> .....	6
<b>3.4. Usos</b> .....	7
<b>3.5. Liberación del vanadio al ambiente</b> .....	7
<b>3.6. Exposición</b> .....	9
<b>3.7. Toxicidad</b> .....	10
<b>3.8. Carcinogénesis</b> .....	10
<b>3.9. Genotóxicidad</b> .....	11
<b>3.9.1. Estudios en humanos</b> .....	12
<b>3.9.2. Estudios en animales</b> .....	13
<b>4. Metabolismo</b> .....	14
<b>5. Tetróxido de vanadio y trióxido de vanadio</b> .....	16
<b>5.1. Características</b> .....	16
<b>5.2. Genotóxicidad</b> .....	16
<b>6. El ratón como sistema de prueba</b> .....	17
<b>6.1. Médula ósea</b> .....	17
<b>6.2. El genoma del ratón</b> .....	18
<b>7. Genotóxicidad</b> .....	19
<b>7.1. Aberraciones cromosómicas</b> .....	19
<b>8. Justificación</b> .....	20
<b>9. Hipótesis del trabajo</b> .....	21
<b>10. Objetivos</b> .....	21
<b>10.1. General</b> .....	21
<b>10.2. Particulares</b> .....	21
<b>11. Material y método</b> .....	22
<b>11.1. Animales</b> .....	22
<b>11.2. Reactivos</b> .....	22
<b>11.3. Tratamiento</b> .....	22
<b>11.4. Obtención de las células de la médula ósea</b> .....	23
<b>11.5. Evaluación</b> .....	24

11.6. Análisis estadístico .....	24
12. Resultados.....	28
12.1. Efecto de los compuestos de vanadio en el peso de los ratones.....	28
12.2. Efecto del $V_2O_4$ sobre el IM y el porcentaje de células con ACE.....	28
12.4. Efecto del $V_2O_3$ sobre el IM y el porcentaje de células con ACE.....	31
13. Discusión .....	36
13.1. Efecto del $V_2O_4$ y $V_2O_3$ en el peso de los ratones.....	36
13.2. Efecto del $V_2O_4$ y $V_2O_3$ sobre el IM.....	37
13.3. Efecto de los compuestos de vanadio sobre el porcentaje de células con ACE.....	38
14. Conclusiones .....	40
15. Referencias.....	41



*Tesis realizada bajo la dirección de la Dra. Lucila Álvarez Barrera y la  
Asesoría del Dr. Juan José Rodríguez Mercado, en el Laboratorio de  
Teratogénesis de la Unidad de Investigación en Genética y  
Toxicología Ambiental (UNIGEN), FES Zaragoza UNAM.*

*Responsable de la unidad*

*Dr. Mario Agustín Altamirano Lozano.*

*Durante el desarrollo de este trabajo se contó con el apoyo parcial de  
PAPIIT-DGAPA-UNAM clave IA 201312 y IN224916.*

## 1. Resumen

El vanadio (V) es liberado al ambiente a través de procesos naturales como el desgaste de las rocas oceánicas y de los minerales terrestres así como las erupciones volcánicas, incendios forestales y quema de combustibles fósiles. Sin embargo su liberación en la atmósfera es principalmente ocasionado por la actividad humana, debido a que se encuentra presente como complejo organometálico en todos los petróleos crudos y materiales de origen fósil, se estima que se liberan aproximadamente 110 000 ton de vanadio dentro de la atmósfera anualmente, por lo que es considerado un contaminante ambiental, con lo que podemos decir que la vía respiratoria es una de las principales rutas de exposición a vanadio para la población en general.

EL  $V_2O_5$  ha sido clasificado por la agencia internacional para la investigación del cáncer (IARC 2006) como un posible carcinógeno humano (grupo 2B) con propiedades genotóxicas esto en base a un estudio realizado con roedores en el cual este compuesto produjo carcinogénesis de pulmón.

La constante exposición a estos compuestos crea interés en conocer los efectos toxicológicos y en particular de su potencial genotóxico. Además se sabe que la toxicidad y genotoxicidad del vanadio está estrechamente relacionada a su forma química y aumenta a medida que incrementa el estado de oxidación siendo el  $V_2O_5$  la forma más toxica y utilizada de vanadio, pero existen pocos trabajos sobre los efectos a nivel celular de otras sales como el tetróxido de vanadio ( $V_2O_4$ ) y trióxido de vanadio ( $V_2O_3$ ), por lo anterior el objetivo de este trabajo es evaluar el (IM) y tipo de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en las células de la médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 tratados con estos dos óxidos.

Se formaron 8 grupos de 6 ratones cada uno, a los cuales se les administro vía intraperitoneal el vanadio de la siguiente manera: tres con  $V_2O_4$  en dosis de 4.7, 9.4, y 18.8 mg/kg y tres con  $V_2O_3$  en dosis de 4.22, 8.46 y 16.93 mg/kg, un testigo

de agua destilada y uno con 7 mg/kg de cloruro de cadmio ( $\text{CdCl}_2$ ) como testigo positivo, en todos los casos el tratamiento fue de 24 h.

Los resultados de este trabajo establecen que la administración vía ip de  $\text{V}_2\text{O}_4$  o  $\text{V}_2\text{O}_3$  en ratones CD-1 reduce el IM en todas las dosis administradas, e incrementan el porcentaje de células con ACE, estableciendo así que estos compuestos inducen toxicidad celular, además de efectos genotóxicos provocados principalmente por actividad clastogénica.

## 2. Introducción

Los metales se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente. Muchos como el calcio (Ca), cobalto (Co), cobre (Cu), hierro (Fe), magnesio (Mg), manganeso (Mn), níquel (Ni) y cinc (Zn) son micronutrientes y constituyen parte esencial en los sistemas biológicos, en las células catalizan reacciones dentro del metabolismo y en el transporte de oxígeno, estabilizan macromoléculas y están involucrados en la transducción de señales entre otros procesos. Sin embargo, no todos son esenciales existen algunos como el mercurio (Hg) y el plomo (Pb) los cuales tienen efectos adversos reconocidos en los sistemas biológicos.

Además otros como el vanadio al cual no se le atribuyen funciones biológicas reconocidas en el humano, es un elemento que tiene propiedades mutágenas y genotóxicas (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006, Galanis *et al* 2008, Hernández *et al* 2009).

El V es un metal pesado, que debido a las actividades antropogénicas su presencia en el ambiente se ha incrementado. Las concentraciones de V en la Ciudad de México no se monitorean (De la torre *et al* 1999), no obstante existen grupos de investigación que trabajan para identificar los niveles de exposición a él, como el realizado por Fortoul *et al* en 2002, quienes encontraron un aumento significativo (del 20% aproximadamente) en las concentraciones de vanadio de ciudadanos que vivieron en la década de los 90's comparados con pobladores de la década de los 60's. Por otra parte Gutiérrez-Castillo *et al* 2006 mostraron la presencia de vanadio, cadmio, cromo, cobre, fierro, zinc, manganeso y níquel en muestras recolectadas en cuatro estaciones de monitoreo de la Ciudad de México.

Se considera al V en estado de oxidación 5+ el más toxico para los organismos incluyendo al ser humano, motivo por el cual ha sido el más estudiado (Ivancsits *et al* 2002, Rodríguez-Mercado *et al* 2011, Altamirano-Lozano *et al* 2014, Rojas-Lemus *et al* 2014). Por lo anterior y debido a que la información relacionada con los estados de oxidación  $V^{4+}$  y  $V^{3+}$  es limitada en este estudio se decidió evaluar el

efecto genotóxicos y citotóxico del tetróxido de vanadio y trióxido de vanadio en un modelo *in vivo*.

## 3. Vanadio

### 3.1. Características generales

El descubrimiento del V se describió en dos décadas diferentes y en ambas ocasiones fue nombrado con motivo a los colores que proporcionan sus diferentes estados de oxidación. El primero en descubrirlo fue el mineralogista español Andrés Manuel del Río en 1801 en Guanajuato México. Aunque por diversas circunstancias el descubrimiento se le atribuyo mundialmente al químico sueco Niels Gabriel Sefstr. m en 1830 (Fortoul *et al* 2014, Scior y Guevara 2014).

En la tabla periódica está localizado como el primer elemento de transición del grupo VB junto al niobio (Nb), tantalio (Ta) y dubnio (Db), con número atómico 23, cuenta con una densidad de 6.11 g/cm<sup>3</sup>, un peso atómico de 50.95, punto de fusión de 1950°C y de ebullición de 3600°C. En la naturaleza se puede encontrar en estados de oxidación de -2 a +5, y en los sistemas biológicos están presente en los estados de oxidación V<sup>3+</sup>, V<sup>4+</sup> y V<sup>5+</sup>; siendo los dos últimos los más estables a pH fisiológico **Cuadro 1** (Louise y Agneta 2015).

**Cuadro 1.** Propiedades físicas y químicas de compuestos de vanadio.

Nombre (Formula química)	Peso molecular	Estado de oxidación	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Solubilidad
Pentóxido de vanadio (V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	181.88	5+	3.357	Ligeramente soluble en agua, 8 g/L a 20 °C. Soluble en anhídrido acético, acetato de etilo y acetona.
Metavanadato de amonio (NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub> )	116.98	5+	2.326	Soluble en agua, 5.2 g/L a 15°C, 69.5 g/L a 96°C. insoluble en alcohol, éter o NH <sub>4</sub> Cl.
Metavanadato de sodio (NaVO <sub>3</sub> )	121.93	5+	Sin datos	Soluble en agua, 211 g/L a 25 °C, 388 g/L a 75 °C.
Ortovanadato de sodio (Na <sub>3</sub> VO <sub>4</sub> )	183.91	5+	Sin datos	Soluble en agua.
Oxitricloruro de vanadio (VOCl <sub>3</sub> )	173.30	5+	1.829	Se descompone en solución. Soluble en alcohol, éter y ácido acético.
Tetróxido de vanadio (V <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )	165.88	4+	4.339	Soluble en ácidos o bases. De insoluble a poco en agua.
Sulfato de vanadilo (VOSO <sub>4</sub> )	163.00	4+	Sin datos	Muy soluble en agua fría (20-25°C).
Tetracloruro de vanadio (VCl <sub>4</sub> )	192.75	4+	Sin datos	Se descompone en solución.
Oxidicloruro de vanadio (VOCl <sub>2</sub> )	137.85	4+	2.88	Se descompone en agua fría. Soluble en ácido nítrico diluido.
Trióxido de vanadio (V <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	149.88	3+	4.87	Ligeramente soluble en agua fría. Soluble en agua caliente, ácido nítrico, ácido hidrofúorhídrico y bases.
Tricloruro de vanadio (VCl <sub>3</sub> )	157.30	3+	Sin datos	Soluble en alcohol absoluto y éter. Se descompone en agua (de 3 a 18 °C).

Tomado y modificado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006

### 3.2. Abundancia en la Tierra

El V ocupa el lugar número 22 entre los elementos más abundantes en la corteza terrestre, en la plataforma continental se encuentra en una concentración aproximada de 100 mg/g los cuales se encuentran en 65 diferentes minerales,

entre ellos carnotita, roscoelita, vanadita y patronita. En la naturaleza hay dos isotopos naturales, el  $^{50}\text{V}$  y  $^{51}\text{V}$ , este último con abundancia de 99.75%. Depósitos del metal pueden encontrarse en México, Australia, Brasil, Canadá, Chile, Finlandia, Madagascar, Malasia, China, Rusia, Sudáfrica y Estados Unidos (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006, ATSDR 2012, Altamirano-Lozano *et al* 2014, Louise y Agneta 2015).

Se estima que las concentraciones de V en el suelo varían de 5 a 140 mg/Kg, sin embargo estos valores se pueden incrementar a más de 400 mg/Kg en suelos de áreas contaminadas por cenizas volcánicas o cercanas a zonas industriales. Con respecto a la cantidad presente en el agua, esta depende mucho de la localización geográfica, observándose que en aguas continentales va desde 0.2 a más de 100  $\mu\text{g/L}$  y en los océanos de 0.1 a 29  $\mu\text{g/L}$ , en general el agua dulce contiene 3  $\mu\text{g/L}$  pero niveles mucho más altos han sido reportados cercas del monte Etna (50-130  $\mu\text{g/L}$ ). En el aire varían dependiendo de la región, en zonas urbanas la concentración oscila entre 0.5 y 1230  $\text{ng/m}^3$ , en tanto que zonas rurales va de 0.4-500  $\text{ng/m}^3$  (IPCS 1988, Barceloux 1999, Mateos-Nava 2012, Louise y Agneta 2015)

### 3.3. Producción

Debido a sus amplias aplicaciones, el vanadio se ha convertido en uno de los metales más importantes en la industria. Por lo que su demanda ha aumentado exponencialmente ya que en el año de 1907, la producción era de solo de tres ton, para 1910 de 150 ton, en 1990 fue de 30 700 ton, para el año 2011 el total de producción alcanzó las 60 000 ton y a pesar de que no se realizan extracciones específicas de este metal se obtiene como un biproducto o coproducto durante la extracción y procesamiento de minerales de hierro, titanio, fosforo y uranio, en forma de  $\text{V}_2\text{O}_5$ .

