



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA EN UN MODELO DE
INHALACIÓN DE VANADIO Y CONSUMO DE BEBIDAS ALTAS EN SACAROSA.
PARTICIPACIÓN DE LA INSULINA Y EL GLUCAGON**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALBARRÁN ALONSO JUAN CARLOS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. TERESA IMELDA FORTOUL VAN DER GOES
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. VERÓNICA GUARNER LANS
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "IGNACIO CHAVEZ"

COMITÉ TUTOR: DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM

CD. MX. DICIEMBRE, 2018



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.



OFICIO CPCB/1118/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 03 de septiembre de 2018, aprobó el siguiente jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **ALBARRÁN ALONSO JUAN CARLOS** con número de cuenta **307322915**, con la tesis titulada **"ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA EN UN MODELO DE INHALACIÓN DE VANADIO Y CONSUMO DE BEBIDAS ALTAS EN SACAROSA. PARTICIPACIÓN DE LA INSULINA Y EL GLUCAGON"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. TERESA IMELDA FORTOUL VAN DER GOES**:

Presidente: DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO
Vocal: DRA. MARÍA EUGENIA GONSEBATT BONAPARTE
Secretario: DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO
Suplente: DRA. ANA MARÍA SALAZAR MARTÍNEZ
Suplente: DRA. VERÓNICA GUARNER LANS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd, Mx., a 21 de noviembre de 2018


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS

Al posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

A mi tutora

Dra. Teresa I. Fortoul van der Goes

A los miembros del comité tutor

Dra. Verónica Guarner Lans

Dr. Mario A. Altamirano Lozano

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Al comité tutor de este proyecto

Dra. Teresa I. Fortoul van der Goes

Dra. Verónica Guarner Lans

Dr. Mario Agustín Altamirano Lozano

Al comité revisor de esta tesis

Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo

Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte

Dr. Mario Agustín Altamirano Lozano

Dra. Ana María Salazar Martínez

Dra. Verónica Guarner Lans

A mi tutora, Dra Teresa I. Fortoul van der Goes

Departamento de Biología Celular y Tisular. Laboratorio de Microscopia Electrónica Facultad de Medicina UNAM. Por el apoyo constante en la toma de fotomicrografías utilizadas durante el proyecto.

Biol. Armando Zepeda Rodríguez

Técnico Académico Francisco Pasos Nájera

Laboratorio de Técnica Histológica del Departamento de Biología Celular y Tisular, Facultad de Medicina, UNAM.

Técnica Académico Raquel Guerrero Alquicira

Bioterio de la Facultad de Medicina, UNAM

Dr. Enrique Pinzón Estrada

Dr. Ismael Torres Saldaña

Dr. Víctor Manuel Salgado Alfaro

Al Dr. Gumaro Cano Gutiérrez por su apoyo en las determinaciones hormonales

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CVU 707726

Al Posgrado en Ciencias Biológicas. UNAM

Índice

Índice de figuras

Índice de gráficas

Abreviaturas

1. Resumen.....	1
1.1 Abstract	2
2. Introducción	3
2.1. Contaminación atmosférica	3
2.2. Partículas suspendidas.....	4
2.3. Vanadio	6
2.3.1. Usos.....	7
2.3.2. Vías de exposición	8
2.3.3. Toxicocinética.....	10
2.3.4. Mecanismos de daño	11
2.3.5. Daños a la salud.....	11
2.4. Ingesta de bebidas azucaradas.....	13
2.5. Regulación de la glucemia	16
3. Justificación.....	19
4. Hipótesis.....	19
5. Objetivos	20
6. Metodología	21
6.1 Modelo experimental.....	21
6.2 Registro del peso y la circunferencia abdominal.....	21
6.3 Determinación de ingesta de comida y bebida	21
6.4 Determinación de la glucemia	22
6.5 Determinación de insulina y glucagón plasmáticos	22
6.6 Curvas de tolerancia a la glucosa	22
6.7 Análisis estadístico	23
7. Resultados	24
7.1 Supervivencia	24

7.2 Registro del peso y la circunferencia abdominal	24
7.3 Ingesta de comida y bebida	26
7.4 Glucemia	27
7.5 Concentración de insulina y glucagon plasmáticos	28
7.6 Curvas de tolerancia a la glucosa	29
8. Discusión	33
8.1 Supervivencia	33
8.2 Ingesta de comida y bebida	34
8.3 Registro del peso y la circunferencia abdominal	36
8.4 Glucemia	37
8.5 Concentración de insulina y glucagón plasmáticos.....	38
8.6 Curvas de tolerancia a la glucosa y diferencia en la absorción	40
9. Conclusión	41
10. Perspectivas	42
11. Literatura citada	43

Índice de figuras

Figura 1. Promedio anual de la concentración de partículas PM_{10} en la Ciudad de México de 1988 a 2018	5
Figura 2. Promedio anual de la concentración de partículas $PM_{2.5}$ en la Ciudad de México de 1988 a 2018	5
Figura 3. Diagrama de la toxicocinética del vanadio.....	9
Figura 4. Promedio del consumo de bebidas azucaradas en América.....	14
Figura 5. Tendencia y comparación de la obtención de kcal provenientes del consumo de diferentes bebidas azucaradas en niños mexicanos de 1999 y 2006.....	15
Figura 6. Obtención de kcal provenientes del consumo de diferentes bebidas azucaradas en adultos mexicanos en 2006	15
Figura 7. Gráfica de la concentración de insulina y glucagón dependiente de los niveles de glucosa en sangre.....	16

Índice de gráficas

Gráfica 1. Supervivencia de los ratones de los diferentes grupos durante 8 semanas.....	24
Gráfica 2. Media del peso corporal en gramos de ratones macho CD1 expuestos a la inhalación de vanadio con y sin ingesta de bebida con sacarosa a lo largo de 8 semanas.....	25
Gráfica 3. Media de la circunferencia abdominal en cm. de ratones macho CD1 expuestos a la inhalación de vanadio con y sin ingesta de bebida con sacarosa a lo largo de 8 semanas.....	25
Gráfica 4. Media de la ingesta de alimento de ratones macho CD1 expuestos a la inhalación de vanadio con y sin ingesta de bebida con sacarosa a lo largo de 8 semanas.....	26
Gráfica 5. Media de la ingesta de bebida de ratones macho CD1 expuestos a la inhalación de vanadio con y sin ingesta de bebida con sacarosa a lo largo de 8 semanas.....	27
Gráfica 6. Media de la glucemia de ratones macho CD1 expuestos a la inhalación de vanadio con y sin ingesta de bebida con sacarosa a lo largo de 8 semanas.....	27
Gráfica 7. Media del nivel de insulina plasmática de ratones macho CD1 expuestos a la inhalación de vanadio con y sin ingesta de bebida con sacarosa a las 4 y 8 semanas.....	28
Gráfica 8. Media del nivel de glucagon plasmático de ratones macho CD1 expuestos a la inhalación de vanadio con y sin ingesta de bebida con sacarosa a las 4 y 8 semanas.....	29
Gráfica 9. Comportamiento de la glucemia en la prueba de tolerancia a la glucosa por administración oral a las 4 semanas en ratones macho CD1.....	30
Gráfica 10. Comportamiento de la glucemia en la prueba de tolerancia a la glucosa por administración oral a las 8 semanas en ratones macho CD1.....	30
Gráfica 11. Comportamiento de la glucemia en la prueba de tolerancia a la glucosa por administración intraperitoneal a las 2 semanas.....	31
Gráfica 12. Comportamiento de la glucemia en la prueba de tolerancia a la glucosa por administración intraperitoneal a las 4 semanas.....	31

Lista de abreviaturas

Al	Aluminio
B	Boro
Ca	Calcio
CO	Monóxido de carbono
COT	Compuestos orgánicos totales
COV	Compuestos orgánicos volátiles
DM2	Diabetes tipo 2
GLUT	Transportador de glucosa
Mn	Manganeso
NH3	Amoniaco
Ni	Níquel
NO_x	Óxidos de nitrógeno
NO2	Dióxido de nitrógeno
NPY	Neuropeptido Y
OPS	Organización Panamericana de la Salud
O3	Ozono
PM₁₀	Material particulado menor a 10 µm
PM_{2.5}	Material particulado menor a 2.5 µm
PST	Partículas suspendidas totales
SO2	Dióxido de azufre
Ti	Titania
V	Vanadio
V₂O₅	Pentóxido de vanadio
VO²⁺	Vanadilo
VO³⁺	Metavanadato
VO₄³⁻	Anión vanadato
W	Tungsteno
ZMVM	Zona Metropolitana del Valle de México

1. Resumen

Las consecuencias de sobrepasar los límites recomendados por algunas organizaciones como la OMS de contaminantes como las partículas suspendidas (PM) y de hábitos como la ingesta de bebidas azucaradas son problemas de salud pública que causan alteraciones en el sistema respiratorio y cardiovascular, la regulación de la glucemia, la resistencia a la insulina, la obesidad y con el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2 (DM2).

El vanadio es un metal de transición presente en las PM que además de causar daño en órganos y sistemas, ha demostrado ser hipoglucemiante y alterar el metabolismo energético, además de que el alto consumo de bebidas azucaradas en México (163L por persona al año) predisponen a la población a desarrollar síndrome metabólico, diabetes tipo 2, obesidad e hipertensión.

Por lo anterior, se planteó estudiar la regulación de la glucemia, la insulina, el glucagon y parámetros relacionados con ésta en un modelo que combinara la exposición a ambos factores, ya que ambos alteran la regulación de la glucemia.

Para esto se utilizaron 40 ratones macho de la cepa CD1 de 30 a 35 g, con alimentación *ad libitum* y se dividieron en grupo Control (C), Vanadio (V), Sacarosa (S) y Vanadio+Sacarosa (V+S). Los grupos C y S se expusieron a la inhalación de solución fisiológica, mientras que los grupos V y V+S a la inhalación de vanadio 1.56 mgV/m³ una hora dos veces por semana durante 8 semanas en una caja de acrílico. Los grupos S y V+S bebieron sacarosa al 30% *ad libitum*. Se registró la ingesta de bebida y comida durante todo el experimento, el peso, la circunferencia abdominal, la glucemia y la concentración de insulina y glucagon a las 4 y 8 semanas y se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa vía oral a las 4 y 8 semanas y vía intraperitoneal a las 2 y 4 semanas.

El 30% de los ratones del grupo V+S fallecieron a partir de la tercera semana del experimento, siguiendo con la tendencia en cada una de las semanas, hasta el final del experimento. En los ratones de los grupos de V y V+S se observó una disminución en el peso y la circunferencia abdominal, mientras que la ingesta de bebida y comida disminuyó a lo largo del experimento en los grupos V, S y V+S.

El grupo V+S presentó hipoglucemia a las 4 y 8 semanas y el grupo de S presentó hiperglucemia a las 8 semanas. El grupo V no mostró cambio en ningún tiempo, mientras que la concentración de insulina solamente aumentó en el grupo S a las 8 semanas y el glucagon disminuyó a las 4 y 8 semanas en los grupos V, S y V+S impidiendo la correcta regulación de la glucemia.

En las curvas de tolerancia a la glucosa vía oral los ratones del grupo V+S evidenciaron problemas para absorber la glucosa, lo cual pudo contribuir a su muerte. A las 4 y 8 semanas, el grupo S presentó un mayor pico de absorción de glucosa mientras que en el grupo V no hubo cambios.

Por las dificultades en la absorción se decidió realizar curvas de tolerancia a la glucosa por vía intraperitoneal, donde se observó que a las primeras 2 semanas no existieron diferencias entre los grupos, sin embargo, a las 4 semanas el pico de glucosa del grupo S fue mayor mientras que en el V+S se notó un pico de absorción menor, sin embargo no perdieron la capacidad de absorber glucosa.

Los resultados observados en este proyecto indican que en ciudades con elevada contaminación por PM y que además la población consume altas cantidades de bebidas azucaradas, la regulación de la glucemia se ve alterada incluyendo modificaciones a nivel hormonal, aumentando el riesgo para desarrollar enfermedades relacionadas con el control del metabolismo energético, obesidad y DM2 y sus complicaciones.

1. Abstract

The consequences of exceeding the limits recommended by some organizations such as the WHO of pollutants such as suspended particles (PM) and habits such as the intake of sugary drinks are public health problems that cause alterations in the respiratory and cardiovascular system, regulation of the glycemia, insulin resistance, obesity and with the risk of developing chronic diseases such as type 2 diabetes (DM2).

Vanadium is a transition metal present in PM that in addition to causing damage to organs and systems, has been shown to be hypoglycaemic and alter the energy metabolism, in addition to the high consumption of sugary beverages in Mexico (163L per person per year) predispose to the population to develop metabolic syndrome, type 2 diabetes, obesity and hypertension.

Therefore, it was proposed to study the regulation of blood glucose, insulin, glucagon and related parameters in a model that combines exposure to both factors, since both alter the regulation of blood glucose.

40 male mice of strain CD1 from 30 to 35 g were used, fed ad libitum and divided into Control group (C), Vanadium (V), Sucrose (S) and Vanadium + Sucrose (V + S). Groups C and S were exposed to inhalation of physiological solution, while groups V and V + S to vanadium inhalation 1.56 mgV / m³ one hour twice a week for 8 weeks in an acrylic box. Groups S and V + S drank 30% sucrose ad libitum. The intake of food and drinking was recorded throughout the experiment, weight, abdominal circumference, blood glucose and insulin and glucagon concentration at 4 and 8 weeks and glucose tolerance curves were made orally at 4 and 8 weeks and intraperitoneally at 2 and 4 weeks.

30% of mice from V + S group died since the third week of the experiment, following the trend in every week until the end of the experiment. In mice from V and V + S groups, a decrease in weight and abdominal circumference was observed, while the intake of food and drinking decreased throughout the experiment in groups V, S and V + S. The V + S group presented hypoglycemia at 4 and 8 weeks and the group of S presented

hyperglycemia at 8 weeks. Group V showed no change at any time, while insulin concentration only increased in group S at 8 weeks and glucagon decreased at 4 and 8 weeks in groups V, S and V + S, preventing correct regulation of blood glucose.

In the oral glucose tolerance curves, mice from V + S group showed problems in absorbing glucose, which could have contributed to their death. At 4 and 8 weeks, group S had a higher peak of glucose absorption while in group V no changes were observed.

Due to the difficulties in absorption, it was decided to perform intraperitoneal glucose tolerance curves. It was observed, at the first 2 weeks there were no differences between the groups, however, at 4 weeks the glucose peak of group S was higher while in the V + S a lower absorption peak was noted, however they did not lose the ability to absorb glucose.

Results observed in this project indicate that in cities with high contamination by PM population consumers of high amounts of sugary drinks, the regulation of glycemia is altered including changes at the hormonal level, increasing the risk to develop diseases related to the control of energy metabolism, obesity and DM2 and its complications.

2. Introducción

2.1 Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica se define como la presencia de sustancias extrañas que, en concentraciones y lapsos suficientes dentro de la atmosfera, pueden llegar a alterar su equilibrio y las propiedades físicas y químicas de ésta, además de tener efectos nocivos para el ser humano, animales y plantas (Gallego *et al.* 2012).

Los componentes de la contaminación atmosférica se liberan a través de fuentes naturales o actividades antropogénicas. Las erupciones volcánicas, los incendios forestales, los aerosoles marinos son ejemplos de las fuentes naturales de contaminantes mientras la actividad automotriz, la quema de basura, la ignición de combustibles fósiles en la industria, las tintorerías, los restaurantes y las construcciones son importantes fuentes de emisiones antropogénicas que han ido aumentando con el paso del tiempo.

Dentro de la contaminación atmosférica existen diversos componentes, entre los que destacan los contaminantes criterio que son lanzados a la atmósfera y son monitoreados por sus implicaciones en la salud, como es el caso del ozono (O₃) el monóxido de carbono (CO), el dióxido de azufre (SO₂), los óxidos de nitrógeno (NO_x), el amoniaco (NH₃), los compuestos orgánicos totales (COT), los compuestos orgánicos volátiles (COV), el dióxido de nitrógeno (NO₂) y las partículas suspendidas totales (PST), las PM₁₀ y PM_{2.5}. (inventario de emisiones de la ZMVM, SMA, 2010).

Problemas como el dolor de cabeza, irritación de los ojos, alteraciones en el sistema respiratorio como el asma, bronquitis, fibrosis pulmonar, cáncer y complicaciones cardiovasculares son consecuencia de la contaminación atmosférica, y dependen del tiempo de exposición, la concentración del contaminante y la salud de la población en general (Zuk *et al.*, 2007, PROAIRE, 2011-2020). Sin embargo, estudios recientes determinan la posibilidad de que exista una relación estrecha entre la contaminación atmosférica y la prevalencia de enfermedades cardíacas, la hipertensión arterial sistémica, la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2 (DM2) (Teichert *et al.* 2013).

2.2 Partículas suspendidas

Las partículas suspendidas (PM por sus siglas en inglés) son una mezcla compleja de materiales sólidos y líquidos que se encuentran contenidas en el ambiente y que han demostrado causar severos daños a la salud de la población humana.

Estas partículas se forman por un núcleo de carbón que varía en su composición y su diámetro principalmente por su fuente de emisión, la cual puede ser natural, como los incendios forestales o antropogénicos como la quema incompleta de combustibles fósiles o la fertilización de campos agrícolas. A estas partículas pueden adosarse diversos compuestos orgánicos (hidrocarburos aromáticos policíclicos, benceno, 1-3 butadieno etc.) e inorgánicos entre los que destacan metales como el vanadio (Comisión para la Cooperación Ambiental de América del Norte 2014).

En relación con su diámetro aerodinámico, las partículas suspendidas se clasifican en tres rubros. Las partículas gruesas (PM_{10}) que tienen un diámetro aerodinámico de $10\ \mu\text{m}$, finas ($PM_{2.5}$) con diámetro aerodinámico menor o igual a $2.5\ \mu\text{m}$ y las partículas ultra finas cuyo diámetro es menor a $1\ \mu\text{m}$ (Rojas *et al.* 2003). De acuerdo con su diámetro pueden alojarse en diferentes partes de las vías respiratorias y provocar efectos nocivos en la salud principalmente las partículas finas y ultra finas que son capaces de introducirse al fondo del sistema respiratorio y hasta los alveolos.

Las fuentes de emisión más comunes para este tipo de partículas son la erosión de los suelos, el desgaste de vialidades pavimentadas y no pavimentadas, la actividad vehicular e industrial y la quema de combustibles fósiles.

Como contaminantes criterio se ha observado que la emisión de éstos sobrepasa las normas establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Los límites que establece la OMS para las PM_{10} son $20\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ como promedio anual y $50\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ como promedio en 24 horas mientras que el límite para las $PM_{2.5}$ son $10\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ como promedio de emisión anual y de $25\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ como promedio en 24 horas (OMS 2005). En México se cuenta con una normatividad especial para la medición y

cuantificación de estas partículas que está regulado por la NOM-025-SSA-2014 donde se estipula que el límite para las PM₁₀ es de 50 µg/m³ en 24 h y 35 µg/m³ en promedio anual mientras que para las PM_{2.5} el límite es de 30 µg/m³ en periodos de 24 h y de 10 µg/m³ en promedio anual (Figuras 1 y 2).

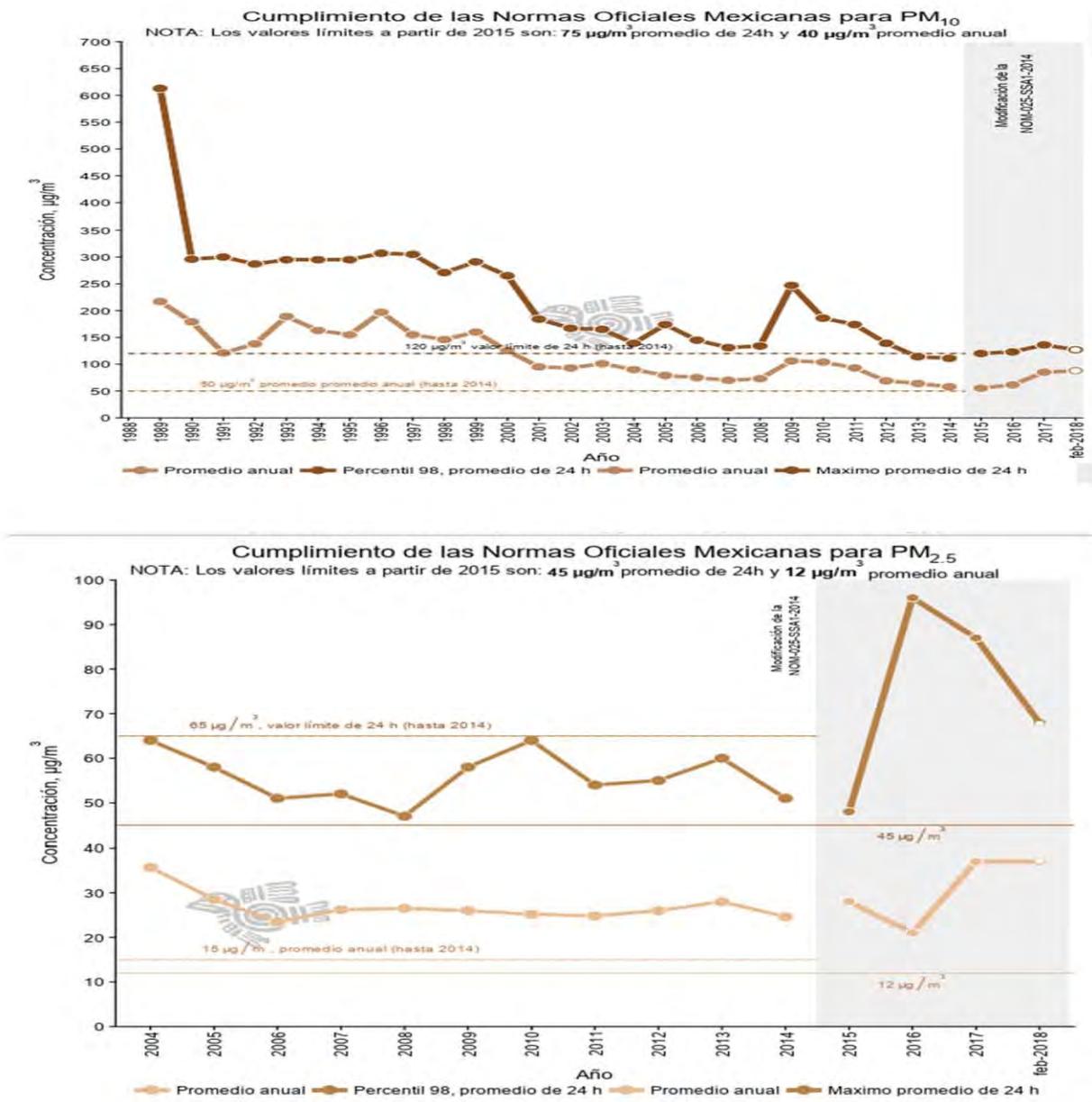


Figura 1.y 2 Gráfica de la concentración de PM_{2.5} del año 2004 a 2018 PM₁₀ del año 1988 en comparación con los límites permitidos por la NOM-025-SSA-2014

Cabe mencionar que al igual que la mayoría de los países, México sobrepasa por mucho las emisiones permitidas por las diferentes normatividades, tanto de la OMS como su propia norma. Se estima que tan solo en la ZMVM anualmente se emiten a la atmósfera 31 000 toneladas anuales de partículas suspendidas, 13 000 de éstas (41%) del tipo PM_{2.5}.

La OMS ha estimado que la contaminación por partículas suspendidas cobra la vida de al menos 3 millones de personas al año y causa problemas al sistema respiratorio y al sistema cardiovascular ocasionando tos, bronquitis, infecciones respiratorias ataques cardiacos, arritmias, y trombogénesis. Sin embargo, estudios recientes también las han relacionado con problemas en el control de la glucemia, la resistencia a la insulina, la obesidad y con el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas degenerativas como la diabetes.

Las partículas suspendidas acarrean materiales que se adosan a ellas como pólenes o diversos metales entre los que destaca el vanadio.

2.3 Vanadio

El vanadio es un metal de transición grisáceo con numero atómico 23, cuenta con una densidad de 6.11 g/cm³ y un peso atómico de 50.95, un punto de fusión de 1950 °C y un punto de ebullición de 3600 °C (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006), que se encuentra ampliamente distribuida en el ambiente, en la corteza terrestre ocupa el lugar número 22 entre los elementos más abundantes pudiéndolo encontrar en minerales como la cuprodescolocita, descolocita, patronita, roscoletita, carnotita, fernandinita, corvouisita y vanadita.

El vanadio se encuentra en varios estados de oxidación que van de -1 a +5, los estados más frecuentes (V_{III}, V_{IV} y V_V) y los que tienen funciones biológicas reconocidas. En la naturaleza participa en diversos procesos como la síntesis de clorofila o la nutrición de especies marinas, en el caso de los seres humanos no se considera como un requerimiento, sin embargo, los diferentes mecanismos de acción que se han reportado en modelos *in vivo* e *in vitro* han despertado el interés por sus efectos tóxicos y farmacéuticos por ejemplo en la lucha contra la obesidad y la diabetes especialmente.

Su principal fuente de liberación es la quema incompleta de combustibles fósiles donde el petróleo mexicano en su variedad maya y el canadiense en su variedad athabasca tienen de 640 y 243 $\mu\text{g/g}$ de vanadio y el venezolano contiene de 282 a 1180 $\mu\text{g/g}$ posicionándolos entre los petróleos que tienen mayor cantidad de este metal en comparación con los del resto del mundo (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006).