### 3.4. Usos

El V es un metal muy importante para la industria automotriz, debido a que las aleaciones realizadas con hierro y vanadio, confieren dureza, resistencia y maleabilidad a los aceros. También, es utilizado en la fabricación de aleaciones de alta resistencia y baja corrosión, forma amalgamas principalmente con aluminio (Al), titanio (Ti), boro (B), cromo (Cr), níquel (Ni) y manganeso (Mn) (Scior y Guevara 2014). Es importante en la fabricación de maquinaria aérea y tecnología espacial (Mateos-Nava 2012).

Otro de sus usos, es en la industria química, donde se utiliza como catalizador en la obtención del ácido sulfúrico, en la fabricación de caucho sintético y para fabricar pinturas; lo anterior debido a que las sales de este metal ofrecen una gran gama de colores dependiendo de su estado de oxidación, proporcionando colores verdosos, rojos, amarillos, dorados como el bronce o negros. Además, se utiliza en el pintado de porcelana, papel fotográfico, pinturas especiales en cinematografía y fabricación de vitrales. También se encuentra la fabricación de pilas, baterías y celdas (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006, Kulova *et al* 2008, Scior y Guevara 2014). En la industria agrícola se emplea en la elaboración de fungicidas e insecticidas y como micronutriente en fertilizantes (Mateos-Nava 2012).

En los últimos años el V se ha convertido en un elemento de interés farmacológico y nutricional, por lo que diversas investigaciones se han enfocado para utilizarlo en el tratamiento de la diabetes, del cáncer, el rendimiento físico en atletas y como anticonceptivo vaginal (Aragón *et al* 2005, Thompson *et al* 2009, Scior y Guevara 2014).

### 3.5. Liberación del vanadio al ambiente

Procesos naturales como el desgaste de las rocas oceánicas y de los minerales terrestres así como las erupciones volcánicas, incendios forestales y quema de combustibles fósiles, liberan vanadio al ambiente.



De manera antropogénica su liberación en la atmósfera es debido a que se encuentra presente como complejo organometálico en todos los petróleos crudos y materiales de origen fósil **Figura 1**; su concentración en los petróleos depende del lugar de origen por ejemplo en los provenientes de Venezuela la concentración oscila entre 282 a 1180  $\mu\text{g/g}$ , en la variedad Athabasca de Canadá y la maya de México el contenido es de 640 y 243  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente. En cenizas residuos sólidos u hollín se puede encontrar de 600 a 700  $\mu\text{g/g}$ , con lo cual se estima que se liberan aproximadamente 110 000 ton de vanadio dentro de la atmosfera anualmente, con lo que podemos decir que la vía respiratoria es una de las principales rutas de exposición a V para la población en general (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006, Rodríguez-Mercado *et al* 2011, Scior y Guevara 2014).



**Figura 1.** Procesos de liberación del vanadio al ambiente (Tomado y modificado de Fortoul *et al* 2014).

### 3.6. Exposición

Los seres humanos estamos constantemente expuestos a V ya que se encuentra en el ambiente, agua, aire, suelo y en los alimentos como la carne, cereales, frutas y vegetales, siendo la vía respiratoria y la ingesta de alimentos (13 a 15µg/día) las principales rutas de exposición a vanadio (**Cuadro 2**) (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006, Fortoul *et al* 2014, Scior y Guevara 2014).

**Cuadro 2.** Concentración de Vanadio en diferentes tipos de alimentos (Pennington y Jones 1987).

Alimento	Media (µg/100g)	Rango (µg/100g)
Para adulto		
Leche yogur y queso	0.1	0-0.6
Carne, pescado y aves	1.0	0-11.9
Huevos	0.3	0.2-0.4
Nueces	0.6	0.2-1.0
Legumbres	0.1	0-0.3
Cereales	2.3	0-14.7
Frutas y jugos	0.6	0-7.1
Vegetales	0.6	0-7.2
Sopas	0.6	0-2.0
Postres	0.9	0-2.9
Edulcorantes	2.3	0.4-4.7
Grasas y salsas	0.3	0-0.6
Bebidas	0.7	0-3.3
Para bebes		
Fórmulas	0.1	0-0.2
Carne y aves	0.5	0-0.8
Cereales	1.6	1.2-2.0
Frutas y jugos	1.6	0-13.4
Vegetales	0.4	0-1.1
Platos combinados	0.2	0-0.6
Natillas	0.2	Sin datos

Tomado y modificado de Imtiaz *et al* 2015.

Además para las personas laboralmente expuestas, las concentraciones de V en sangre y orina se incrementan dado que uno de los compuestos más utilizados dentro de la industria es el  $V_2O_5$ , el cual es altamente tóxico, por lo que se ha establecido un límite de exposición ocupacional de  $0.05 \text{ mg/m}^3$  (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006). En un estudio realizado por Ivancsits *et al* 2002 en 49 individuos encontraron que las concentraciones del metal en suero fueron de  $7.73 \text{ } \mu\text{g V/L}$  y de  $14.57 \text{ } \mu\text{g V/g}$  creatinina en orina, mientras que Ehrlich *et al* en 2008 reportaron concentraciones de  $2.2 \text{ } \mu\text{g/L}$  del metal en plasma en 52 trabajadores, sin embargo en los encargados de la limpieza de calderas la exposición a polvos de V es de entre 50 a  $100 \text{ mg/m}^3$  (IARC 2006).

### 3.7. Toxicidad

La toxicidad del vanadio está estrechamente relacionada con su forma química y aumenta a medida que se incrementa el estado de oxidación siendo el  $V_2O_5$  la forma más toxica para los mamíferos, las personas expuestas laboralmente presentan irritación del tracto respiratorio y garganta, tos, conjuntivitis, dermatitis, congestión pulmonar, daño al epitelio alveolar, bronquitis, rinitis, faringitis, coloración verde en la lengua, así como inflamación en las células de la mucosa nasal (Shi *et al* 1996, Altamirano-Lozano *et al* 2014, Zwolak 2014).

### 3.8. Carcinogénesis

El  $V_2O_5$  ha sido designado como posible carcinógeno para los seres humanos (grupo 2B) por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2006) basado en los trabajos realizados con ratones en donde encontraron que la exposición a este compuesto produce cáncer de pulmón, y por la Comisión para la Investigación de los Peligros para la Salud de los Compuestos Químicos en el Área de Trabajo, de Alemania (Ciranni *et al* 1995, Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006, MAK 2008).

Se conoce que hay una relación entre el daño al material genético y los procesos de carcinogénesis, dentro de los efectos genotóxicos que pueden inducir los

compuestos de V se encuentran alteraciones cromosómicas, micronúcleos y otros efectos descritos a continuación.

### 3.9. Genotóxicidad

La genotóxicidad involucra cualquier tipo de cambio en la estructura de los cromosomas o sobre el ADN, en el ADN incluyen rupturas en la cadena sencilla o doble o bien cualquier cambio en la composición química de esta molécula, así como mutaciones. También la genotóxicidad se puede evaluar por la ganancia o pérdida de cromosomas o de juegos completos de cromosomas (Ciranni *et al* 1995).

Hay varios mecanismos por los cuales se pueden producir daños al ADN, tales como:

- a) Mutagénesis, la cual consiste en la ganancia, pérdida o modificación de las bases de la molécula del ADN.
- b) Aneugénesis, que es el resultado de la pérdida o ganancia de uno o más cromosomas, alterando de esta manera el número normal de cromosomas en un juego cromosómico, y
- c) Clastogénesis, que es el proceso por el cual se producen rupturas en los cromosomas, ocasionando que se pierdan, adicionen o reordenen partes en su estructura (Fahmy y Aly 2000, Celik *et al* 2005, Singh *et al* 2007).

Para entender mejor los mecanismos de acción de agentes o sustancias que dañan al material genético, se pueden realizar pruebas citogenéticas donde las aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) y numéricas (ACN), micronúcleos (MN) y los intercambio de cromátidas hermanas (ICH) (Gateva *et al* 2013, OECD 2013) en sistemas de prueba *in vivo* son de las más recurridas.

Se conoce que diversos agentes químicos que en su estructura tienen metales como V pueden provocar efectos perjudiciales sobre el material genético de los organismos (Altamirano-Lozano *et al* 2014).

Estudios *in vivo* e *in vitro* confirman el potencial genotóxico de algunos compuestos de V<sup>5+</sup> (Altamirano-Lozano *et al* 2014), sin embargo se conoce que dependiendo del estado de oxidación del V puede provocar diferentes efectos (Rodríguez-Mercado *et al* 2010). Existen pocos estudios que describan los efectos genotóxicos de los compuestos con V<sup>4+</sup> y V<sup>3+</sup>.

Lo anterior debido a que se ha visto que el vanadio puede inducir la formación de especies reactivas de oxígeno y radicales libres en los sistemas biológicos a través de reacciones de tipo Fenton o al reducir vanadio (5+) a vanadio (4+) por el glutatión y otras moléculas (Sakurai 1994, Galanis *et al* 2008).

Las concentraciones bajas de radicales libres son beneficiosas e incluso indispensables en los organismos, ya que cumplen una función importante en los procesos homeostáticos, como intermediarios en reacciones de oxidación-reducción (redox) esenciales para la vida, sin embargo en cantidades no requeridas o excesivas son tóxicas, y pueden llegar a interactuar con biomoléculas, como los azúcares, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando su estructura y función, en particular la interacción con el ADN puede conducir a daño y mutaciones (Mateos-Nava 2012).

### 3.9.1. Estudios en humanos

Ivancsits *et al* 2002, no observaron cambios en la frecuencia de ICH ni daño al ADN, en 49 trabajadores expuestos ocupacionalmente a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> a pesar de que los trabajadores tenían mayores concentraciones del metal en sangre y orina con respecto a los controles. En otro estudio realizado con 52 personas no encontraron daño al ADN, pero si incremento en el número de células con MN y de células necróticas (Ehrlich *et al* 2008). De lo anterior se desprende que la exposición ocupacional a V tiene factores de riesgos genotóxicos y sobre la salud.

### 3.9.2. Estudios en animales

Ciranni *et al* en 1995, empleando el ratón como modelo de prueba para evaluar la genotoxicidad de tres sales de vanadio; sulfato de vanadilo ( $\text{SVO}_5$  100 mg/Kg,  $\text{V}^{4+}$ ), ortovanadato de sodio ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$  75 mg/Kg,  $\text{V}^{5+}$ ) y metavanadato de amonio ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$  50 mg/Kg,  $\text{V}^{5+}$ ) administrados por vía intragástrica, encontraron que las tres sales incrementan la frecuencia de células con MN así como de ACN, y solo el  $\text{SVO}_5$  incremento significativamente el porcentaje de ACE.

Por otra parte, Mailhes *et al* 2003 al evaluar la capacidad del  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  administrado vía intraperitoneal en ratón hembra ICR (en dosis de 5, 15 y 25 mg/Kg), encontraron anomalías citogenéticas tanto en células germinales como somáticas; donde el compuesto incremento el porcentaje de células con separación prematura del centrómero e hiperploidías. El mismo compuesto administrado de manera oral en ratones macho CD-1 durante 5 semanas (en 7.5, 75, 750 y 1500 mg/L), induce MN, daño primario al ADN y citotoxicidad en dosis altas (Leopardi *et al* 2005).

Se tienen pocos datos de los efectos genotóxicos y citotóxicos de los compuestos de  $\text{V}^{4+}$  y  $\text{V}^{3+}$  *in vivo* (Cuadro 3), algunos de los efectos de estos dos estados de oxidación son similares a los que induce el  $\text{V}^{5+}$  sin embargo otros son exclusivos de cada estado de oxidación.