2.3.1 Usos

El pentóxido de vanadio (V_2O_5) es el compuesto comercial más utilizado a nivel industrial seguido por el metavanadato de amonio (NH_4VO_3), metavanadato de sodio (NaVO_3), tricloruro de vanadio (VCl_3) y sulfato de vanadio (V_2SO_4) ya que son capaces de disolverse en agua y en medios ácidos.

Se ocupa en la industria metalúrgica en la producción de aleaciones de alta resistencia y baja corrosión con metales como el aluminio (Al), titanio (Ti), boro (B), cromo (Cr), magnesio (Mg), níquel (Ni) y tungsteno (W), en la preparación de vidrio, de pinturas, colorantes de fotos y cine, caucho y materiales de superconductividad.

En el sector agrícola se utiliza para elaborar fungicidas e insecticidas además de usarse como micronutriente.

Debido a sus características al formar diferentes compuestos en el organismo, ha surgido un interés farmacológico por dicho metal, ya que su parecido a los grupos fosfato y la gran cantidad de procesos biológicos que se rigen por medio de fosforilaciones y desfosforilaciones despertó una mayor atención por conocer moléculas que sirvan como blancos específicos para tratar diversas enfermedades, como se ha intentado para el control del sobrepeso y de los niveles de glucosa en la diabetes tipo 2. Sin embargo, la poca especificidad que presentan estos compuestos por los sitios reguladores de los procesos y sus efectos tóxicos ha sido una barrera difícil de superar en el desarrollo de dichos fármacos y ha puesto a consideración y en debate la postulación de compuestos de vanadio como posibles fármacos.

El pentóxido de vanadio (V_2O_5), es un compuesto que ha demostrado ser altamente tóxico y es ampliamente utilizado en la industria. Éste es una sal amarillenta poco soluble en agua que presenta un punto de fusión de $1750\text{ }^\circ\text{C}$ y un punto de ebullición de $690\text{ }^\circ\text{C}$. Por su alta toxicidad, la exposición a este metal no debe sobrepasar los 0.05 mg/m^3 sin embargo existen reportes de que en el contacto ocupacional se observan niveles entre 50 y 100 mgV/m^3 y en algunas ocasiones de hasta 500 mgV/m^3 (Barceloux 1999).

2.3.2 Vías de Exposición

El vanadio es capaz de entrar al organismo de los mamíferos a través de diferentes vías: dérmica, oral e inhalada (Figura 3).

Dérmica

Por la vía dérmica se ha reportado que la absorción que presenta es mínima por lo cual puede descartarse como una exposición riesgosa, sin embargo, el contacto directo con este metal puede provocar dermatitis e irritación.

Oral

En el caso de la ingesta, se ha reportado que es la vía a la que se está mayormente expuesto, ya que se calcula que la ingesta diaria de vanadio va de 13 a $15\text{ }\mu\text{g}$ al día y en algunos casos se ha reportado $60\text{ }\mu\text{g}$, los cuales pueden provenir de grasas, aceites, frutas, vegetales, granos, alimentos del mar, carnes, eneldo y pimienta. Sin embargo, el porcentaje de absorción por esta vía representa el 10% del total ingerido (EFSA, 2004).

Inhalada

Por otro lado, la exposición más importante se da por la vía inhalada ya que se ha descrito que la absorción del metal va del 25% y en algunos casos se reporta de hasta un 80% de todo el vanadio inhalado (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006).

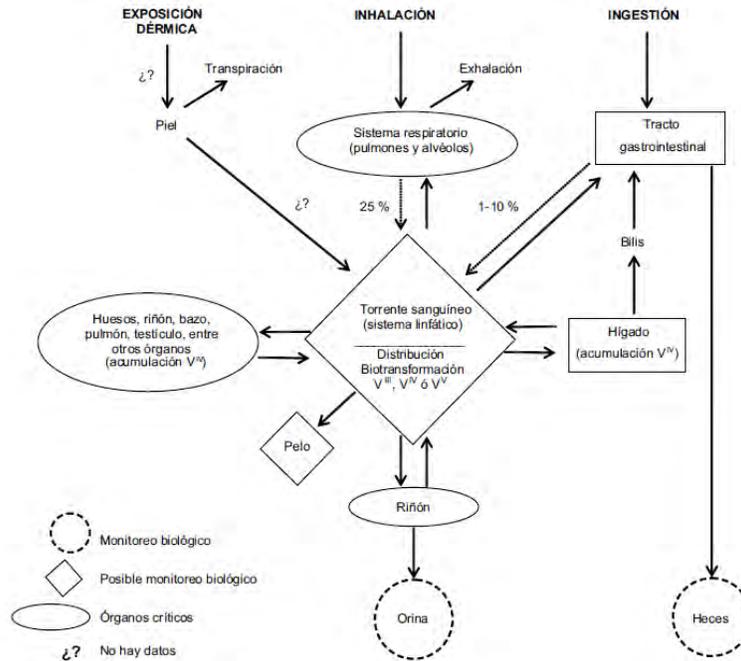


Figura 3. Diagrama de la toxicocinética del vanadio (Tomado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006)

La quema incompleta de combustibles fósiles y los incendios forestales son fuentes frecuentes de emisión del vanadio como contaminante cuya presencia depende en gran medida de las condiciones geográficas y climatológicas del lugar en donde se haya liberado.

Se reportó que la concentración de vanadio y de otros metales se ha incrementado a lo largo del tiempo en casos de autopsia de personas que vivieron en la ciudad de México en las décadas de los 60 y 90 (Fortoul *et al.* 2002).

En las ciudades se han reportado concentraciones de vanadio que van desde los $0.15 \mu/m^3$ a $1.4 \mu/m^3$ y en zonas rurales cantidades menores a $0.024 \mu/m^3$, mientras que en México se ha reportado una concentración de $0.62 \mu/m^3$ en zonas urbanas y de $0.01 \mu/m^3$ en zonas rurales; en las partículas suspendidas PM_{10} se reporta $0.114 \mu/m^3$ y $0.693 \mu/m^3$ en las $PM_{2.5}$ (Fortoul *et al.* 2002).

2.3.3 Toxicocinética

El vanadio se absorbe por las células de los mamíferos a través de mecanismos de transporte aniónicos; por ejemplo, los canales de fosfato favorecido por el parecido estereoquímico de los compuestos de vanadio con el fosfato.

Una vez absorbido y transportado por el torrente sanguíneo, el vanadio cambia de estado de oxidación, donde puede encontrarse como V^{III} , V^{IV} y V^{V} lo cual está dado por las reacciones de óxido reducción por moléculas del plasma como el glutatión, las catecolaminas y el ácido ascórbico, como es el caso de la reducción de V^{V} a V^{IV} o su oxidación por el oxígeno en sangre de V^{III} a V^{IV} ó V^{V} de lo cual va a depender la toxicidad del compuesto (Rehder 2003).

Estos compuestos se unen a proteínas como la albumina y la transferrina y se transporta a diferentes órganos donde son biotransformados y acumulados, por ejemplo, en los huesos y dientes (25%), hígado (5%), riñón (4%), testículo (0.2%) y bazo (0.1%) (WHO, 2011), en los cuales se encuentra en el estado de oxidación IV (ATSDR 2009).

Los diferentes estados de oxidación del vanadio en el organismo interactúan con moléculas orgánicas como las proteínas, péptidos, aminoácidos, nucleótidos y azúcares en las cuales tiene preferencia por los grupos amino y carboxilo de estas biomoléculas además de los grupos fosfato (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2006).

El vanadio se encuentra en forma de metavanadato (VO^{3+}) en los fluidos extracelulares mientras que en condiciones fisiológicas se presenta como anión vanadato ($H_2VO_4^-$) como catión vanadilo (VO^{2+}) y como otras especies de cationes (VO^{3+} , VO^{2+}) y aniones (HVO_4^{2-} , $V_4O_{12}^{4-}$, $V_{10}O_{28}^{6-}$ y $[(VO)_2(OH_5)]^-$).

El vanadio que no es absorbido es eliminado de manera bifásica a través de la bilis, las heces y la orina donde la fase de eliminación rápida comprende las primeras 20 a 40 horas post exposición mientras que la fase lenta va de 40 a 50 días (Barceloux, 1999).

2.3.4 Mecanismos de daño

Los compuestos de vanadio poseen diferentes mecanismos de toxicidad. Por su parecido a los grupos fosfato es capaz de inhibir proteínas como la tirosina fosfatasa, la sodio-potasio ATPasa, la calcio-magnesio ATPasa y el gliceraldehído 3 fosfato, además de activar a la adenilato ciclasa y a la MAP cinasa (Rehder, 2013).

Es capaz de causar la peroxidación de lípidos de la membrana celular por la generación de radicales libres a través de la reacción de Fenton, con lo cual también puede alterar la estabilidad de la membrana mitocondrial y provocar apoptosis mediada por las caspasas 3 y 9 por la salida del citocromo C (Afeseh *et al.*, 2009).

También se ha reportado la interacción del vanadio con los filamentos del citoesqueleto, la α - actina y la gama-tubulina impidiendo que se polimericen de manera adecuada y provocando su disminución (Mussali *et al.* 2005; Rodríguez *et al.* 2013).

En el material genético el vanadio es capaz de producir rompimientos de cadena sencilla y la generación de micronúcleos que representan daño en el mecanismo de duplicación y reparación del material genético que a la larga pueden generar fallas en la transcripción y mutaciones (Fortoul *et al.* 2011).

2.3.5 Daños a la salud

Se tiene reportado que la exposición ocupacional a vanadio puede provocar daños a diferentes órganos y sistemas entre los que destacan los sistemas respiratorio circulatorio y nervioso.

En las vías respiratorias es capaz de causar tos, hemorragias nasales, irritación en la garganta, rinitis bronquitis y neumonitis (Afeseh *et al.* 2009).

En sangre disminuye los grupos sulfidrilo y la concentración de albumina y colesterol en los daños al sistema nervioso se ha reportado neurastenia, temores, entre otras deficiencias motoras, mientras que en el tracto gastrointestinal la exposición aguda puede

provocar movimiento intestinal aumentado, vómitos, diarrea y el cambio de coloración de la lengua tornándola verdosa (ATSDR 2009).

Por otro lado, en diversos modelos experimentales se ha visto que el vanadio provoca diferentes efectos adversos como en el caso del sistema respiratorio, en el cual se observó infiltrado inflamatorio, incremento en las citocinas proinflamatorias como IL-6 y TNF- α en el epitelio bronquiolar, así como la disminución de células bronquiales no ciliadas. En la sangre se ha encontrado anemia normocítica normocromica, menor porcentaje de hemoglobina y hematocrito además del aumento en el número de neutrófilos, leucocitos, linfocitos, fibrinógeno y proteínas séricas totales, todo esto en sangre periférica (González-Villalva *et al.* 2006). En el sistema hematopoyético se observó aumento en el número y el tamaño de los megacariocitos en la médula ósea y en bazo además del incremento en la cantidad de plaquetas. En el timo se observó alteración en los límites de la corteza y la médula y cambios nucleares en los linfocitos.

En hígado se evidenció la presencia de focos inflamatorios, hepatocitos binucleados y elevación en la peroxidación lipídica y en páncreas produce aumento en la granularidad de las células acinares, inflamación y subida aumento de la amilasa pancreática y los triglicéridos (Cano-Gutiérrez *et al.* 2009, 2012).

En el sistema nervioso se ha descrito la pérdida de espinas dendríticas, daño al bulbo olfatorio, la corteza motora, el epéndimo y el hipocampo, al igual que daño a la barrera hematoencefálica por la pérdida de uniones estrechas (Colín-Barenque *et al.* 2012; Ávila-costa *et al.* 2007).

En el tejido óseo se ha observado disminución en la matriz orgánica, rugosidad y desorden en el esmalte dental y malformaciones en los incisivos de ratón (Fortoul *et al.* 2007).

También se ha reportado daño al material genético con rompimiento de cadena sencilla del DNA y presencia de micronúcleos (Rojas-Lemus *et al.* 2014).

2.4 Ingesta de bebidas azucaradas

En México y en muchas ciudades del mundo, principalmente de América Latina existe un problema de salud pública que es la presencia de enfermedades crónico-degenerativas como la hipertensión arterial sistémica, la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2; sus complicaciones representan un elevado porcentaje del gasto destinado a la salud.

La prevalencia de dichas enfermedades ha incrementado a la par del sedentarismo y de hábitos alimenticios perjudiciales para la población, incluido el consumo de bebidas azucaradas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) señalan que México es el país con mayor consumo de bebidas azucaradas sobrepasando los 163 L por persona por año, rebasando el consumo de países de América Latina y a Estados Unidos por 45 L por persona por año (Vartanian *et al.* 2007) (Figura 4). Esto se traduce en que México es el país que tiene el primer lugar en obesidad infantil y en adultos y en un aumento en el número de personas que sufren enfermedades no transmisibles como la obesidad y la diabetes tipo 2 en la cual la cantidad de individuos con diabetes ha aumentado de 108 millones en 1980 a 422 millones en 2014 a nivel mundial (OMS 2017), sólo en México se estima que para el 2025 habrán 11.7 millones de personas con Diabetes (Rivera *et al.* 2008).