**Cuadro 3.** Efectos genotóxicos del vanadio con respecto a sus estados de oxidación.

Organismo/tejido	Resultado		Referencia
Ratón macho CD- 1 Médula ósea	+Micronúcleos +ACE +Hiperploidías	V <sup>5+</sup>	Ciranni <i>et al</i> 1995
Ratón hembra ICR Médula ósea	+Hiperploidías	V <sup>5+</sup>	Mailhes <i>et al</i> 2003
Ratón macho CD- 1	+MN	V <sup>5+</sup>	Leopardi <i>et al</i> 2005
Ratón macho CD-1 Diferentes órganos	+rompimiento de cadena sencilla de ADN	V <sup>5+</sup>	Altamirano-Lozano <i>et al</i> 1996
Ratón macho y hembra- CD-1 sangre periférica	+Micronúcleos +Rompimiento de cadena sencilla de ADN	V <sup>5+</sup>	Rojas-Lemus <i>et al</i> 2014
Linfocitos humanos	-ACE +Asociaciones de satélite	V <sup>5+</sup>	Migliori <i>et al</i> 1993
Linfocitos humanos.	+ACE +ICH	V <sup>4+</sup>	Rodríguez-Mercado <i>et al</i> 2003
Linfocitos humanos	+Daño al ADN	V <sup>4+</sup>	Wozniak y Blanskiak 2004
Linfocitos humanos	+ ACE -ACE	V <sup>4+</sup> V <sup>3+</sup> V <sup>5+</sup>	Rodríguez-Mercado <i>et al</i> 2010
Leucocitos humanos	+Rompimientos de cadena simple  +Rompimientos de cadena doble	V <sup>5+</sup> ,V <sup>4+</sup> y V <sup>3+</sup>  V <sup>4+</sup>	Rodríguez-Mercado <i>et al</i> 2011

Tomado y modificado de Rojas-Lemus 2014. + Efecto positivo – Efecto negativo

## 4. Metabolismo

El V es capaz de entrar al organismo por diferentes vías, para posteriormente ser absorbido, sin embargo la cantidad de este metal que entra al organismo depende de la vía a la cual haya sido expuesto ya que existen reportes de que por vía oral se absorbe un 3% y (WHO 2001) mientras que por la vía inhalada 25%, (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006) además se sabe que el pulmón tiene una fase de absorción rápida durante las primeras 24 h de exposición y dos

fases de depuración con una fase rápida de 10 a 20 h a través de la orina y una más lenta de 40 a 50 días (Barceloux 1999, Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006, Fortoul *et al* 2014).

Una vez que el vanadio es absorbido puede encontrarse en estados de oxidación 3+, 4+ y 5+; sin embargo dependiendo de las condiciones del sitio en que se encuentra puede sufrir procesos de óxido-reducción. El cual es transportado a diferentes tejidos del cuerpo a través del torrente sanguíneo unido a la transferrina (90% del vanadio presente en la sangre) donde el pH neutro del plasma favorece el dominio del  $V^{5+}$ , para posteriormente entrar a la célula a través de los canales de fosfato por mecanismos de transporte aniónico y una vez dentro de la célula el  $V^{5+}$  puede reducirse a  $V^{4+}$  ( $VO^{2+}$ ) (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006) el cual tiene preferencia a unirse a los grupos fosfato (61%), proteínas (29%), el 1% queda libre y el restante a radicales sulfhídrico o vitaminas entre otras moléculas (Mukherjee *et al* 2004, Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006).

Entre los órganos en los cuales se acumula el vanadio destacan los huesos y dientes (25%), el hígado (5%), el riñón (4%), el testículo (0.2%) y el bazo (0.1%). También ha sido detectado en pulmón, corazón, tiroides, cerebro y musculo donde se acumula en menor cantidad (Harris *et al* 1984, Sakurai 1994, Altamirano-Lozano *et al* 2014)



## 5. Tetróxido de vanadio y trióxido de vanadio

### 5.1. Características

El tetróxido de vanadio ( $V_2O_4$ ) es un polvo azul-negro que se usa para catalizar varias reacciones a temperaturas elevadas, es muy irritante, se funde a  $1976^\circ C$  y es poco soluble a insoluble en agua, pero soluble en ácidos y bases (Rodríguez-Mercado *et al* 2010, 2011).

El trióxido de vanadio ( $V_2O_3$ ), se funde a  $1970^\circ C$ , es una sal de color negro que al contacto con el aire se cristaliza de manera gradual adquiriendo tonos indigo-azulados formando tetróxido de vanadio y se descompone al calentarla produciendo humos muy tóxicos, es soluble en agua caliente, ácido nítrico y bases (Rodríguez-Mercado *et al* 2010, 2011).

### 5.2. Genotóxicidad

En un estudio realizado *in vitro* en el 2003 Rodríguez-Mercado *et al* evaluaron la genotóxicidad del  $V_2O_4$  en linfocitos humanos al exponerlos a concentraciones de 2, 4, 8 y 16  $\mu g/ml$  encontrando que el compuesto inhibe la proliferación celular e incrementa la frecuencia de ACE y de los ICH, con lo que concluyeron que el  $V_2O_4$  es capaz de inducir efectos citotóxicos, citostáticos y daño a los cromosomas.

No hay datos de  $V^{3+}$  *in vivo* relacionados con el daño en los cromosomas pero de manera *in vitro* se tiene que Rodríguez-Mercado *et al* en el 2011 evaluaron la capacidad que tienen tres óxidos de vanadio trióxido, tetróxido y pentóxido de vanadio (3+, 4+ y 5+) para inducir daño al ADN y a los procesos de reparación, utilizando leucocitos mediante el ensayo cometa, los resultados que ellos obtuvieron fue que los tres óxidos de vanadio producen rompimientos de cadena simple del ADN en todas las concentraciones probadas (1,2,4,8  $\mu g/ml$ ), además encontraron que el ( $V^{4+}$ ) induce rompimientos de cadena doble.

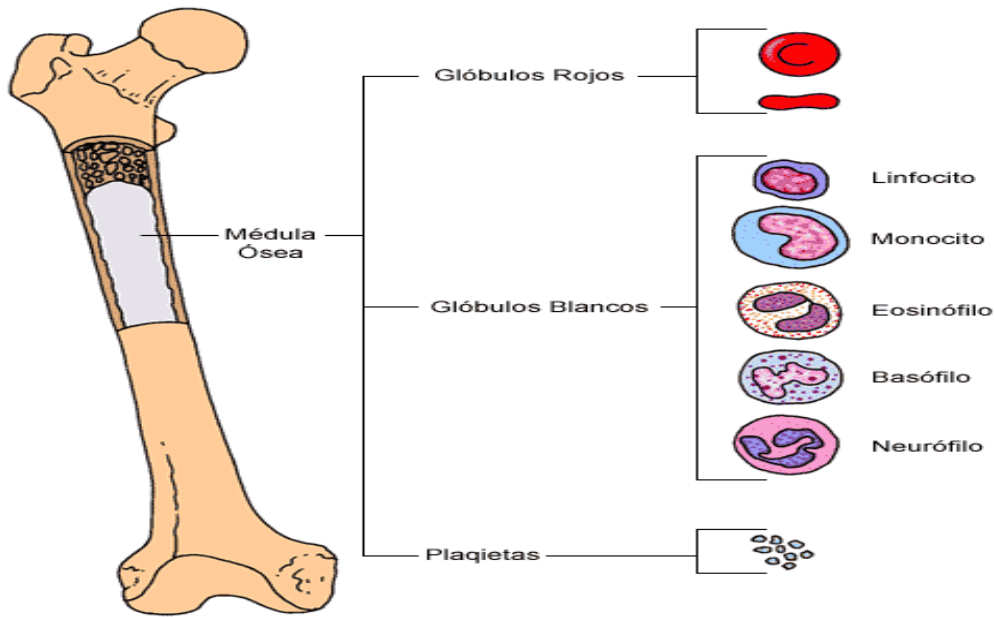
## 6. El ratón como sistema de prueba

Los ratones son rutinariamente utilizados como modelos *in vivo* en distintas áreas de la investigación, la del cáncer, inmunología, toxicología, biología del desarrollo y otras. Estos roedores han sido seleccionados debido a las múltiples ventajas que presentan; por ejemplo son de tamaño pequeño, relativamente económicos, fáciles de reproducir, almacenar y alimentar. Alcanza la madures sexual en poco tiempo, sus camadas son numerosas, tienen un periodo de gestación corto, con lo cual lo hacen un perfecto modelo de prueba para la reproducción, además está caracterizado genéticamente y muchas de las enfermedades que afectan a los humanos también afectan a los ratones (Suckow *et al* 2001, OECD 2013).

De los diferentes tejidos y órganos que se pueden obtener del ratón, la médula ósea es empleada en la evaluación de efectos genotóxicos y citotóxicos que pueden inducir los agentes químicos *in vivo*.

### 6.1. Médula ósea

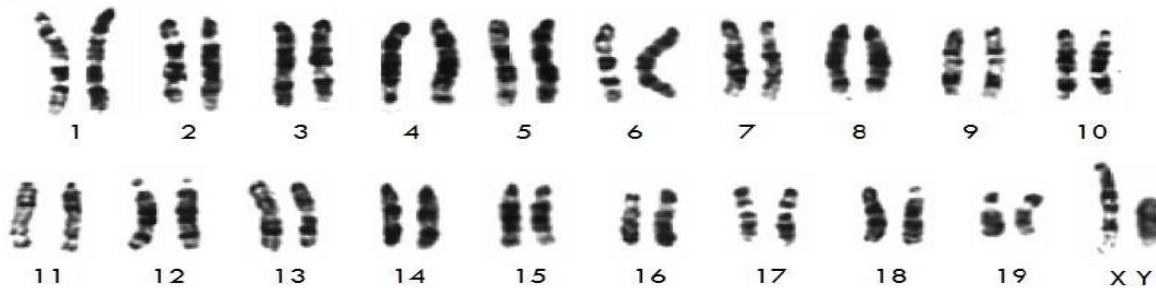
La médula ósea es un órgano altamente vascularizado, contiene poblaciones de células con metabolismo activo y una tasa de proliferación elevada, en donde las principales células que se analizan en pruebas citogenéticas son todas aquellas que tienen núcleo, entre ellos los precursores de leucocitos cuyo ciclo celular dura alrededor de 12 h (OECD 2013), característica que permite obtener células en metafase en cualquier momento para realizar ensayos de genotoxicidad como el de aberraciones cromosómicas (**Figura 2**) (Akeson y Davisson 2000).



**Figura 2.** Células de médula ósea (Tomado y modificado de Ganong, 2004).

## 6.2. El genoma del ratón

Todos los cromosomas de ratón son acrocéntricos (**figura 3**) es decir el centrómero se encuentra situado a un extremo. Su cariotipo consta de 40 cromosomas (2n) de los cuales 19 pares son autosomas y un par de cromosomas sexuales XX para la hembra (homogamético) o XY para el macho (heterogamético) (Akeson y Davisson 2000).



**Figura 3.** Cariotipo normal de ratón macho (Tomado y modificado de Akeson y Davisson 2000).

## 7. Genotóxicidad

### 7.1. Aberraciones cromosómicas

Las AC son cambios en el número normal de cromosomas de una especie, incluidos juegos cromosómicos completos o cambios en la estructura del cromosoma inducida por reordenamientos, ganancia o pérdida de un segmento, los cuales están asociados con enfermedades genéticas (Celik *et al* 2005, Singh *et al* 2007).

La fidelidad y la integridad del material genético en los organismos se mantienen debido a la intervención de diversos mecanismos de reparación de daño al ADN. Se ha observado que algunos metales inhiben los procesos de reparación del ADN mediante la inhibición de la polimerasa  $\beta$ , proteína necesaria para los procesos de reparación del daño al ADN como la reparación por escisión de bases y de nucleótidos (Mourón *et al* 2001) y al acumularse estas lesiones del ADN en las células se producen las aberraciones cromosómicas, las cuales son una herramienta importante para la evaluación del potencial genotóxico de compuestos *in vivo* y han sido recomendados por diferentes autoridades regulatorias para la evaluación de la genotóxicidad de varios compuestos químicos, fármacos y contaminantes (EPA 1986, Rojas *et al* 1992, Madrigal *et al* 2011, Rjiba-Touati *et al* 2012, OECD 2013).

## 8. Justificación

El vanadio y sus sales son ampliamente utilizadas en varios procesos industriales, entre ellos la automotriz, química y agrícola y en años recientes se ha observado que tiene efectos similares a la insulina y puede ser usado en tratamientos de la diabetes tipo 1 y 2 (Joao *et al* 2014).

Aunado a sus múltiples usos y aplicaciones el vanadio también se ha convertido en un contaminante ambiental al ser liberado al ambiente mediante la quema de combustibles, estimando que se liberan aproximadamente 110 000 ton de vanadio dentro de la atmósfera anualmente. Estos usos y constante exposición de la población en general crean interés en los efectos toxicológicos de este metal y en particular de su potencial genotóxico.

La toxicidad y genotoxicidad del vanadio está estrechamente relacionada a su forma química y aumenta a medida que incrementa el estado de oxidación siendo el  $V_2O_5$  la forma más tóxica y utilizada de vanadio, pero existen pocos trabajos sobre los efectos a nivel celular de otras sales como el tetróxido y trióxido de vanadio, por lo cual la importancia de este estudio es conocer los efectos genotóxicos de estos compuestos en un modelo *in vivo*.

## 9. Hipótesis del trabajo

Estudios previos realizados *in vitro* con tetróxido vanadio y trióxido de vanadio indican que estos compuestos tienen potencial genotóxico, además se conoce que dependiendo del estado de oxidación del metal el efecto puede variar, por lo cual si administramos tetróxido o trióxido de vanadio a ratones de la cepa CD-1 estos compuestos serán capaces de inducir ACE y modificar el IM en las células de la médula ósea.

## 10. Objetivos

### 10.1. General

Evaluar las aberraciones cromosómicas y el índice mitótico en células de médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 después de la administración aguda de tetróxido de vanadio ( $V_2O_4$ ) o trióxido de vanadio ( $V_2O_3$ ).

### 10.2. Particulares

- ✚ A partir de tratamientos agudos obtener la médula ósea de ratones tratados con tres diferentes dosis de  $V_2O_4$  o  $V_2O_3$  y cuantificar las células en metafase e interfase y calcular el índice mitótico.
- ✚ Obtener la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales en las células de médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1 tratados con el  $V_2O_4$  o  $V_2O_3$ .
- ✚ Determinar las diferencias estadísticas de los parámetros evaluados entre los grupos testigos y los tratados con óxidos de vanadio.

## 11. Material y método

### 11.1. Animales

Se utilizaron ratones macho de la cepa CD-1 de 6 a 7 semanas de edad, con un peso de entre 25-35 g, criados y mantenidos en las condiciones del bioterio de la FEZ-Zaragoza, con periodos de luz/obscuridad (12:12) y libre acceso al agua y alimento.

### 11.2. Reactivos

El tetróxido de vanadio ( $V_2O_4$ , pureza del 99.6% y CAS 1203-21-4) y trióxido de vanadio ( $V_2O_3$ , pureza 99.6% y CAS 1314-34-7) fueron adquiridos de la compañía Chemical-Aldrich, Milwaukee WI; los óxidos de vanadio fueron macerados y administrados en agua destilada. El cloruro de potasio ( $KCl \geq 99\%$ ) y cloruro de cadmio hemipentahidratado ( $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$ , pureza 79.5-81% CAS 7790-78-5) fueron adquiridos de Sigma Chemical Co. EUA; en tanto que el metanol absoluto y ácido acético glacial de JT Baker de México. El colorante Giemsa de Hycel de México.

### 11.3. Tratamiento

Los tratamientos se realizaron como se indica en el **Cuadro 4**. Las dosis del tetróxido de vanadio se seleccionaron de acuerdo a la dosis letal (150 mg/Kg) de trabajos previos realizados en el laboratorio (1/8, 1/16, 1/32 de la  $LD_{50}$ ) (Aragón y Altamirano-Lozano 2001). Para el caso del trióxido de vanadio las dosis se calcularon en base a la cantidad equivalente de vanadio contenida en el compuesto, tomando como referencia la cantidad de vanadio presente en el  $V_2O_4$ . En todos los casos el tiempo de tratamiento fue de 24 h, tratamiento agudo. Se incluyeron dos grupos testigos, el positivo que consistió en administrar una dosis de 7 mg/Kg de cloruro de cadmio ( $CdCl_2$ ) y un negativo que fue tratado con agua, todos los grupos se administraron con un volumen de 0.1 mL/10g de peso del ratón vía ip.

**Cuadro 4.** Tratamientos con vanadio. Dosis administrada y cantidad de V presente.

Tratamiento	Dosis en mg/Kg (6 ratones por dosis de cada tratamiento)	Cantidad de V (mg/Kg)
<b>Testigo negativo (agua destilada)</b>		0
<b>V<sub>2</sub>O<sub>4</sub></b>		
1/32 DL <sub>50</sub>	4.7	2.87
1/16 DL <sub>50</sub>	9.4	5.75
1/8 DL <sub>50</sub>	18.8	11.51
<b>V<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>		
		2.87
	4.22	5.75
	8.46	11.51
	16.93	
<b>Testigo positivo de CdCl<sub>2</sub></b>	7	0

DL<sub>50</sub>, Dosis letal media

#### 11.4. Obtención de las células de la médula ósea

En todos los casos, transcurridas 22 h después de la aplicación 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 por 2 h y posteriormente los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. Se retiraron ambos fémures; se cortó la epífisis diagonalmente con el fin de evitar fracturas en el fémur. Para obtener la médula ósea se introdujo en el canal femoral una jeringa que contenía 5 mL de solución hipotónica (KCl 0.075M), la médula ósea se mantuvo en tubos para centrifuga colocados en un baño de agua a 37°C durante 1 h. Posteriormente los tubos se centrifugaron, se eliminó el sobrenadante; se fijaron las células con metanol-ácido acético (3:1) por último el botón celular se goteó sobre portaobjetos limpios previamente enfriados, los cuales fueron secados con flama y teñidos con solución de Giemsa al 5% (Figura 4).



### 11.5. Evaluación

El IM se determinó de la siguiente manera:

Se contaron 8000 células por ratón, diferenciando células en metafase de células en interfase. Para calcular el índice mitótico se empleó la siguiente fórmula:

$$IM = \left( \frac{\text{Número de células en metafase}}{\text{Número total de células}} \times 100 \right)$$








Para aberraciones cromosómicas estructurales, se registraron las aberraciones encontradas en un mínimo de 100 metafases bien extendidas por ratón (600 metafases por tratamiento) siguiendo la clasificación dada por Savage 2004, donde una brecha lo consideramos como una región del cromosoma no teñida menor del ancho de la cromátida (los cuales no fueron considerados para el análisis estadístico), un rompimiento cromatídico como una región discontinua mayor al ancho de la cromátida del cromosoma que puede estar alineado o no y un fragmento como una región pequeña de la cromátida sin unión aparente al cromosoma, **cuadro 5**.

### 11.6. Análisis estadístico

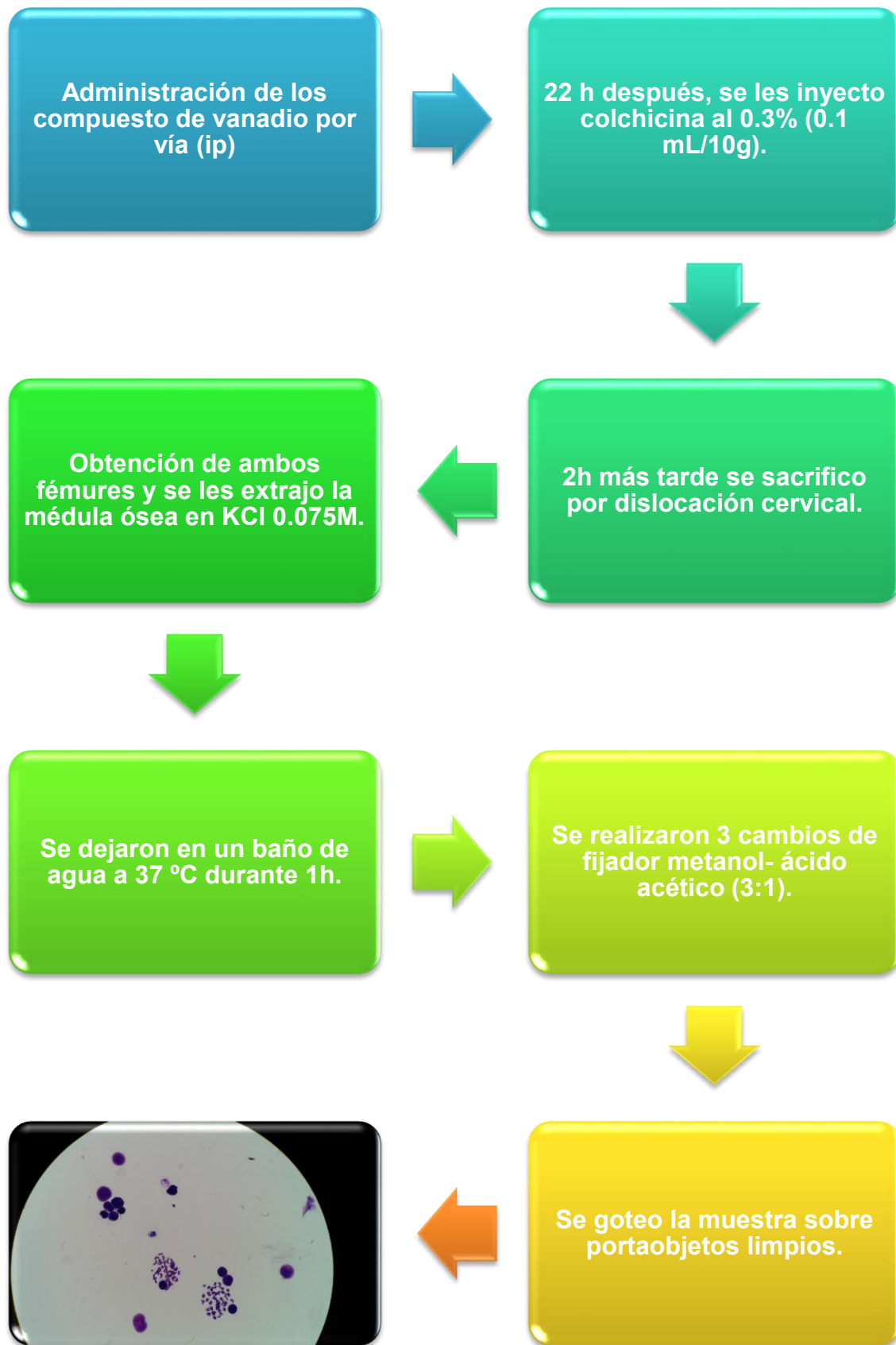
Con la finalidad de establecer si hay diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el porcentaje de células con aberraciones cromosómicas, se aplicaron las pruebas de *ANDEVA-Tukey*, mientras que para IM se aplicó la prueba *Z* para proporciones.

**Cuadro 5** .Aberraciones cromosómicas en células de médula ósea de ratón

Aberración	Figura	Descripción
Tipo cromosómico		
Brechas		Involucra a ambas cromátidas de un mismo cromosoma en el mismo lugar ( <i>loci</i> ). Región sin teñir de una anchura menor que una cromátida bien alineada.
Rompimiento		Discontinuidad en el mismo <i>locus</i> de ambas cromátidas, originando un fragmento acéntrico.
Intercambios		
Intercambio entre un cromosomas		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		Se produce por dos lesiones en el mismo cromosoma, uniéndose los extremos de ambas cromátidas, originando un fragmento acéntrico.
Intercambio dentro de una cromátida		Las partes de donde se originaron los fragmentos o minutas pueden no ser identificadas. Los anillos acéntricos son pequeños y se llaman también delecciones intersticiales.
Tipo cromátidico		
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		
Rompimiento isocromatídico		Reunión incompleta o unión hermana de los extremos rotos.
		Reunión incompleta o no unión. Los fragmentos alineados o desplazados se consideran rupturas isolocus

Intercambios		
<b>Asimétrico</b>		Se originan por rompimientos cromátidico entre distintos cromosomas, se forma un cromosoma dicéntrico y los fragmentos se unen a él, formando figuras cuadriradiales
<b>Simétrico</b>		No da lugar a la formación de cromosomas dicéntricos ni fragmentos, a menos que la unión sea completa, también es llamado cuadriradial.
<b>Asimétrico sin fragmentos</b>		Intercambio entre brazos de un mismo cromosoma.
<b>Entre brazos</b>		Formando un anillo céntrico, no hay fragmentos si la reunión es completa.
<b>Dentro de un brazo</b>		Minuta o rupturas intersticiales. El fragmento permanece asociado con el cromosoma original.
Isocromatídicos		
<b>Dicéntrico triradial</b>		Con fragmento.
<b>Monocéntrico triradia</b>		No se forman fragmentos si la unión es completa.

Modificado de Dean y Danford, 1984.



**Figura 4.** Diagrama que muestra el procedimiento para obtener las preparaciones

## 12. Resultados

### 12.1. Efecto de los compuestos de vanadio en el peso de los ratones.

En el cuadro 6 se muestran los pesos de los ratones tratados 24 h con diferentes dosis de los compuestos de V, no se observaron diferencias en el peso de los ratones después del tratamiento.