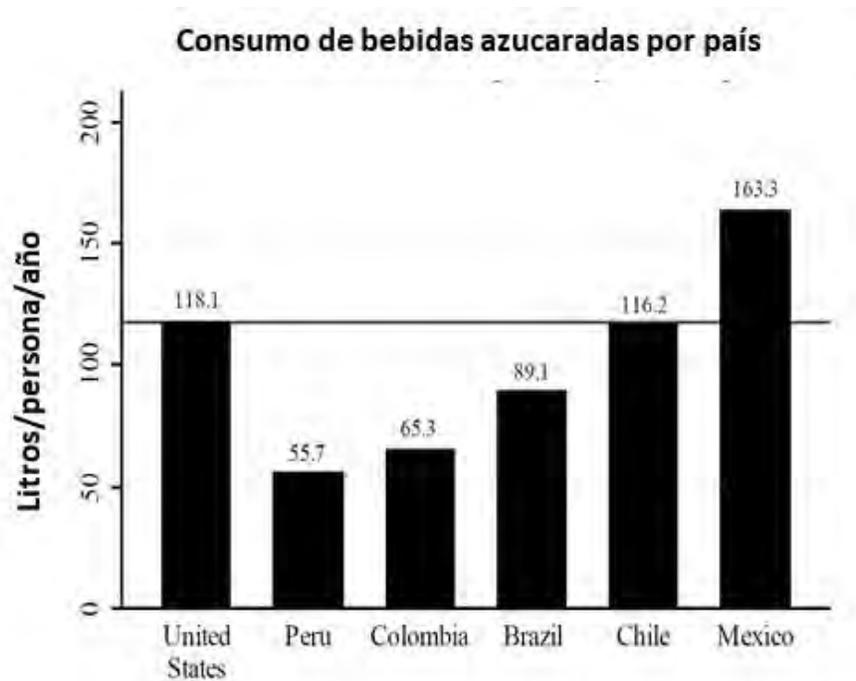


Figura 4. Promedio del consumo de bebidas azucaradas en países de América. México ocupa el primer lugar en el consumo con 163.3 L rebasando a los Estados Unidos.

(Tomado de WHO 2011)

Se define como bebida azucarada a toda aquella que le han añadido carbohidratos simples de origen natural (azúcares) aparte de los que ya contenía en su composición original (Mendivil Co. 2013). En este rubro se encuentran las bebidas carbonatadas regulares o gaseosas, jugos endulzados, bebidas hidratantes.

Diversos estudios señalan que los niños en México obtienen la mayor parte de calorías principalmente de la leche entera; sin embargo, las bebidas azucaradas a base de frutas y los refrescos representan un alto porcentaje de éstas kcal (Figura 5). También se ha observado un aumento en el consumo de estas bebidas en 2006 en comparación con 1999 y un incremento en el uso de bebidas azucaradas a partir de los 5 años (Rivera *et al.* 2008). Estos datos muestran una tendencia al alza y podrían estar relacionados con la prevalencia de enfermedades como la obesidad y la DM2 que ocurren actualmente el país.

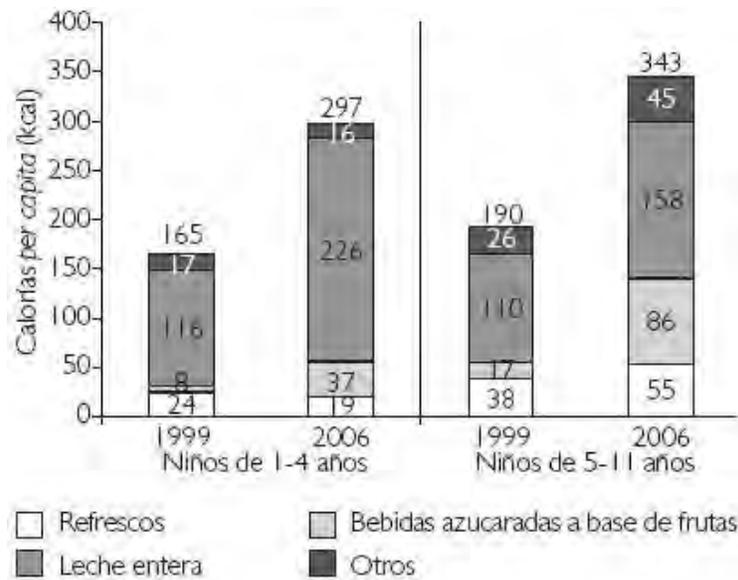


Figura 5. Obtención de kcal provenientes del consumo de diferentes bebidas azucaradas en niños mexicanos de 1999 y 2006 (Tomado de Rivera *et al.*, 2008).

Por otra parte, se ha visto que la población de jóvenes y adultos consumen más kcal obtenidas de la combinación de diferentes tipos de bebidas azucaradas, observándose que los adultos entre 19 y 40 años son los mayores consumidores (Figura 6).

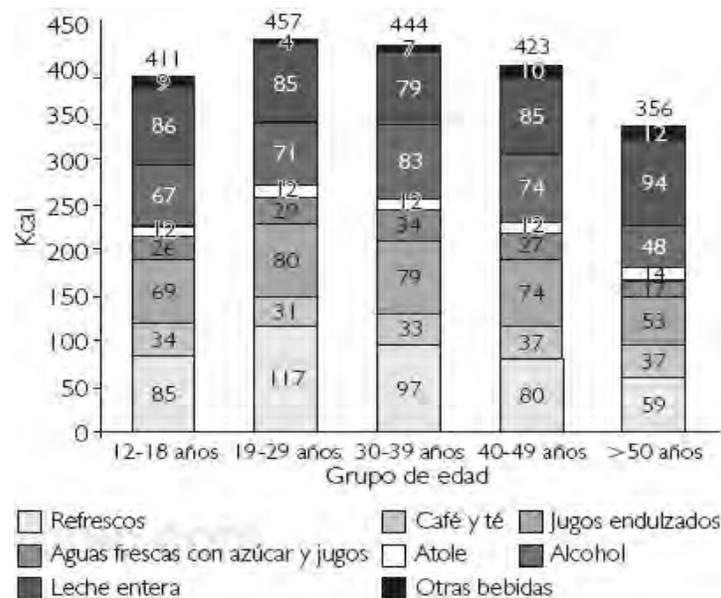


Figura 6. Obtención de kcal por el consumo de bebidas azucaradas en adultos mexicanos en 2006 (Tomado de Rivera *et al.*, 2008).

2.5 Regulación de la glucemia

La regulación del nivel de glucosa en sangre (glucemia) es un proceso metabólico que se encarga de mantener la concentración de glucosa dentro de un rango determinado (80-100 mg/dL) que permita el correcto funcionamiento del organismo ya sea en el periodo postprandial o en el periodo de ayuno. Esta regulación se lleva a cabo mediante diferentes procesos entre los que destacan la síntesis y liberación de distintas hormonas principalmente las producidas por el páncreas que son la insulina y el glucagón, que ejercen una acción antagónica que mantiene la homeostasis de la glucosa en la sangre (Larqué *et al.* 2001) (Figura 7).

Existen dos estados relacionados con la concentración de glucosa en sangre. La hipoglucemia que es la baja concentración de glucosa en sangre (<70 mg/dL) y la hiperglucemia que es una concentración de glucosa en sangre por arriba de los valores recomendados (>120 mg/dL) en condiciones de ayuno.

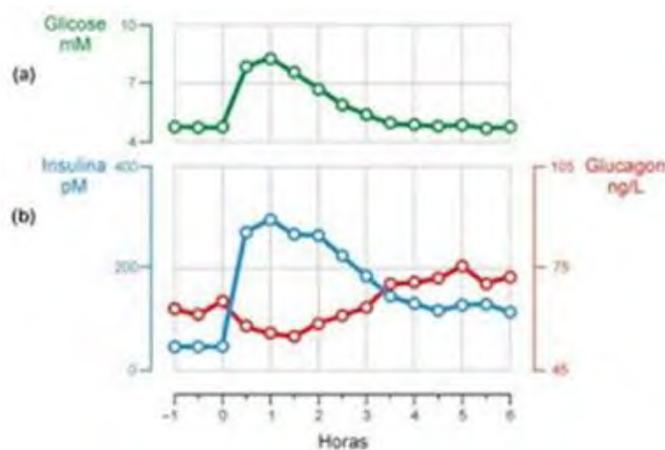


Figura 7. Modificación de la concentración de insulina y glucagón dependientes de la glucemia

Al haber hipoglucemia las células α del islote pancreático liberan glucagón al torrente sanguíneo y se dirige a sus órganos diana, entre los cuales se encuentra al hígado donde propiciará reacciones encaminadas al catabolismo como la degradación de glucógeno a

glucosa (glucogenólisis) o bien propiciando la gluconeogénesis con el fin de que a través de proteínas de transportadoras de glucosa (GLUTs) ésta salga al torrente sanguíneo aumentando su nivel y corregir la concentración para llegar a la normogluemia (Ross *et al.* 2012).

Por el contrario, cuando existe hipergluemia las células β del islote pancreático detectan la concentración elevada de glucosa y secretan insulina al torrente sanguíneo, la cual se dirige a sus órganos blanco, como el musculo esquelético y el tejido adiposo, provocando reacciones encaminadas al anabolismo como la entrada de aminoácidos, la síntesis de proteínas y principalmente la internalización de glucosa de la sangre hacia las células (Ross *et al.* 2012).

La insulina al llegar a su órgano blanco se une a su receptor, el cual está compuesto por dos subunidades α y dos β , al unirse la insulina estas últimas, se autofosforilan dando inicio a una serie de pasos dependientes de fosforilaciones y desfosforilaciones que dan como resultado la síntesis, el movimientos y la internalización en la membrana plasmática de proteínas transportadoras de glucosa (GLUT4), las cuales van a permitir el paso de glucosa hacia el citoplasma retirándola del torrente sanguíneo (Hiriart, 2009).

Una vez lograda la normogluemia, las subunidades β son desfosforiladas deteniendo así la cadena de señalización y la integración de GLUTs a la membrana.

Existen diferentes pruebas como la determinación de glucosa en ayuno de 8 horas o la medición de hemoglobina glucosilada que hacen evidentes las condiciones de gluemia al momento y tiempo antes de la toma de muestra, para observar el resultado del consumo de carbohidratos; sin embargo, existe una prueba que se emplea para hacer evidente la capacidad que tiene un individuo de regular la gluemia: prueba oral de tolerancia a la glucosa. Ésta sirve para medir la resistencia periférica de los tejidos a la insulina tomando como parámetro el tiempo que tarda el individuo en regresar a un estado de normogluemia después de una carga oral de glucosa que en seres humanos es de 1 g/kg de glucosa y en modelos experimentales varia de 1 a 3 g/kg.

De esta manera se puede determinar si existe una falla en su regulación lo cual podría deberse a un fenómeno de resistencia a la insulina que puede llevar a desarrollar diabetes tipo 2.

Existen diversos factores que pueden alterar la regulación de la glucemia entre los que se encuentran: los hábitos alimenticios, algunos metales (Fe, Ni, Pb, Cr, Mg y V) y recientemente se ha considerado la contaminación atmosférica (González-Villalva *et al.* 2015).

Se sabe que la ingesta constante de bebidas azucaradas puede alterar este proceso y provocar diversas enfermedades crónico degenerativas como la obesidad, la hipertensión y la DM2 sin embargo se ha reportado que existe una relación entre los componentes de la contaminación atmosférica en especial las partículas suspendidas PM₁₀ y PM_{2.5} y la prevalencia y el riesgo de desarrollar obesidad, hipertensión, problemas cardiovasculares y DM2 de manera independiente a los hábitos alimenticios (Gómez-Miranda *et al.* 2015).

3. Justificación

La contaminación por partículas es uno de los problemas de las grandes ciudades. En estas partículas se adosan metales como es el caso del vanadio. Por otro lado, la ingesta de bebidas azucaradas también es un problema de salud pública en nuestro país, y ambos factores tienen efectos en la regulación de la glucemia y en el largo plazo, predisponen a la población a padecer enfermedades crónicas como la obesidad y la diabetes. Algunos metales tienen implicación en la regulación de la glucosa en sangre, como es el caso del vanadio por vía oral. No se conoce el efecto que la inhalación del vanadio que como contaminante tenga en la regulación de la glucemia y en individuos que además consumen bebidas azucaradas.

La regulación de la glucosa es un proceso en el cual intervienen hormonas como la insulina y el glucagón que se afectan en su funcionamiento por la ingesta de bebidas con sacarosa y la inhalación de vanadio, por lo que es relevante estudiar el efecto con la combinación de ambos factores.