**Cuadro 6.** Efecto de los compuestos de V en el peso corporal de los ratones.

Tratamiento	Cantidad de V en mg/Kg	Peso inicial	Peso final
<b>Testigo negativo (agua destilada)</b>	0	29.88±3.19	29.06±4.53
	2.87	27.00±0.64	24.52±1.21
	5.75	26.38±1.48	24.48±2.34
	11.51	26.34±1.20	24.88±1.37
V <sub>2</sub> O <sub>4</sub> mg/kg	2.87	29.21±3.42	28.53±3.48
	5.75	28.31±2.57	27.06±3.03
	11.51	29.35±1.33	28.53±1.09
	0	28.54±1.69	25.72±2.11
<b>Testigo positivo de CdCl<sub>2</sub></b>	0	28.54±1.69	25.72±2.11

Datos expresados por la media ± desviación estándar. Seis ratones por cada dosis de cada tratamiento.

### 12.2. Efecto del V<sub>2</sub>O<sub>4</sub> sobre el IM y el porcentaje de células con ACE.

Los resultados de los índices mitóticos y el porcentaje de células con aberraciones de los ratones tratados se presentan en el **cuadro 7**, donde se observa que el índice mitótico disminuyó significativamente en todos los grupos tratados con tetróxido de vanadio **figura 5**.

**Cuadro 7. Índice mitótico (IM) y porcentaje de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) de las células de médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1, tratados 24 h con diferentes dosis de tetróxido de vanadio (V<sub>2</sub>O<sub>4</sub>).**

Tratamiento mg/kg V	Ratón	IM±DE	Frecuencia de ACE				total de ACE	Total de células con ACE y porcentaje	
			Tipo cromatídico		Tipo cromosómico			% ±DE	
			F	R	P	RC			
(testigo) 0	1	3.83± 0.83	17	0	0	0	17	10	
	2	3.81± 0.65	11	0	0	1	12	8	
	3	6.34± 0.75	10	0	0	0	10	5	
	4	4.05± 0.32	15	0	0	0	15	9	
	5	3.77± 0.72	7	1	0	0	8	6	
	6	4.20± 0.49	16	0	1	0	17	11	
			4.33± 0.99	76	1	1	1	79	49
V <sub>2</sub> O <sub>4</sub> 2.87 mg/Kg	1	1.93± 0.35	62	2	0	0	64	32	
	2	2.50± 0.57	25	1	0	0	26	14	
	3	2.52± 0.79	31	4	0	0	35	19	
	4	2.36± 0.52	12	2	0	0	14	9	
	5	2.33± 0.38	20	0	0	0	20	15	
	6	2.59± 0.66	15	1	0	0	18	12	
			2.37±0.23**	165	10	0	0	177	101
V <sub>2</sub> O <sub>4</sub> 5.75 mg/Kg	1	3.24± 0.71	26	9	4	4	43	30	
	2	3.26± 0.39	24	2	4	0	30	20	
	3	2.25± 0.39	21	12	1	0	34	25	
	4	3.72± 0.75	21	9	0	0	30	23	
	5	3.18± 0.58	20	3	0	0	23	14	
	6	2.45± 0.43	25	3	0	0	28	16	
			3.02 ±0.55**	137	38	9	4	188	128
V <sub>2</sub> O <sub>4</sub> 11.51 mg/Kg	1	2.84± 0.55	19	7	0	1	27	20	
	2	2.61± 0.40	7	4	0	1	12	9	
	3	3.26± 0.66	32	9	1	0	42	27	
	4	3.68± 1.08	13	14	0	0	28	25	
	5	2.55± 0.88	31	8	0	0	39	26	
	6	2.09± 0.28	21	3	0	0	24	17	
			2.84± 0.56**	123	45	1	2	172	124
CdCl <sub>2</sub>	1	3.31± 0.86	20	5	0	2	27	19	
	2	3.00± 0.64	9	9	0	0	18	13	
	3	2.50± 0.40	19	21	3	3	46	35	
	4	2.33± 0.31	9	5	0	0	14	12	
	5	2.69± 0.30	11	3	0	0	15	11	
	6	2.55± 0.46	12	5	0	0	17	13	
			2.73± 0.36	80	48	3	5	137	103

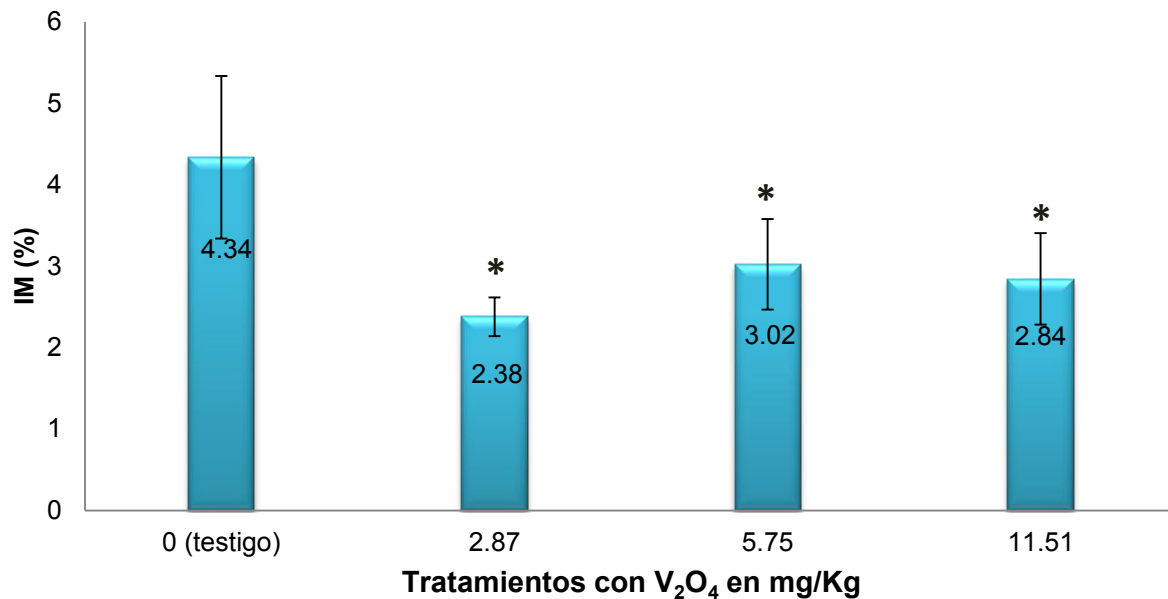
Para ACE se analizaron en promedio 100 células por ratón, 600 por grupo.

DE, Desviación estándar; F, Fragmento; R, Rompimiento; P, Pulverización; RC, Rompimiento cromosómico.

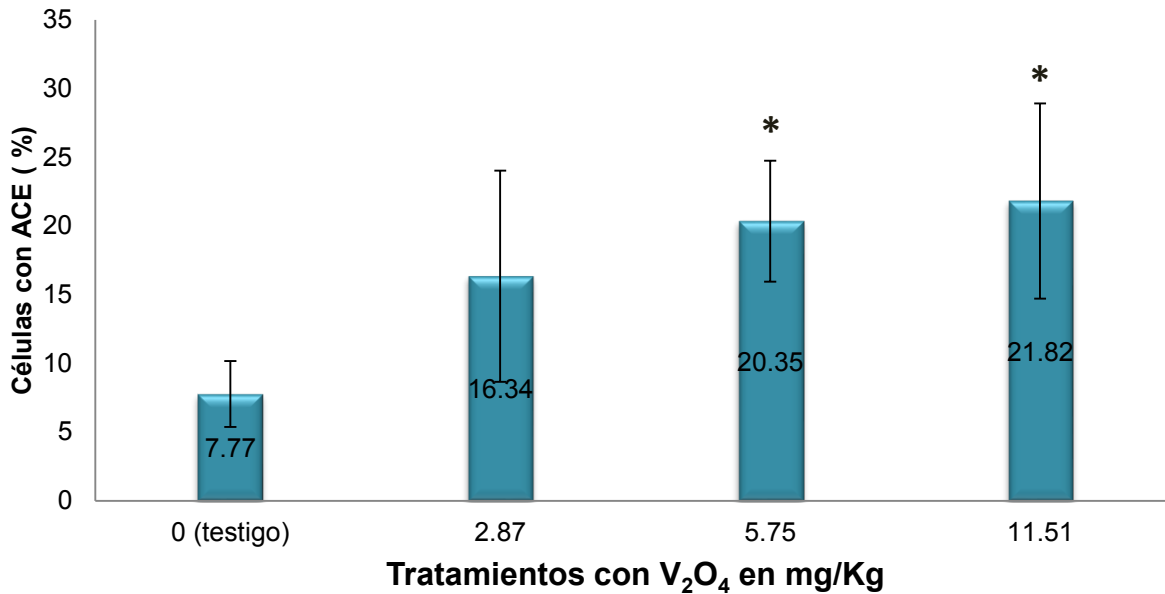
\*\*P<0.05 comparado con el grupo testigo, mediante Z de proporciones.

\*P<0.05 comparado con el testigo utilizando ANOVA – Tukey.

Con respecto al porcentaje de células con ACE (gaps excluidos) **figura 6**, se puede observar que todos los ratones tratados con tetróxido de vanadio presentaron un incremento en el porcentaje de células con ACE, donde solo las dosis de 5.75 mg/kg y 11.51 fueron significativas. Cabe señalar que la primera dosis presento el doble de células con ACE y las siguiente dosis casi tres veces. La administración de tetróxido de vanadio disminuyó el IM e incremento el porcentaje de células con ACE, los fragmentos fueron los más frecuentes.



**Figura 5.** Efecto del tetróxido de Vanadio sobre el IM en células de médula ósea de ratón macho CD-1. Los datos están representados por la media  $\pm$  DE de los seis ratones (\* $P < 0.05$  respecto al grupo testigo, Z de proporciones).



**Figura 6.** Porcentaje de células de médula ósea con ACE en los ratones tratados con tetróxido de vanadio. Los datos están representados por la media  $\pm$  DE de los seis ratones (\*P < 0.05 respecto al grupo testigo, ANDEVA-Tukey).

#### 12.4. Efecto del $V_2O_3$ sobre el IM y el porcentaje de células con ACE.

Los resultados de los grupos tratados con este compuesto, se muestran en el **cuadro 8**, donde se observa que el índice mitótico disminuyó significativamente en todos los grupos tratados **figura 7**.

Con respecto al porcentaje de células con ACE (gaps excluidos) **figura 8**, se puede observar que todos los ratones tratados con trióxido de vanadio presentaron incremento estadísticamente significativo, donde todas las dosis presentan casi el triple de células con ACE con respecto al grupo testigo.

Los fragmentos también fueron el tipo de aberración cromátidica más frecuente. De igual manera la administración de trióxido de vanadio disminuyó el IM e incremento el porcentaje de células con ACE. Algunas fotografías de las ACE observadas en este trabajo se muestran en la **figura 11**.



Cuadro 8. Índice mitótico (IM) y porcentaje de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) de las células de médula ósea de ratones macho de la cepa CD-1, tratados 24h con diferentes dosis de trióxido de vanadio ( $V_2O_3$ ).