4. Hipótesis

Si la inhalación de vanadio y el consumo de bebidas altas en sacarosa alteran el metabolismo de la glucosa, entonces la conjunción de ambas variables modificará la capacidad de los individuos para regular la glucemia, alterando los niveles plasmáticos de insulina y glucagón.

5. Objetivos

Objetivo general

Determinar las diferencias en la glucemia, los niveles de insulina y glucagon plasmáticos, y la capacidad de regulación de glucosa sanguínea con pruebas de tolerancia a la glucosa por vía oral e intraperitoneal, en el modelo por inhalación de vanadio e ingesta de bebidas altas en sacarosa.

Objetivos particulares

En el grupo control y los grupos experimentales determinar las diferencias por tiempo de exposición en:

- ▶ La supervivencia.
- ▶ El peso y la circunferencia abdominal.
- ▶ La ingesta de bebida y comida.
- ▶ La glucemia en ayuno.
- ▶ Los niveles plasmáticos de insulina y glucagon.
- ▶ La regulación de la glucemia con curvas de tolerancia a la glucosa y administración oral (4 y 8 semanas) e intraperitoneal (2 y 4 semanas) en diferentes tiempos.

6. Metodología

6.1 Modelo experimental

Se utilizaron 40 ratones de la cepa CD1 con un peso de 30-35 g los cuales fueron separados de manera aleatoria en cuatro grupos de 10 ratones cada grupo: control (C), vanadio (V), sacarosa (S) y vanadio+sacarosa (V+S) y permanecieron bajo condiciones de luz/oscuridad de 12 horas con una alimentación *ad libitum*. El proyecto está registrado y autorizado por las Comisiones de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina con el #100/2014.

Durante 8 semanas los grupos V y V+S se expusieron a la inhalación de una solución de pentóxido de vanadio (V_2O_5) preparada al 0.01 M en una caja de acrílico cerrada conectada a un ultra nebulizador Yuehua WH 2000® con una tasa máxima de nebulización de 4 mL por minuto, durante una hora dos veces por semana, en las cuales se alcanzaron concentraciones de 1.56 mg/m^3 ; del mismo modo los animales de los grupos C y S inhalaron el vehículo (solución fisiológica) con el mismo procedimiento. La frecuencia de la exposición al V se determinó de acuerdo con los estudios previos realizados con el modelo de exposición por inhalación.

Durante el tiempo del experimento los grupos S y V+S bebieron agua con sacarosa en una concentración de 30% a libre demanda. El experimento se repitió en tres ocasiones en las mismas condiciones.

6.2 Registro del peso y la circunferencia abdominal

Al iniciar el experimento y al finalizar las 4 y a las 8 semanas se registró el peso de los ratones con una báscula Taconic® y se midió la circunferencia en el diámetro mayor del abdomen con una cinta métrica en todos los grupos.

6.3 Determinación de ingesta de comida y bebida

Diariamente durante todo el experimento se pesaron 150 g de croquetas Rodent Laboratory Chow® y se colocaron en las cajas para la alimentación *ad libitum*, al día

siguiente se pesó el sobrante de comida y se realizó una comparación para determinar la ingesta diaria de alimento.

En el caso de la bebida, se prepararon 150 mL del agua correspondiente al tratamiento y al día siguiente se midió la cantidad de agua sobrante para determinar la cantidad de mL que ingirieron diariamente.

6.4 Determinación de la glucemia

Se determinaron los niveles de glucosa en sangre al inicio del experimento, a las 4 y a las 8 semanas en la sangre de la vena caudal de los ratones con un ayuno de 12 horas utilizando tiras reactivas de glucosa y su glucómetro convencional ONE TOUCH ULTRA® (Johnson & Johnson)

6.5 Determinación de insulina y glucagon plasmáticos

Se realizó el sacrificio por dislocación cervical de 5 ratones de cada grupo después de mantenerlos en ayuno durante 12 horas a las 4 y 8 semanas; éstos fueron anestesiados previamente con pentobarbital sódico y se obtuvo la sangre por punción intracardiaca.

Para la determinación de insulina, la sangre se colocó en tubos sin EDTA y para la de glucagon en tubos EDTA K Microvette®. La sangre colectada se centrifugó en una centrifuga Hettich® MIKRO200 a 3000 rpm durante 8 minutos a temperatura ambiente, el suero y el plasma fueron separados. Para la verificación de insulina y glucagon en ambas hormonas se utilizó el Kit Insulin-Ab (AIA) RIA (MG13041) y Glucagon RIA (MI13201), de IBL International, que utiliza radioisótopos específicos para cada hormona la cual se caracteriza por ser una técnica altamente sensible.

6.6 Curvas de tolerancia a la glucosa

Para la prueba de tolerancia a la glucosa por vía oral se utilizó una sonda gástrica para administrarles una dosis de 3 g/kg de D-glucosa (Dextrosa REASOL®) y para la prueba con administración vía intraperitoneal se inyectó una dosis de 2 g/kg, para ambas modalidades se utilizaron tiras reactivas de glucosa y un glucómetro convencional ONE TOUCH ULTRA®

para medir el nivel de glucosa en sangre al inicio de la curva y en intervalos de 5 min durante 120 min.

6.7 Análisis estadístico

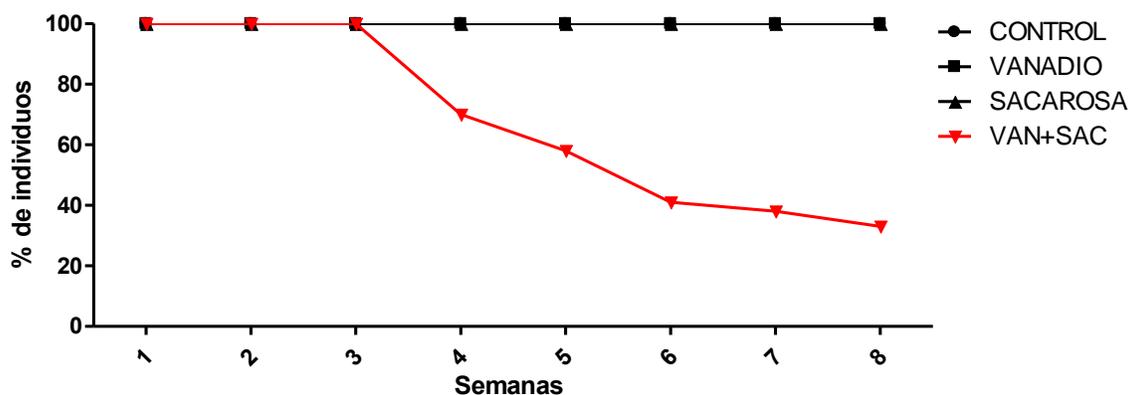
Los datos recabados en cada etapa del experimento se analizaron con el programa GraphPad Prism 5 ® con la prueba de ANOVA de una vía. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa si $p \leq 0.05$ y posteriormente se realizó una prueba *post-hoc* de Tukey para determinar las diferencias entre los grupos.

7. Resultados

7.1 Supervivencia

La supervivencia de los ratones del grupo V+S disminuyó a partir de la tercera semana del experimento donde se observó la muerte aproximada del 30% de la población a la cuarta semana siguiendo con la tendencia en cada una de las semanas, hasta el final del experimento. Los demás grupos no presentaron muertes externas a los sacrificios programados (Gráfica 1).

Los ratones del grupo V+S mostraron un comportamiento anormal que consistió en poca movilidad y falta de acicalamiento.



Gráfica 1. Porcentaje de supervivencia de los individuos de los diferentes grupos durante 8 semanas durante el estudio.

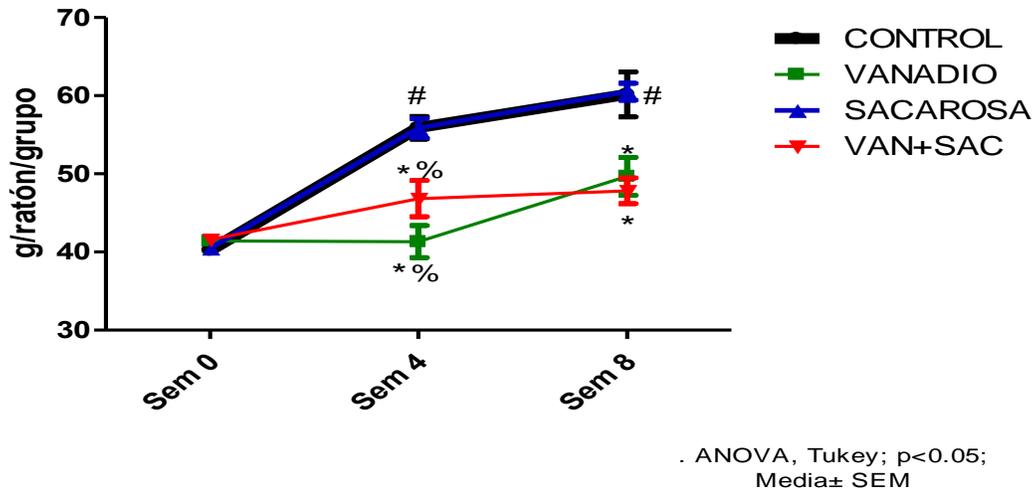
7.2 Registro del peso y la circunferencia abdominal

En el peso de los ratones de todos los grupos no se encontraron diferencias al inicio del experimento. Sin embargo, a las 4 y a las 8 semanas el grupo vanadio y el vanadio+sacarosa pesaron menos que los del grupo control.

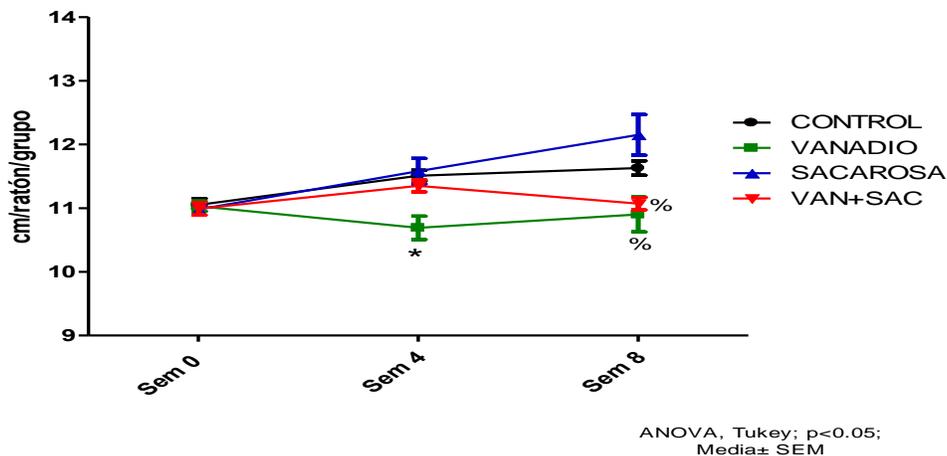
A las 4 semanas los ratones del grupo V presentaron una menor circunferencia en comparación con el control y a las 8 semanas el grupo de V y el V+S mostraron una

circunferencia abdominal menor al grupo control que resultó ser estadísticamente significativa.

El grupo S no evidenció diferencias estadísticamente significativas ni en el peso ni en la circunferencia abdominal al compararlos con el grupo control en ninguno de los tiempos experimentales (Gráficas 2 y 3).



Gráfica 2. Registro del peso corporal de los ratones en gramos a 0, 4 y 8 semanas. * diferencias significativas respecto al grupo control, # diferencias significativas respecto al grupo vanadio, % diferencias significativas respecto al grupo sacarosa. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM

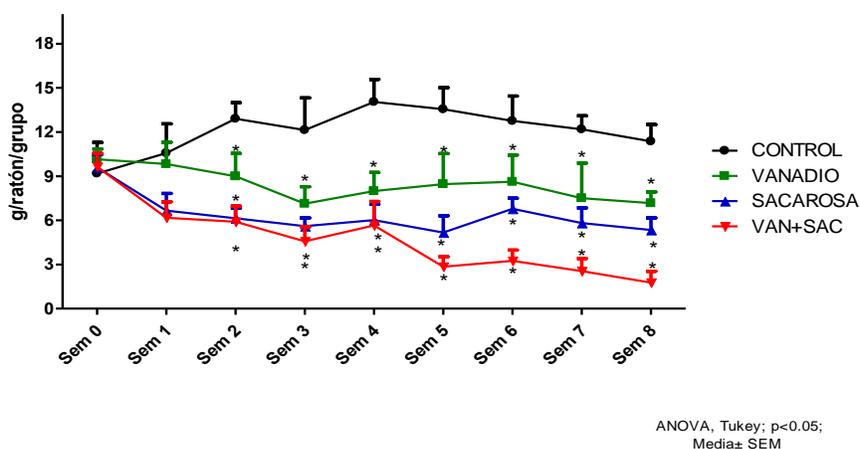


Gráfica 3. Registro de la circunferencia abdominal en centímetros de los ratones a 0, 4 y 8 semanas. * diferencias significativas respecto al grupo control, # diferencias significativas respecto al grupo vanadio, % diferencias significativas respecto al grupo sacarosa. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM

7.3 Ingesta de comida y bebida

La ingesta de alimento y bebida tendió a disminuir durante todo el experimento en los ratones de los grupos expuestos que resultó estadísticamente significativa.