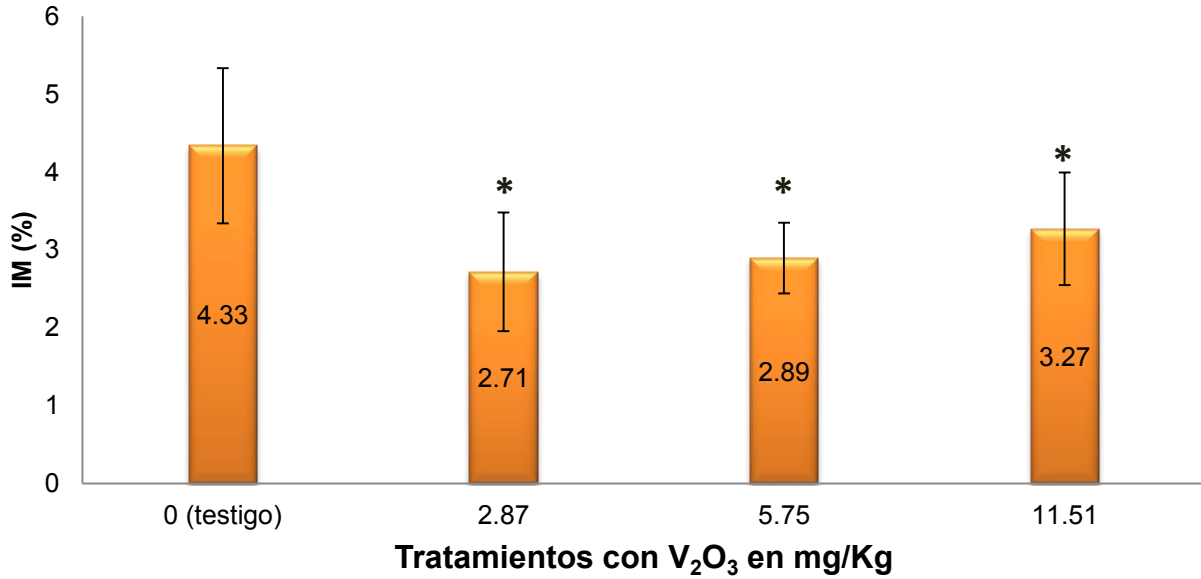
Tratamiento	Ratón (n)	IM±DE	Frecuencia de ACE				total de ACE	Total de células con ACE y porcentaje	
			Tipo cromatídico			Tipo cromosómico		% ±DE	
			F	R	P	RC			
(testigo) 0	1	3.83± 0.83	17	0	0	0	17	10	7.77± 2.39
	2	3.81± 0.65	11	0	0	1	12	8	
	3	6.34± 0.75	10	0	0	0	10	5	
	4	4.05± 0.32	15	0	0	0	15	9	
	5	3.77± 0.72	7	1	0	0	8	6	
	6	4.20± 0.49	16	0	1	0	17	11	
			4.33± 0.99	76	1	1	1	79	
$V_2O_3$ 2.87 mg/kg	1	2.57± 0.62	11	5	0	0	16	16	18.35±7.17*
	2	3.22± 0.41	28	8	4	1	41	30	
	3	3.88± 1.02	19	6	0	0	25	19	
	4	1.87± 0.43	31	11	0	0	42	31	
	5	1.96± 0.38	10	9	0	0	19	14	
	6	2.79± 0.49	11	6	0	0	17	13	
			2.71± 0.76**	110	45	4	1	160	
$V_2O_3$ 5.75 mg/kg	1	2.98± 0.64	46	10	0	0	56	30	19.40±3.66*
	2	3.57± 0.55	15	11	1	7	35	25	
	3	2.75± 0.65	24	4	0	0	28	19	
	4	2.83± .55	8	6	0	0	14	12	
	5	3.05± 0.52	14	11	0	0	25	21	
	6	2.18± 0.33	37	2	1	0	40	21	
			2.89±0.45**	144	44	2	7	198	
$V_2O_3$ 11.51mg/kg	1	3.26± 0.41	42	6	0	0	48	28	22.78±5.59*
	2	3.71± 0.74	28	15	0	0	43	26	
	3	4.14± 0.57	34	7	0	0	41	26	
	4	3.68± 0.39	14	7	0	0	21	13	
	5	2.45± 0.40	28	14	0	0	42	28	
	6	2.36± 0.35	38	3	0	0	42	26	
			3.27± 0.72**	184	52	0	0	237	
CdCl <sub>2</sub>	1	3.31± 0.86	20	5	0	2	27	19	16.01±7.52
	2	3.00± 0.64	9	9	0	0	18	13	
	3	2.50± 0.40	19	21	3	3	46	35	
	4	2.33± 0.31	9	5	0	0	14	12	
	5	2.69± 0.30	11	3	0	0	15	11	
	6	2.55± 0.46	12	5	0	0	17	13	
			2.73± 0.36	80	48	3	5	137	

Para ACE se analizaron en promedio 100 células por ratón 600 por grupo.

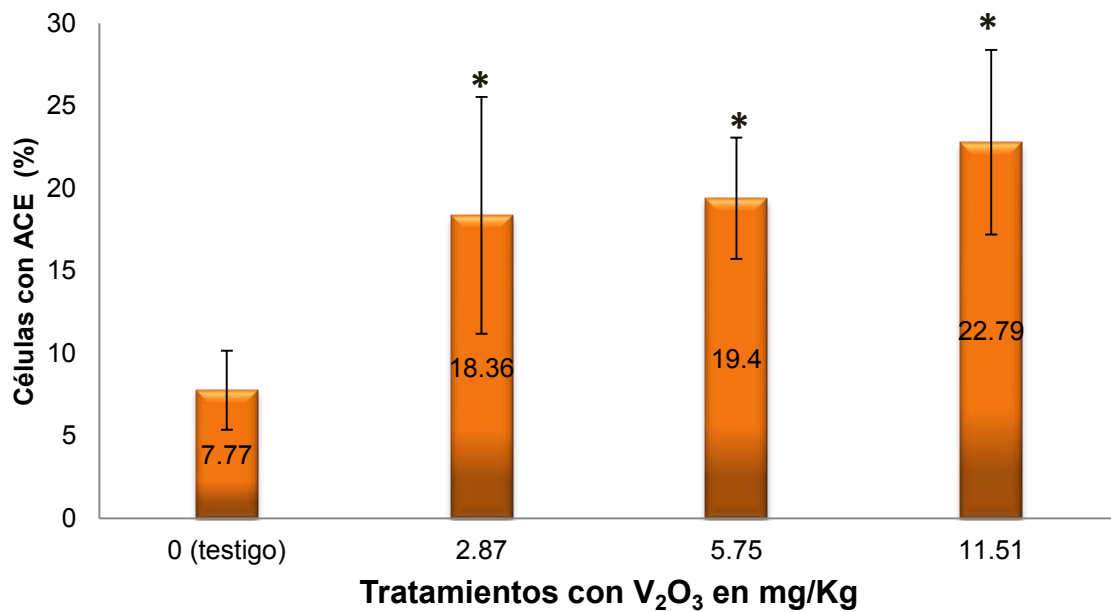
DE, Desviación estándar; F, Fragmento; R, Rompimiento; P, Pulverización; RC, Rompimiento cromosómico.

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

\*P<0.05 comparado con el testigo utilizando ANOVA–Tukey.

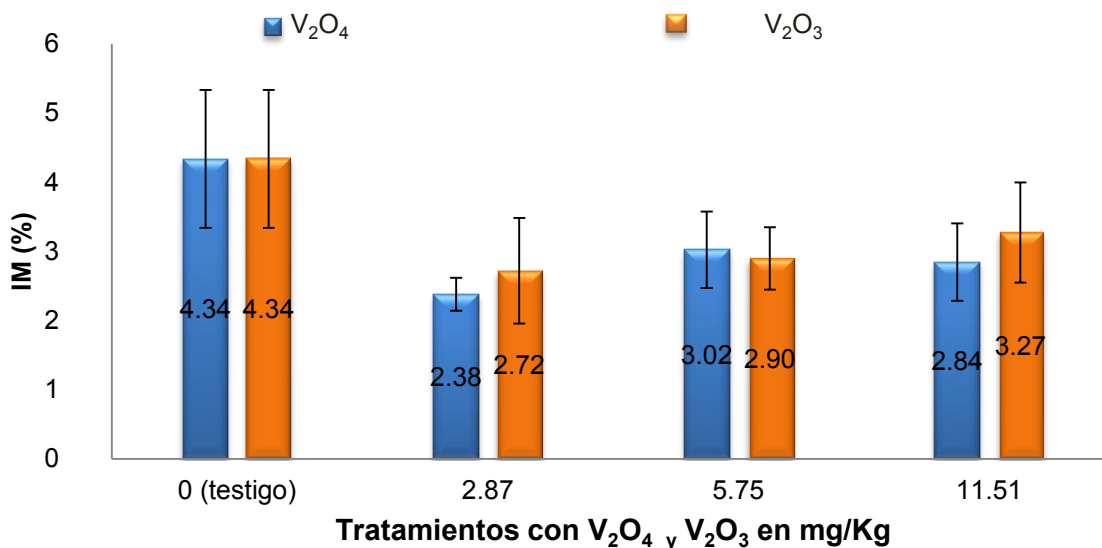


**Figura 7.** Efecto del trióxido de vanadio sobre el IM en células de médula ósea de ratón macho CD-1. Los datos están representados por la media  $\pm$ DE de los seis ratones (\* $P < 0.05$  respecto al grupo testigo, Z para proporciones).

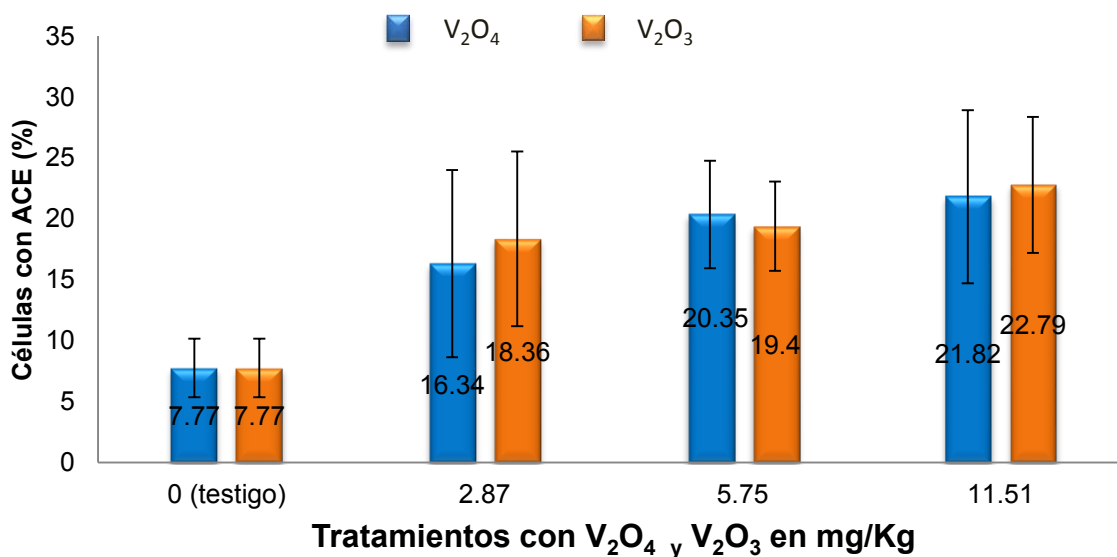


**Figura 8.** Porcentaje de células de médula ósea con ACE, en los ratones tratados con trióxido de vanadio. Los datos están representados por la media  $\pm$  DE de los seis ratones (\* $P < 0.05$  respecto al grupo testigo, ANDEVA-Tukey).

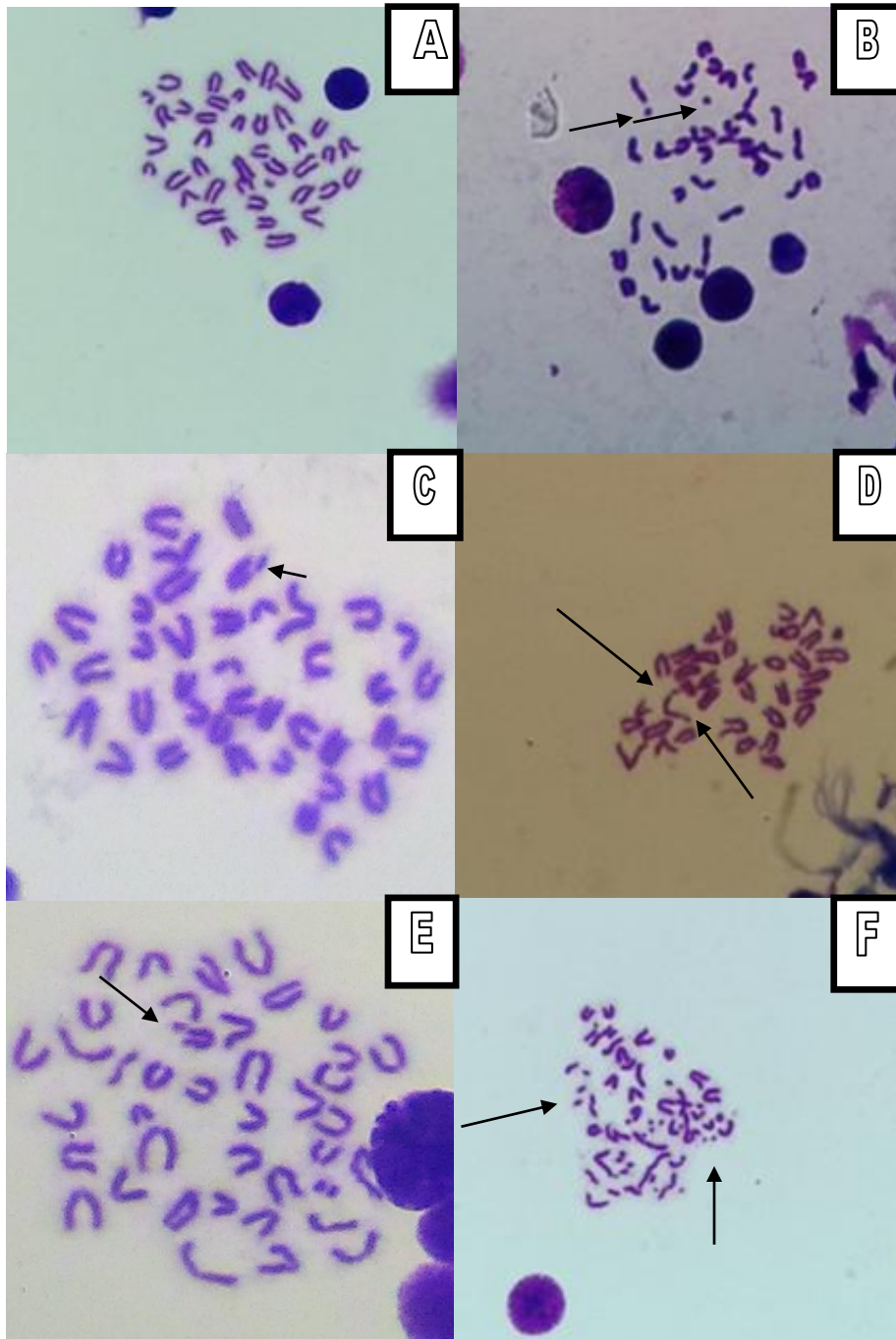
Al comparar los efectos entre los dos óxidos de vanadio se puede observar que no hay diferencias en el porcentaje de IM (**Figura 9**) e inducción de células con ACE (**Figura 10**).



**Figura 9** . Efecto del trióxido y tetraóxido de vanadio 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 testigo, Z para proporciones).



**Figura 10**. Porcentaje de células de médula ósea con ACE, inducidas por trióxido y tetraóxido de vanadio. Los datos están representados por la media  $\pm$  DE de los seis ratones.



**Figura 11.** Micrografía a 1000x de células en metafase de médula ósea de ratones macho CD-1. En A cariotipo normal, de B a D tratados con tetróxido de vanadio, en E con trióxido de vanadio y en F con  $\text{CdCl}_2$ . B) Fragmento, C y E), Rompimiento cromatídico, D) Rompimiento cromosómico, F) Pulverización (con más de 10 rupturas).

## 13. Discusión

Los metales han sido un elemento indispensable en el desarrollo tecnológico, incluso en la actualidad algunos de estos elementos, como el vanadio han adquirido especial interés farmacológico y nutrimental para los seres humanos por lo que diversas investigaciones se han enfocado para utilizarlo en el tratamiento de la diabetes, del cáncer y para mejorar el rendimiento físico en atletas y como anticonceptivo vaginal (Aragón *et al* 2005, Joao *et al* 2014).

La constante exposición a los compuestos de vanadio crea el interés de conocer los posibles efectos genotóxicos que este metal provoca.

### 13.1. Efecto del $V_2O_4$ y $V_2O_3$ 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).

Los resultados en este trabajo muestran que no hay diferencias en el peso de los animales después de administrar vía ip  $V_2O_4$  o  $V_2O_3$ , estos datos coinciden con los obtenidos por Aragón y Altamirano-Lozano en el 2001 donde aplicaron las mismas dosis de tetróxido de vanadio, vía ip cada dos días durante 60 días a ratones macho CD-1 y observaron que no se modificó el peso de los animales.

Sin embargo, se ha visto que cuando se administra ortovanadato de sodio ( $Na_3VO_4$ ) a ratones macho CD-1 de manera oral por 5 semanas en concentraciones de 7.5, 75, 750 y 1500 mg/L se observa reducción en el peso de los ratones (Leopardi *et al* 2005).

Con lo anterior podemos decir que el efecto del vanadio sobre el peso de los ratones dependerá de la duración del tratamiento, de la ruta de administración y el estado de oxidación en los compuestos aplicados.

### 13.2. Efecto del $V_2O_4$ y $V_2O_3$ sobre el IM.

El IM nos permite determinar si existen alteraciones en la progresión del ciclo celular (Clare y Clements 2001). La disminución en él puede deberse a varios efectos tales como, que alguna de las fases del ciclo celular tarde más tiempo, retrasando así a las demás etapas, que el compuesto a evaluar actué como inhibidor del huso mitótico o que se provoque la pérdida permanente de la capacidad proliferativa de las células por daños irreversibles sobre estas, lo que finalmente puede ocasionar muerte celular (Scott *et al* 1990, Danford 2012).

En este trabajo la administración vía ip  $V_2O_4$  o  $V_2O_3$  en ratones CD-1 reduce significativamente el IM en todas las dosis probadas, este es el primer estudio en el cual se evalúan los efectos citotóxicos *in vivo*, pero de manera *in vitro* Rodríguez-Mercado *et al* en el 2003 reportaron efectos similares en cultivos de linfocitos humanos expuestos a  $V_2O_4$  posteriormente en el 2010 utilizando el mismo modelo encontraron disminución significativa del IM después de la exposición a  $V^{3+}$   $V^{4+}$  y  $V^{5+}$  en las concentraciones de 1, 2, 4 y 8  $\mu\text{g/mL}$ . Estos efectos también fueron observados en otros estudios en donde los mismos compuestos aminoran el IM en células de ovario de hámster chino (CHO) y células V79 (Owusu- Yaw *et al* 1990, Zhang *et al* 1994).

Con respecto al estado de oxidación (3+) se ha visto que dependiendo de la concentración de vanadio sus efectos pueden variar esto en base a un estudio realizado en cultivos de linfocitos humanos, en donde la exposición a 0.5  $\mu\text{g/mL}$  de  $V_2O_3$  no induce citotoxicidad, sin embargo en concentraciones de 16 y 32  $\mu\text{g/mL}$  fueron altamente tóxicas al reducir el IM en aproximadamente 50% con respecto al control (Rodríguez-Mercado *et al* 2010).

Además se cuenta con reportes de otros compuestos de vanadio, principalmente en estado de oxidación 5+, como el realizado por Giri *et al*, 1979 en donde la administración oral de 4 mg/kg de  $V_2O_5$  a ratas durante 21 días disminuye el IM.

Los efectos observados en el IM de las células de la médula ósea de los roedores tratados con los dos óxidos de vanadio y los efectos reportados en la literatura tanto *in vivo* como *in vitro*, pueden deberse a que el vanadio es capaz de interferir con la actividad de varias ATPasas dependientes de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$ , y  $\text{Ca}^+$  y con la actividad de factores de transcripción e inhibir señales de proliferación y crecimiento celular mediante proteínas MAPK, todo lo anterior puede disminuir el IM o producir muerte celular por apoptosis (Aragón *et al* 2005, Mateos-Nava 2012, Rodríguez-Mercado *et al* 2010).

Por otro lado al comparar los resultados del porcentaje de IM entre  $\text{V}_2\text{O}_4$  o  $\text{V}_2\text{O}_3$  no se observaron diferencias entre ambos compuestos de vanadio.

Por lo cual se puede mencionar que el  $\text{V}_2\text{O}_4$  o  $\text{V}_2\text{O}_3$  tienen efectos citotóxicos ya que disminuye el IM de las células de la médula ósea de los ratones tratados.

### 13.3. Efecto de los compuestos de vanadio sobre el porcentaje de células con ACE.

El ensayo de aberraciones cromosómicas en roedores ha sido ampliamente utilizado para detectar la genotoxicidad *in vivo*, además de que es recomendado por las agencias reguladoras para la evaluación de nuevos fármacos o sustancias utilizadas en la industria o contaminantes (EPA 1986, MAK 2008, OECD 2013).

Las ACE son empleadas para evaluar la genotoxicidad, específicamente son indicadores de efecto clastógeno. Las de tipo cromatídico son generadas por daño al material genético y por errores en la reparación del ADN en la etapa final de la fase de S y en la fase  $G_2$  del ciclo celular (Natarajan 1993, El-Habit *et al* 2014), en tanto que las del tipo cromosómico son inducidas generalmente en  $G_1$  y en algunos casos al inicio de S (Dean y Danford 1984), en este estudio los dos óxidos de vanadio son capaces de inducir aberraciones estructurales, para el  $\text{V}_2\text{O}_4$  el efecto es significativo en la dosis media y alta y para el caso del  $\text{V}_2\text{O}_3$ , en todas las dosis, el tipo de daño más frecuente fueron del tipo cromatídico, principalmente fragmentos y rompimientos.

En este trabajo al realizar el análisis de las ACE no se incluyeron las brechas debido a que algunos autores consideran que las estas pueden ser inconsistencias en la técnica o regiones que no se tiñen por el grado de compactación de la cromatina (Savage 2004).

Los resultados obtenidos con el  $V_2O_4$  son consistentes con otro reporte en donde emplearon al ratón como modelo de prueba para evaluar la genotoxicidad de tres sales de vanadio, en el cual encontraron que solo el  $SVO_5$ , un metal que tiene el mismo estado de oxidación que el  $V_2O_4$  (4+) incremento significativamente el porcentaje de ACE mientras que el  $Na_3VO_4$  y  $NH_4VO_3$  incrementaron el porcentaje de ACN y MN en las células de la médula ósea (Ciranni *et al* 1995), de tal manera que el  $V_4+$  mostro efecto clastogénico y las otras sales aneuploidógeno.

En el 2003 Rodríguez-Mercado encontró aumento en la frecuencia de ICH y porcentaje de células con ACE en linfocitos humanos al tratarlos con  $V_2O_4$  (4+). Después en el 2010 utilizando el mismo modelo al exponerlo a  $V_2O_5$ ,  $V_2O_4$  y  $V_2O_3$ , (5+, 4+ y 3+) encontraron que solo el  $V_2O_4$  incremento significativamente el porcentaje de ACE.

Posteriormente en el 2011 observaron que los tres óxidos inducen daño primario al ADN, produciendo rompimientos de cadena simple en linfocitos humanos en todas las concentraciones probadas (1, 2, 4, 8  $\mu g/mL$ ) y el  $V_2O_4$  fue el único que incrementó significativamente el porcentaje de rompimientos de cadena doble del ADN, sugirieron que este tipo de lesiones están relacionadas con la formación de ACE (Natarajan 1993, Rodríguez-Mercado *et al* 2011) por lo que los resultados obtenidos en este trabajo confirman que el  $V_2O_4$  produce efectos clastogénicos.

Con respecto al  $V_2O_3$  son pocos los estudios realizados en donde se evalué su potencial genotóxico, Owusu- Yaw *et al* 1990, observo que este compuesto incremento la frecuencia de ACE en células de hámster Chino (CHO), por otra parte Rodríguez-Mercado en el 2010 y 2011 de manera *in vitro* encontró rompimientos de cadena simple pero no de cadena doble ni ACE, sin embargo en este estudio se observaron ACE *in vivo* para este compuesto.



Entre los posibles mecanismos que expliquen el incremento de las ACE observado en este estudio, se encuentra la capacidad del vanadio de interactuar con el ADN específicamente N-7 de la guanina y adenina o los grupos fosfato, así como la formación de especies reactivas de oxígeno y radicales libres en los sistemas biológicos a través de reacciones de tipo Fenton las cuales en conjunto pueden estar alterando la integridad del cromosoma (Sakurai 1994, Galanis *et al* 2008, Rodríguez-Mercado *et al* 2010).

Cabe destacar que además de la genotoxicidad, es conocido que el vanadio puede inhibir las proteínas tirosina fosfatasas, afectando a las vías de transducción de señales y la respuesta de reparación al daño celular del ADN dependiendo del nivel de dosis (Mateos-Nava 2012).

Por ultimo no hay diferencias en el porcentaje de inducción de ACE entre los dos óxidos de vanadio probados en este estudio y aunque no se conoce bien la biocinética del  $V^{3+}$  estos resultados pueden deberse a que el oxígeno presente en la sangre oxide de  $3+$  a  $4+$  y parte permanezca como  $V^{3+}$  unido a diferentes ligandos (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006) y estemos observando el efecto ambos compuestos.

## 14. Conclusiones

Los resultados de este trabajo establecen que ambos compuestos de vanadio aplicados vía ip, de manera aguda, a ratones macho de la cepa CD-1, disminuye el IM, es decir alteran el proceso normal de división celular, además producen incremento del número de células con ACE, estableciéndolos como agentes que inducen toxicidad celular, además de efectos genotóxicos provocados principalmente por actividad clastogénica.