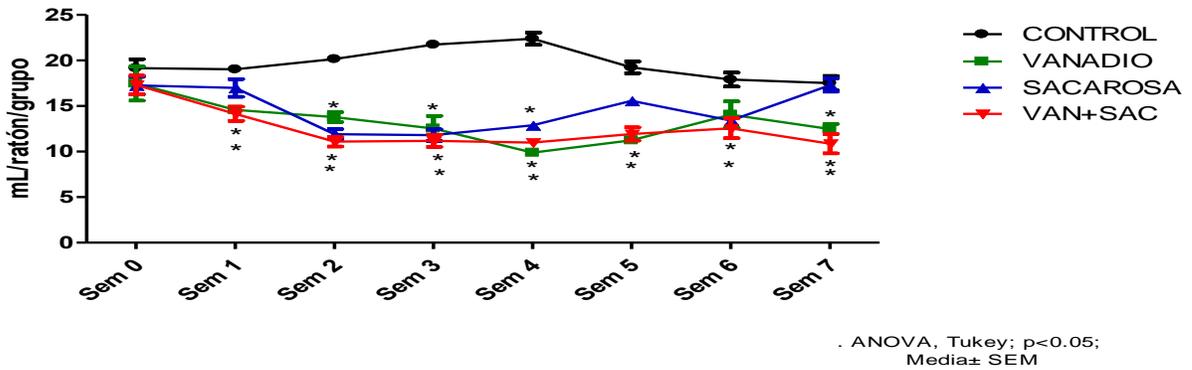
En la primera semana de experimentación los grupos V y V+S disminuyeron la ingesta de comida en comparación del grupo control. Sin embargo, a partir de la tercera semana se observó la misma caída en todos los grupos experimentales (V, S, Y V+S) que siguió hasta el final del experimento (Gráfica 4).



Gráfica 4. Registro de la ingesta de alimento en gramos por ratón por grupo durante 8 semanas.

* diferencias significativas respecto del grupo control. ANOVA, Tukey; p<0.05; Media± SEM

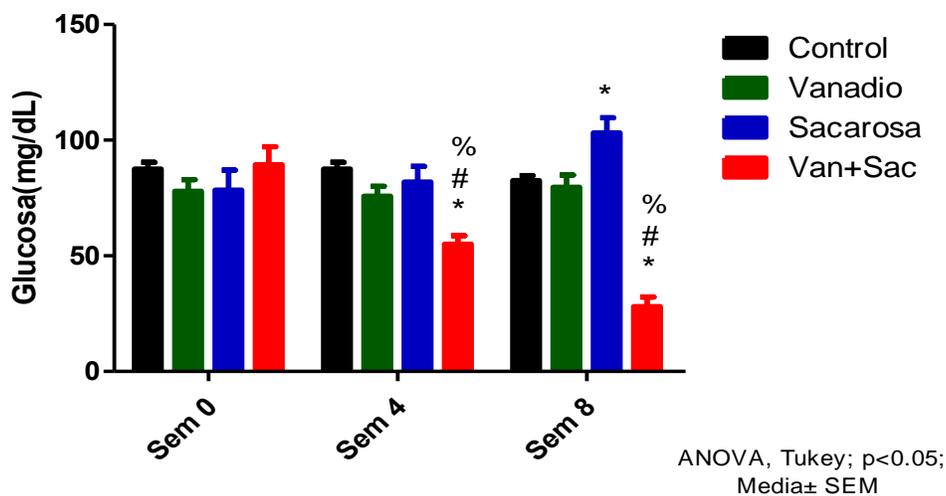
En cuanto a la ingesta de bebida en la primera semana de experimentación los grupos V y V+S disminuyeron el consumo de bebida, sin embargo, a partir de la segunda semana se observó la misma baja en todos los grupos experimentales (V, S, Y V+S) que siguió hasta el final del experimento (Gráfica 5).



Gráfica 5. Registro del consumo de bebida en mililitros por ratón por grupo durante 8 semanas * diferencias significativas respecto del grupo control. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM

7.4 Glucemia

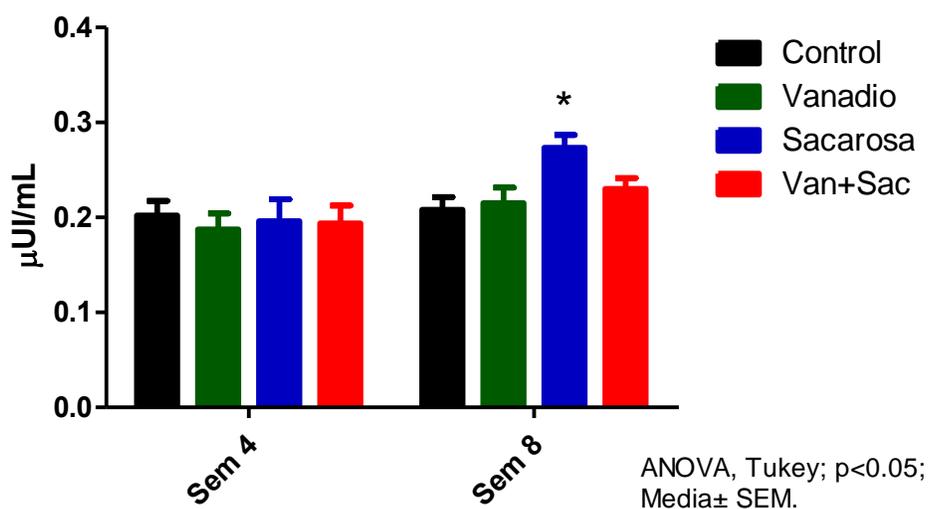
Los ratones del grupo V+S presentaron una disminución estadísticamente significativa con respecto al grupo control a las 4 y a las 8 semanas mientras que el grupo de S presentó un aumento en la glucemia estadísticamente significativo con respecto al grupo control. El grupo de V no mostró cambio con respecto al control ni a las 4 ni a las 8 semanas. Los ratones del grupo V+S manifestaron hipoglucemia a las 4 y 8 semanas mientras que el grupo S exhibieron hiperglucemia a las 8 semanas (Gráfica 6).



Gráfica 6. Media de la glucemia en ayuno de ratones a 0, 4 y 8 semanas. * diferencias significativas respecto del grupo control, # diferencias significativas respecto del grupo vanadio, % diferencias significativas respecto del grupo sacarosa. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM.

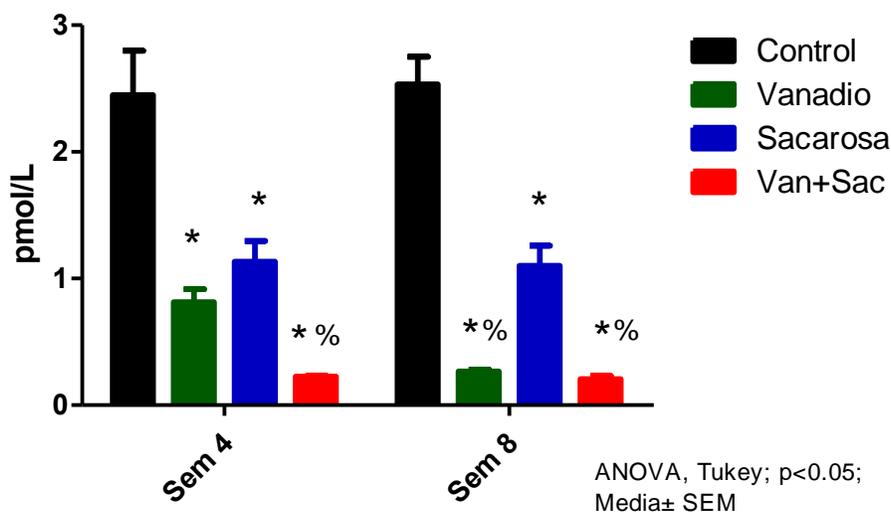
7.5 Concentración de insulina y glucagon plasmáticos

Los niveles de insulina no presentaron diferencia a las 4 semanas en ninguno de los grupos experimentales. Sin embargo, a las 8 semanas el grupo S evidenció un aumento estadísticamente significativo con respecto al grupo control. Los demás grupos no mostraron cambio en ninguno de los tiempos experimentales (Gráfica 7).



Gráfica 7. Media del nivel de insulina plasmática a 4 y 8 semanas. * diferencias significativas respecto del grupo control, # diferencias significativas respecto del grupo vanadio, % diferencias significativas respecto del grupo sacarosa. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM.

En el caso del glucagon, tanto a la cuarta como a la octava semanas se observó la disminución estadísticamente significativa con respecto del control en el grupo V, S Y V+S (Gráfica 8).

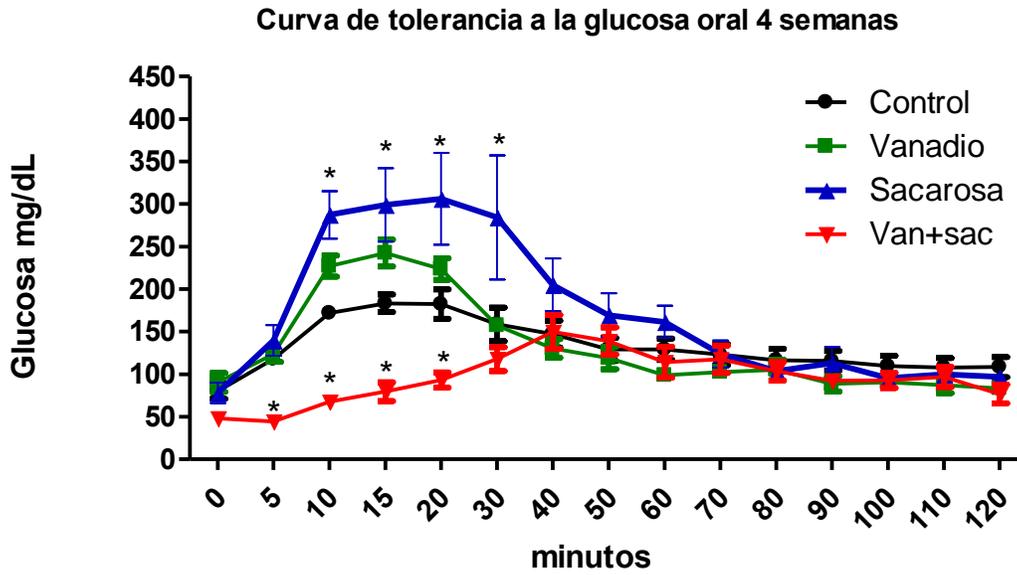


Gráfica 8. Media del nivel de glucagon plasmático de ratones a las 4 y 8 semanas * diferencias significativas respecto del grupo control, % diferencias significativas respecto del grupo sacarosa. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM.

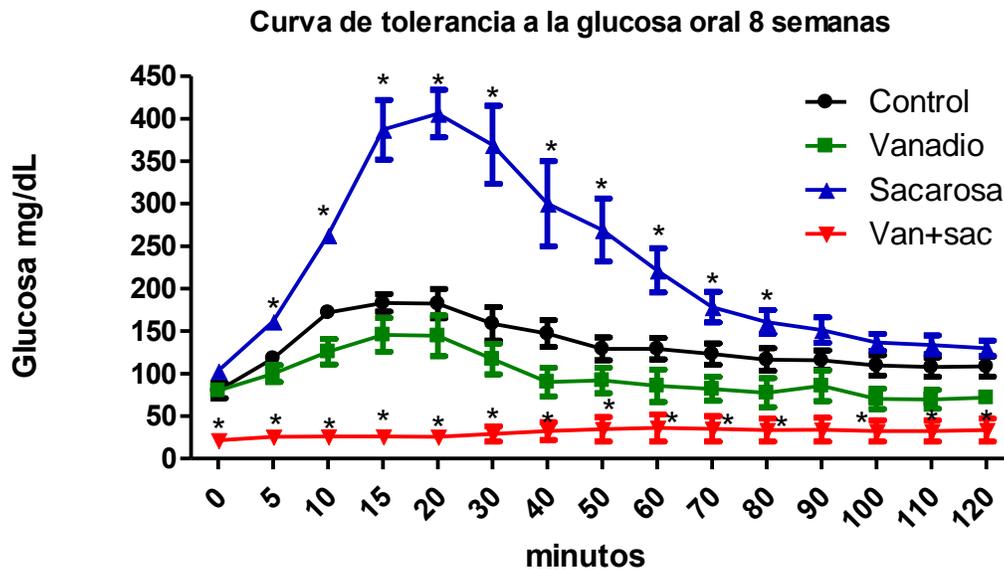
7.6 Curvas de tolerancia a la glucosa

De acuerdo con las curvas de los animales del grupo de V+S se observó que por la vía oral la curva no alcanzó ningún pico, manteniendo así a los ratones en hipoglucemia (Gráficas 9 y 10). Por esta razón se decidió administrar la glucosa por vía intraperitoneal para confirmar o descartar que la glucosa no se absorbiera.