## 15. Referencias

**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.

**Altamirano-Lozano M A, Álvarez-Barrera L , Mateos-Nava R A, Fortoul T I, Rodríguez-Mercado J J**, 2014. Potential for genotoxic and reprotoxic effects of vanadium compounds due to occupational and environmental exposures: An article based on a presentation at the 8th international Symposium on Vanadium Chemistry, Biological Chemistry, and Toxicology, Washington DC, August 15-18, 2012. *J immunotoxicol* 11:19-27.

**Altamirano-Lozano M, Álvarez-Barrera L, Basurto-Alcantara F, Valverde M, Rojas E**, 1996. Reprotoxic and genotoxic studies of vanadium pentoxide in male mice. *Teratog Carcinog Mutagen* 16:7–17.

**Aragón M A, Altamirano-Lozano M A**, 2001. Sperm and testicular modifications induced by subchronic treatments with vanadium (IV) in CD-1 mice. *Reprod Toxicol* 15:145-151.

**Aragón M A, Ayala M E, Fortoul T I, Bizarro P, Altamirano-Lozano M A**, 2005. Vanadium induced ultrastructural changes and apoptosis in male germ cells. *Reprod Toxicol* 20:127- 34.

**ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry)**, 2012. Toxicological profile for vanadium. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, Georgia.

**Barceloux D G**, 1999. Vanadium. *Clin toxicol* 37: 265-278.

**Celik A, Comelekoglu U, Yalin S**, 2005. A study on the investigation of cadmium chloride genotoxicity in rat bone marrow using micronucleus test and chromosome aberration analysis. *Toxicol Ind Salud* 21:243-248.

**Ciranni R, Antonetti M, Migliore L**, 1995. Vanadium salts induced cytogenetic effects in in vitro treated mice. *Mutat Res* 343:53-60.

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

**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.

**De la Torre A, Granero S, Mayayo E, Corbella J, Domingo J L**, 1999. Effect of age on vanadium nephrotoxicity in rats. *Toxicology letters* 105:75-82.

**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.

**Ehrlich V A, Nersesyan A K, Atefiel K, Hoelzl C, Ferk F, Bichler J, Valic E, Schaffer A, Schulte-Hermann R, Fenech M, Wagner K H, Knasmüller S**, 2008. Inhalative exposure to vanadium pentoxide causes DNA damage in workers: results of a multiple end point study. *Environ Health Perspect* 116:1689-93.

**El-Habit O H, Abdel-Moneim A E**, 2014. Testing the genotoxicity, cytotoxicity, and oxidative stress of cadmium and nickel and their additive effect in male mice. *Biol Trace Elem Res* 159:364-72.

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

**Fahmy M A, Aly F A E**, 2000. In vivo and in vitro studies on the genotoxicity of cadmium chloride in mice. *J Appl Toxicol* 20:231-238.

**Fortoul T I, Quan-torres A, Sanchez I, Lopez I E, Bizarro P, Mendoza M L, Saldivar L, Espejel-Maya G, Ávila-Casado M C, Ávila-Costa M R, Colín B L, Navarro V D, Olaiz-Fernández G**, 2002. Vanadium in ambient air: concentrations

in lung tissue from autopsies of México City residents in the 1960s and 1990s. *Arch Environ Health* 57:446-449.

**Fortoul T I, Rojas-Lemus M, Rodriguez-Lara V, González-Villalva A, Ustarroz-Cano M, Cano-Gutiérrez G, González-Rendon S E, Montaña L F, Altamirano-Lozano M**, 2014. Overview of environmental and occupational vanadium exposure and associated health outcomes: An article based on a presentation at the 8th International Symposium on Vanadium Chemistry, Biological Chemistry, and Toxicology, Washington DC, August 15-18, 2012. *J Immunotoxicol* 11:13-8.

**Galanis A, Karapetsas A, Sandaltzopoulos R**, 2008. Metal-induced carcinogenesis, oxidative stress and hypoxia signaling. *Mutat Res* 674:31-35.

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

**Gateva S, Jovtchev G, Stergios M**, 2013. Cytotoxic and clastogenic activity of CdCl<sub>2</sub> in human lymphocytes from different donors. *Environ Toxicol Pharmacol* 36:223-30.

**Giri A K, Sanyal A, Sharma G, Talukder**, 1979. Cytological and cytochemical changes induced through certain heavy metals in mammalian systems, *Natl Acad Sci Lett* 2:391-394.

**Gutiérrez-Castillo M E, Roubicek D A, Cebrian-Garcia M E, De Viscaya-Ruiz A, Sordo-Cedeño M, Ostrosky-Wegman P**, 2006. Effect of chemical composition on the induction of DNA damage by urban airborne particulate matter. *Environ Mol Mutagen* 47:199-211.

**Harris W R, Friedman S B, Silberman D**, 1984. Behavior of vanadate and vanadyl ion in canine blood. *J Inorg Biochem* 20:157-69.

**Hernández P F, Valverde M, Rojas E**, 2009. Los metales como inhibidores del sistema de reparación del ADN. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas* 12:74-82.

**IARC** (International Agency for Research on Cancer), 2006. Monograph Cobalt in Hard Metals and Cobalt Sulfate, Gallium Arsenide, Indium Phosphide and Vanadium Pentoxide Series. Lyon, France, Vol.86, 227-292.

**Imtiaz M, Rizwan M S, Xiong S, Li H, Ashraf M, Shahzad S M, Shahzad M, Rizwan M, Tu S**, 2015. Vanadium, recent advancements and research prospects: A review. *Environ Int* 80:79-88.

**IPCS**, International Programme on Chemical Safety, 1988. Environmental Health Criteria. Vol .81 Geneva: World Health Organization.

**Ivancsits S, Pilger A, Diem E, Schaffer A, Rüdiger H W**, 2002. Vanadate induces DNA strand breaks in cultured human fibroblasts at doses relevant to occupational exposure. *Mutat Res* 519:25-35.

**Joao C P, Susana E, Dinorah G**, 2014. Vanadium compounds in medicine. *Coord Chem Rev* 301:24-48.

**Kulova T L, Skundin A M, Balakhonov S B, Semenenko D A, Pomerantseva E A, Veresov A G, Goodilin E A, Churagulov B R, Tret'yakov YuD**, 2008. Study of electrochemical lithium incorporation to whisker structure based on barium-vanadium bronze  $BaV_8O_{21-\delta}$ . *Prot Met* 44:39-42.

**Leonard A, Gerber G B**, 1994. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of vanadium compounds. *Mutat Res* 317:81–88.

**Leopardi P, Villani P, Cordelli E, Siniscalchi E, Veschetti E, Crebelli R**, 2005. Assessment of the *in vivo* genotoxicity of vanadate: Analysis of micronuclei and DNA damage induced in mice by oral exposure. *Toxicol Lett* 158:39-49.

**Louise A F, Agneta O**, 2015. Vanadium en Handbook on the toxicology of metals. Nordberg F, Fowler B, Nordberg M, Friberg L, eds. Academic Press Inc, pp 1347-1367.

**Madrigal B E, Garcia C, Álvarez G I**, 2011. Chromosomal aberrations induced by imipramine and desipramine in mouse. *Hum Exp toxicol* 4:297-302.

**Mailhes J B, Hilliard C, Fuseler J W, London S N**, 2003. Vanadate, an inhibitor of tyrosine phosphatases, induced premature anaphase in oocytes and aneuploidy and polyploidy in mouse bone marrow cells. *Mutat Res* 538:101-7.

**MAK (Comisión Alemana para la Investigación de los Peligros para la Salud de los Compuestos Químicos en el Área de Trabajo)** en: Beyersmann D, Hartwing A, 2008. Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanism. *Arc Toxicol* 82:493-512.

**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 Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

**Migliore L, Bocciardi R, Macri C, Lo Jacono F**, 1993. Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by four vanadium compounds and micronucleus analysis by fluorescence in situ hybridization with a centromeric probe. *Mutat Res* 319:205-213.

**Mourón S A, Golijow C D, Dulout F N**, 2001. DNA damage by cadmium and arsenic salts assessed by the single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res* 498: 47-55.

**Mukherjee B, Patran B, Mahapatra S, Banerjee P, Tiwari A, Chatterjee**, 2004. Vanadium an element of atypical biological significance. *Toxicol Lett* 150:135-143.

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

**OECD** (2013) Guideline for the testing of chemical. 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](http://www.oecd.org/env/ehs/testing/Draft_TG_475_third_commenting_round_Dec_2013.pdf), fecha de consulta: 17/08/15.

**Owusu-Yaw J, Choen M D, Fernando S Y, Wei C I**, 1990. An assesment of the genotoxicity of vanadium. *Toxicol Lett* 50:327-336.

**Pennington J A T, Jones J W**, 1987. Molybdenum, nickel, cobalt, vanadium, and strontium in total diets. *J Am Diet Assoc* 87:1644–1650.

**Rjiba-Touati K, Ayed-Boussema I, Guedri Y, Achour A, Bacha H, Abid S**, 2012. Role of recombinant human erythropoietin in mitomycin C-induced genotoxicity: Analisis of DNA fragmentation, chromosome aberrations and micronuclei in rat bone-marrow cells. *Mutat Res* 753:48-53.

**Rodríguez-Mercado J J, Roldán-Reyes E, Altamirano-Lozano M**, 2003. Genotoxic effects of vanadium (IV) in human peripheral blood cells. *Toxicol Lett* 144:359–369.

**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, Alvarez-Barrera L, Altamirano-Lozano M**, 2010. Chromosomal damage induced by vanadium oxides in human peripheral lymphocytes. *Drug Chem Toxicol* 33:97–102.

**Rodríguez-Mercado J J, Mateos-Nava R A, Altamirano-Lozano M A**, 2011. DNA damage induction in human cells exposed to vanadium oxides in vitro. *Toxicol In vitro* 25:1996-2002.

**Rojas E, Valverde M, Herrera L, Altamirano-Lozano M, Ostrsky-Wegman, P**, 1996. Genotoxicity of vanadium pentoxide evaluated by the single gel electrophoresis assay in human lymphocytes. *Mutat Res* 359:77-84.

**Rojas-Lemus M, Altamirano-Lozano M A, Fortoul-T L**, 2014. Sex differences in blood genotoxic and cytotoxic effects as a consequence of vanadium inhalation: micronucleus assay evaluation. *Journal of Applied Toxicology* DOI: 10.1002/jat.2873.

**Rojas L M, 2014.** Comparación por sexo del efecto genotóxico de la administración de ácido ascórbico y anastrozol en ratones CD1 expuestos a la inhalación de vanadio. Tesis de doctorado Facultad de Medicina, UNAM.

**Sakurai H, 1994.** Vanadium distribution in rats and DNA cleavage by vanadyl complex: implication for vanadium toxicity and biological effects. *Environ Health Perspect* 102:35-36.

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

**Scior J T, Guevara J A, 2014.** La investigación del vanadio en la BUAP, Puebla, México pp17-41.

**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.

**Shi X, Jiang H, Mao Y, Ye J, Saffiotti U, 1996.** Vanadium (IV)-mediated free radical generation and related 2'-deoxyguanosine hydroxylation and DNA damage. *Toxicology* 106:27-38.

**Singh P, Chaudhary S, Patni A, Sankhla V, 2007.** Effect of cadmium chloride induced genotoxicity in bone marrow chromosomes of swiss albino mice and subsequent protective effects of *emblica officinalis* and vitamin C. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology* 1:67-71.

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

**Thompson K H, Lichter J, LeBel C, Scaife MC, McNeill JH, Orvig C, 2009.** Vanadium treatment of type 2 diabetes: a view to the future. *J Inorg Biochem* 103:554-8.



**World Health Organization (WHO)**, 2001. International Program on Chemical Safety. Concise international chemical assessment document. Vanadium Pentoxide and other inorganic vanadium compounds. WHO: Copenhagen.

**Wozniak k, Blasiak J**, 2004. Vanadyl sulfate can differentially damage DNA in human lymphocytes and HeLa cells. *Arch Toxicol* 78:7-15.

**Zhang Z, Huang C, Li Jingxia, Leonard S S, Lanciotti R, Butterworth L, Shi X**, 2001. Vanadate-Induced Cell Growth Regulation and the Role of Reactive Oxigen species. *Arch Biochem Biophys* 392:311-320.

**Zhong B Z, Gu Z W, Wallace W E, Whong W Z, Ong T**, 1994. Genotoxicity of vanadium pentoxide in Chinese hamster V79 cells. *Mutar Res* 321:35-42.

**Zwolak I**, 2014. Comparison of three different cell viability assays for evaluation of vanadyl sulphate cytotoxicity in a Chinese hamster ovary K1 cell line. *Toxicol Ind Health* doi: 10.1177/0748233714544190.