En las pruebas de tolerancia a la glucosa por vía intraperitoneal a las 2 y 4 semanas se observó desde la segunda semana que el grupo V y V+S presentaban dificultad para absorber glucosa, dado que no se notó un pico tan marcado ni tan alto como el de los animales del grupo control, sin embargo, si fueron capaces de absorber y regular la glucosa (Gráficas 11 y 12).

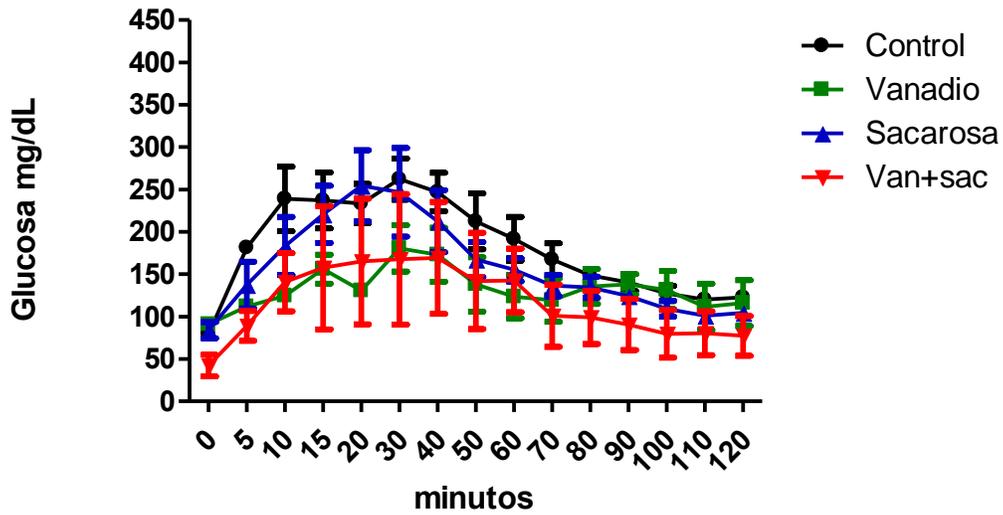


Gráfica 9. Comportamiento de la glucemia en la prueba de tolerancia a la glucosa por administración oral a las 4 semanas. * diferencias significativas respecto del grupo control. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM.



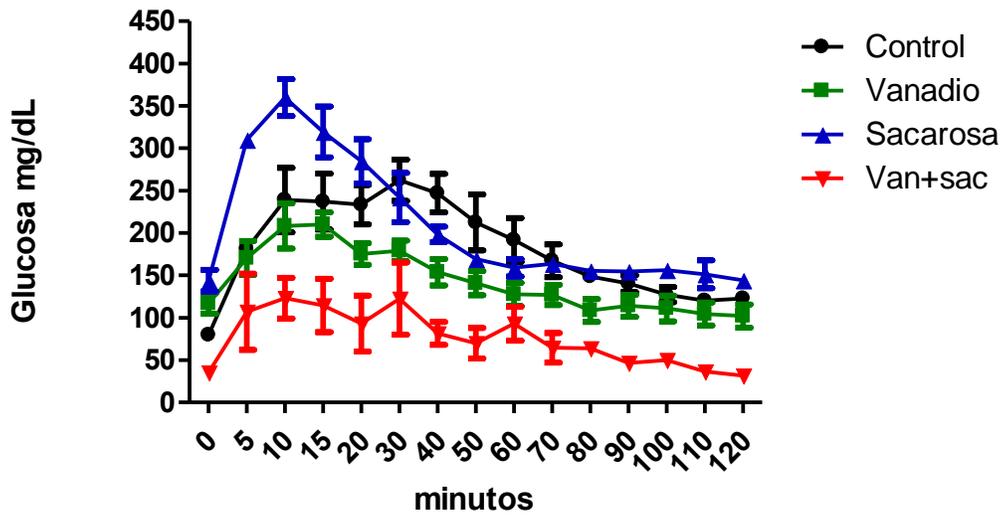
Gráfica 10 Comportamiento de la glucemia en la prueba de tolerancia a la glucosa por administración oral a las 8 semanas. * diferencias significativas respecto del grupo control. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM.

Curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal 2 semanas



Gráfica 11. Comportamiento de la glucemia en la prueba de tolerancia a la glucosa por administración intraperitoneal a las 2 semanas. * diferencias significativas respecto del grupo control. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM.

Curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal 4 semanas



Gráfica 12. Comportamiento de la glucemia en la prueba de tolerancia a la glucosa por administración intraperitoneal a las 4 semanas. * diferencias significativas respecto del grupo control. ANOVA, Tukey; $p < 0.05$; Media \pm SEM.

Con las curvas de tolerancia a la glucosa por vía intraperitoneal, se observó que por esta vía son capaces de absorber la glucosa, pero la capacidad de regularla se ve enormemente alterada tardando mucho más tiempo en hacerlo; sin embargo, al paso del tiempo regresan a la hipoglucemia que se manifestó al inicio de la curva.

8. Discusión

La inhalación de vanadio, la ingesta de sacarosa y la combinación de ambos factores alteró los parámetros relacionados con la regulación de la glucosa, como la glucemia en ayuno, donde se observa hiperglucemia en el grupo S e hipoglucemia en el grupo V+S, la incapacidad de absorber la glucosa por vía oral del grupo V+S, la incapacidad de mantener la normoglucemia en el grupo V+S y sacarosa, la disminución de glucagon en plasma de los grupos V y V+S y el aumento de insulina en plasma en el grupo S.

Todos estos cambios repercutieron en el peso y la circunferencia abdominal la cual disminuyó en el grupo V y V+S, en la ingesta de comida y bebida en todos los grupos expuestos y de manera inesperada en la supervivencia del grupo V+S.

8.1 Supervivencia

El grupo V+S presentó la muerte del 40% de individuos a la cuarta semana, posteriormente siguieron falleciendo paulatinamente hasta el final del experimento. Los demás grupos no presentaron muertes ajenas al protocolo.

La muerte de los individuos pudo deberse a que al ingerir de manera constante *ad libitum* la bebida con sacarosa en la etapa temprana del experimento posiblemente propició la salida de insulina al torrente sanguíneo para así llevar a cabo la internalización de glucosa. De esta manera el vanadio, a través de su acción hipoglucemiante (Srivastava 2004), favoreció que la gran cantidad de receptores activados no pudieran ser desfosforilados por la inhibición de las proteínas Tirosina fosfatasas (Samet *et al.* 1999). En consecuencia, esto provocaría un mayor tiempo para la internalización de glucosa y a su vez, episodios de hipoglucemia que al final dieron como resultado el cuadro de hipoglucemia severa, como fue reportado por Espinoza-Zurutuza (2014) y Albarrán-Alonso (2015) con el mismo modelo de inhalación con una concentración de vanadio más alta.

Probablemente, el estado de hipoglucemia a causa de la ingesta de sacarosa y la inhalación de vanadio provocó que los individuos obtuvieran sustratos energéticos de otras fuentes como el tejido adiposo y el músculo esquelético causando una disminución

en el peso y la circunferencia abdominal, que mantuvo a los ratones con vida hasta que las fuentes externas de aporte no fueron suficientes para contrarrestar la hipoglucemia, que los llevó a la muerte.

Aunado a esto, los individuos disminuyeron la ingesta de bebida y comida además de tener problemas para regular correctamente su glucemia con un estado de hipoglicemia persistente, lo que se evaluó con una prueba oral de tolerancia a la glucosa cuyos resultados se discutirán posteriormente y puede provocar la muerte por desnutrición.

La hipoglucemia produce alteraciones principalmente en el sistema nervioso y en el cardiovascular provocando adinamia, somnolencia, fatiga, pérdida de conocimiento y hasta convulsiones (Fox 2011). El daño al sistema cardiovascular presumiblemente pudo aumentar la presión arterial sistólica y la frecuencia cardiaca por la presencia de catecolaminas como respuesta a la hipoglucemia. También puede provocar un aumento en la viscosidad de la sangre lo que es posible que derive en isquemia y trombosis (Firer *et al.* 2011). Todos estos factores pudieron combinarse para dar como resultado la muerte de los individuos.

8.2 Ingesta de comida y bebida

Los individuos de los grupos V, S y V+S disminuyeron la ingesta de bebida y comida de manera progresiva durante todo el experimento.

El vanadio tiene un efecto anorexigénico en el cual se involucran diferentes condiciones en el individuo. A nivel neuroendocrino aumenta la producción de leptina de manera independiente a la activación de los receptores de insulina presentes en el núcleo arcuato y paraventricular (Wang *et al.* 2002), el cual también puede estar inhibiendo la generación de neuro péptido Y (NPY) como se ha reportado en experimentos con bis maltolato oxovanadio (Wang *et al.* 2001).

Otro proceso involucrado en la anorexia es la inflamación, en la cual el aumento en la presencia de marcadores inflamatorios (Jhonson *et al.* 2002) como el interferón α (IFN α),

la interleucina 1 (IL-1), interleucina 2 (IL-2) y el TNF- α han sido evaluados en pacientes con inflamación crónica que reducen el consumo de sus alimentos (Plata-Salaman 1998).

La concentración elevada de diversos marcadores de inflamación y citocinas proinflamatorias pueden provocar anorexia en pacientes en hemodiálisis y procesos infecciosos (Jhonson *et al.* 2002; Kalantar *et al.* 2004).

En diversos modelos experimentales se ha observado que el vanadio aumenta el nivel de citocinas proinflamatorias como la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) (Falcón-Rodríguez 2008; Pantoja-Urban 2012), y provoca inflamación en diferentes órganos como el pulmón, el hígado y el páncreas (Cano-Gutiérrez *et al.* 2009; Fortoul *et al.* 2011).

En otros estudios se ha observado la disminución en el consumo de alimentos, en exposiciones por vía subcutánea de 0.9 mg/kg de vanadato de sodio (Bayati *et al.* 1989), por vía intraperitoneal, 3 mg/kg de metavanadato de sodio (Sasi *et al.* 1994), por vía oral de bis maltolato oxovanadio (Wang *et al.* 2001) y por vía inhalada, el pentóxido de vanadio (Espinoza-Zurutuza *et al.* 2017).

Estos factores posiblemente fueron los causantes de la disminución en la ingesta de alimento en el grupo V y V+S.

Por otro lado, la bebida con sacarosa, al ser un aporte en exceso de kcal, aumentó la producción de leptina y la regulación del neuro péptido Y (NYP) por la acción de la insulina que se elevan cada vez que se obtienen calorías.

La gran cantidad de calorías ingeridas con el agua con sacarosa satisfizo las necesidades energéticas de los individuos que la consumían, por lo cual redujeron la ingesta de comida (Spector y Smith 1984).

Existen estudios en los que al agregar carbohidratos al agua de bebida observan una disminución en el consumo de alimento, un estudio en ratas Wistar evaluó el descenso de ingesta de alimento durante 20 semanas al beber agua con sacarosa al 30% (El Hafidi *et al.*

2001) y en otro estudio con ratas Sprage Dawley que ingirieron fructosa-sacarosa y glucosa al 25% con un seguimiento de 16 meses (Kizhner *et al.* 2002).

En el grupo de V+S pudieron presentarse las repercusiones causadas por ambos factores, sin embargo, la adinamia que se observó en los individuos pudo haber sido otro factor que impidiera su correcta alimentación.

Existen diferentes estudios donde se observa que la exposición a vanadio reduce la ingesta de bebida.

Se ha reportado que la molaridad de las bebidas azucaradas es inversamente proporcional al consumo de éstas, que explicaría la disminución en el consumo de agua en el grupo de sacarosa. En este estudio se utilizaron concentraciones molares ascendentes de sacarosa en el agua de bebida y se observó que el punto máximo de ingesta fue en la concentración de 0.5M, mientras que al ir aumentando y al llegar a la concentración de 1 M decreció considerablemente el consumo de la bebida (Spector y Smith 1984).

8.3 Registro del peso y la circunferencia abdominal

Lo individuos del grupo V y V+S presentaron una disminución en el peso y la circunferencia abdominal, mientras que el grupo sacarosa no evidenció cambios con respecto del control que mostró una curva de crecimiento normal según el manual de Charles River Laboratories (2011).

Como se explicó en el apartado anterior el vanadio es un potente anorexigénico capaz de alterar diferentes procesos en el organismo que propician la falta de apetito, de esta forma se favorece la pérdida de peso ya que no se obtiene alimento como se explicó en el apartado anterior, y como consecuencia el empleo de sustratos energéticos sintetizados por otros órganos como el tejido adiposo y el músculo esquelético con el fin de mantener la homeostasis energética en el organismo, pero al utilizarse de manera recurrente y al agotarse estos recursos se propicia la disminución en el peso y en la circunferencia abdominal.

Diversos estudios han reportado una baja de peso en individuos que por diferentes vías se les ha administrado distintos compuestos de vanadio como el bis maltolato oxovanadio y el vanadato disuelto en su agua de bebida en concentraciones que van de 0.2 a 0.8 mg/mL durante 10 semanas (Meyerovitch *et al.* 1989).

En el caso de la circunferencia abdominal de los individuos en el grupo V presentaron una disminución desde la segunda semana mientras que a la octava semana los individuos de los grupos V y V+S también la mostraron.

En el grupo sacarosa, a las 8 semanas, a pesar de consumir un mayor número de calorías provenientes de la bebida, los sustratos energéticos que aporta la bebida azucarada no son utilizados para la síntesis de proteínas sino para el aumento del tejido adiposo, por lo cual, a este tiempo, no manifestaron un incremento significativo en el peso ni en la circunferencia abdominal comparado con el control.

8.4 Glucemia

El grupo V+S presentó hipoglucemia a la cuarta y la octava semanas, por el efecto del vanadio como hipoglucemiante en combinación con el aumento de la insulina en plasma provocados cada vez que el individuo tomaba agua con sacarosa, este incremento constante en la insulina da como resultado la presencia de más receptores de insulina activados que mandan la señal para la translocación de GLUTs a la membrana plasmática y la internalización de glucosa a las células sensibles a la insulina. El vanadio al ser un inhibidor de proteínas tirosina fosfatasa provoca que la subunidad β del receptor de insulina no sea desfosforilada por lo cual la cascada de señalización no se desactiva y propicia la internalización de glucosa durante un mayor tiempo.

En el caso de los individuos que sólo inhalaban vanadio no presentaron hipoglucemia en ninguno de los dos tiempos, esto pudo ser provocado porque a pesar de que el vanadio es un hipoglucemiante, la concentración de este en el organismo posiblemente no fue suficiente para mantener activados a los receptores de insulina que podrían activarse, que son menores en comparación con la gran cantidad de receptores que se activan al consumir carbohidratos como el caso del grupo V+S.

Usando el mismo modelo experimental con una concentración más alta de vanadio se observó hipoglucemia a las 8 semanas lo que podría indicar que el vanadio es capaz de activar al receptor de insulina y a proteínas intermedias en la cascada de señalización del receptor por sí solo, gracias a su parecido con el grupo fosfato, con lo cual una concentración más alta de vanadio en el organismo tendría la capacidad de activar de manera significativa la entrada de glucosa a las células.

Existen diferentes estudios enfocados a probar compuestos de vanadio como tratamiento contra la diabetes y como hipoglucemiantes en pacientes con hiperglucemia, que han demostrado bajar los niveles de glucosa en animales y seres humanos diabéticos y no diabéticos comprobando el efecto hipoglucemiante del vanadio.

Los individuos del grupo sacarosa presentaron hiperglucemia a las 8 semanas lo cual está ampliamente reportado en animales con ingestas calóricas mayores, en especial de bebidas azucaradas a diferentes concentraciones. Este proceso se debe a la falta de sensibilidad de la insulina para internalizar la glucosa provocada por una adipocina llamada resistina, la cual disminuye la sensibilidad de los órganos a responder a la presencia de ésta, evitando la internalización de glucosa y manteniéndola en el torrente sanguíneo que se traduce en hiperglucemia.

8.5 Concentración de insulina y glucagon plasmáticos

La presencia de insulina en plasma aumentó en el grupo sacarosa a las 8 semanas, los demás grupos no presentaron cambios en ningún tiempo en comparación con el control.

En varios estudios, en donde se han probado compuestos de vanadio como hipoglucemiantes en los cuales se ha observado la capacidad de éste metal de bajar los niveles de glucosa independientemente a la concentración de insulina ya que en esos estudios ésta no varía en relación con su control demostrando que no es necesaria la presencia de insulina para que el vanadio realice su efecto hipoglucemiante. Sin embargo, la constante activación de su receptor por la ingesta de sacarosa podría propiciar la entrada de glucosa a las células en mayor cantidad como es el caso del grupo V+S.

En el caso del grupo sacarosa, los individuos que ingieren de manera crónica bebidas azucaradas secretan mayor cantidad de insulina al torrente sanguíneo (hiperinsulinemia) para tratar de internalizar a la glucosa excedente y llegar a la normogluemia. Dado que los individuos, en el grupo que consumió sacarosa, presentaron hipergluemia es normal observar una mayor presencia de insulina, sin embargo, la acción de otras adipocinas como la resistina impide la acción de la insulina, lo que conduce al organismo a secretar más insulina al torrente sanguíneo lo que ha sido comprobado en diversos estudios.

Los individuos que presentan hipergluemia también pueden tener obesidad y aumento en la grasa visceral, con lo cual procesos relacionados con adiposinas como la resistina que pueden provocar resistencia a la insulina.

La presencia de glucagon en plasma disminuyó en todos los grupos experimentales a la cuarta y octava semanas.

En el grupo de vanadio y sacarosa este decremento puede ser provocado por la falta de necesidad de subir el nivel de glucosa sanguínea dado que a las 4 semanas se encontraban en normogluemia; sin embargo, a las 8 semanas el grupo vanadio presentaba normogluemia mientras que el grupo sacarosa hipergluemia, en ambos estados no existe la necesidad de subir los niveles de glucosa.

En el caso del grupo vanadio+sacarosa a las 4 como a las 8 semanas al estar en hipogluemia sí existía la necesidad de liberar glucosa al torrente sanguíneo, efecto natural provocado por el glucagon sin embargo posiblemente no salió al torrente sanguíneo por una falla al momento de secretar las vesículas con la hormona puesto que el vanadio evita la correcta polimerización de los componentes del citoesqueleto como es el caso de la γ -tubulina, lo que da como resultado el aumento en la granularidad de las células y entorpece la salida de sus vesículas como se ha visto en el caso de las células en el acino pancreático, en los megacariocitos y en las células α y β de los islotes de Langerhans.

8.6 Curvas de tolerancia a la glucosa y diferencia en la absorción

En las curvas de tolerancia a la glucosa por administración oral, a las 4 semanas, el grupo de sacarosa presentó un mayor pico de absorción de glucosa mientras que en el grupo V+S se observó un retardo en la absorción comparado con las curvas del grupo control. El grupo vanadio no mostró cambios, sin embargo, a este tiempo todos los animales fueron capaces regular su glucosa y mantener la normoglucemia.

A las 8 semanas el grupo de sacarosa evidenció un pico de absorción de glucosa mayor y tardó más tiempo en regular la glucosa administrada, sin embargo bajo el estímulo de la absorción de glucosa fue capaz de llegar a la normoglucemia sin embargo el grupo de V+S no fue capaz de absorber por vía oral la glucosa administrada, esto se notó a través de que no se vio pico de absorción y además no fueron capaces de regular su glucosa quedando en un estado de hipoglucemia a pesar de haberle sido administrada la glucosa. El grupo vanadio no manifestaron diferencias significativas con respecto al control.

De esta forma al no observar absorción por parte de los animales del grupo V+S se decidieron realizar curvas de tolerancia a la glucosa por administración oral las cuales no arrojaron diferencias con respecto al control a las 2 semanas, sin embargo a las 4 semanas se observó una diferencia en el pico de absorción de los animales del grupo sacarosa mientras que el grupo V+S presentó una curva menor en comparación con el control que mantuvo a los ratones en hipoglucemia, sin embargo en este tipo de administración, se observó la capacidad de absorber glucosa por vía intraperitoneal lo que sugiere que existe algún tipo de daño en los enterocitos que impide la correcta absorción de glucosa en estos animales.

9. Conclusión

La inhalación subcrónica de vanadio, la ingesta de bebidas azucaradas y la combinación de ambos factores ocasionaron la disminución progresiva en la ingesta de bebida y comida, además de provocar un estancamiento en el peso exceptuando al grupo que sólo ingirió bebidas azucaradas.

El nivel de insulina del grupo sacarosa estuvo elevado, lo cual, junto con los resultados arrojados por la curva de tolerancia a la glucosa, sugieren resistencia a la insulina, ya que dicho aumento no fue capaz de reducirse a las dos horas como lo marcan los lineamientos del estudio.

No se observaron cambios en la concentración de insulina, ni en el grupo vanadio ni en la combinación de ambos factores; sin embargo, esta última provocó un estado de hipoglucemia severo que no pudo ser regulado dada la poca presencia de glucagon en plasma; además de la incapacidad para absorber glucosa por vía oral de los individuos de dicho grupo. Esto representaría un riesgo a la salud mucho mayor, sobre todo en individuos ocupacionalmente expuestos y en las ciudades en las que exista contaminación atmosférica como un factor importante en el desarrollo y en los problemas para controlar enfermedades que tienen que ver con el metabolismo energético como la obesidad y la DM2.

10. Perspectivas

Estudiar el efecto del vanadio y la ingesta de bebidas azucaradas en la capacidad para internalizar nutrientes en diferentes órganos como el músculo esquelético el tejido adiposo y el intestino delgado.

Medir la concentración de insulina y glucagon en plasma presente al realizar curvas de tolerancia a la glucosa y ver su relación con la capacidad de regulación de la glucosa.

Analizar la histología y la expresión de proteínas transportadoras de glucosa en órganos determinantes en la regulación de la glucosa como el músculo esquelético, el tejido adiposo y el intestino delgado y relacionarlos con la concentración de glucosa plasmática.

11. Literatura citada

Altamirano Lozano M. "El vanadio en el tratamiento de la Diabetes, manejo". 2° Congreso Nacional de Química Médica, México, Distrito Federal, 2006.

Alvarado A., Avelino J., Velasco M., Torres-Jacome J., Hiriart M. Metabolic Syndrome remodels electrical activity of the sinoatrial node and produces arrhythmias in rats. *Plos One* 2013; 8(11) e76534.

Amico JA., Vollmer RR., Rinaman L., Mediar JA., Hou-Ming C. Enhanced initial and sustained intake of sucrose solution in mice with oxytocin gene deletion. *American Journal of Physiology* 2005; 289 R1798-R1806.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for vanadium. Department of Health and Human Services. U.S., 2009.

Ávila-Costa MR., Colín-Barenque L., Zepeda-Rodríguez A., Antuna SB., Saldiva L., Espejel-Maya G., Mussali-Galante P., Ávila-Casado MC., Reyes-Olivera A., Anaya-Martinez V., Fortoul T. Ependymal epithelium disrupt after Vanadium Pentoxide Inhalation. A mice experimental model. *Neuroscience Letters* 2005; 381: 21-25.

Bayati MA., Giri SN., Raabe OG., Rosenblatt LS., Shifine M. Time and dose-response study of the effects of vanadate on rats: morphological and biochemical change in organs. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1989; (5-6): 435-455.

Berceloux D. Vanadium. *Clinical Toxicology.* 1999, 37-2; 265-278.

Barquera S., Hernández-Barrera L., Lizbeth Tolentino M., Espinosa J., Wen S., Rivera B. Energy intake from beverages is increasing among Mexicans Adolescents and Adults. *The journal of Nutrition.* 2008. 138(12):2454-2461.

Boulassel B., Sodeg N., Roussel O., Perrini M., Belhad-Tahar. Fatal Poisoning by Vanadium. *Forensic Science International.* 2011; 206: e79-e81.

Busserolles J., Rock E., Gueux E., Mazur A., Grolier P., Rayssiguier Y. Short-term consumption of a high-sucrose diet has a pro-oxidant effect in rats *British Journal of Nutrition* 2002; 87:337–342

Carter JD., Ghio AJ., Samet JM., Devlin RB. Cytokine production by human airway epithelial cells after exposure to an air pollution particle is metal dependent. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 146:180-188.

Cano-Gutierrez G., Acevedo-Nava S., Santamaria A., Altamirano-Lozano M., Cano-Rodríguez MC., Fortoul T. Hepatic megalocytosis due to vanadium inhalation: Participation of oxidative stress. *Toxicol Ind Health* 2012; 28(4) 353-360.

Cano-Gutiérrez G., Falcón-Rodríguez C., Montañón LF., Rodríguez-Lara V. Pancreatic changes and vanadium inhalation. *Curr. Topics Toxicol.* 2009. 6:39-44.

Cao D., Lu H., Lewis T., Li L. Intake of sucrose sweetened water induces insulin resistance and exacerbates memory deficits and amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *The Journal of Biochemical Chemistry* 2007; 282: 50 pp.

Castrejón V., Carbó R., Martínez M. MECANISMOS MOLECULARES QUE INTERVIENEN EN EL TRANSPORTE DE LA GLUCOSA. *REB* 2007; 26(2): 49-57.

CD-1® IGS Mouse Model Information Sheet 2011. Charles River Laboratories International Inc. disponible en www.criver.com

Chen GC., Huang CY., Chang MY., Chen SW., Huang CJ., Chao PM. Two unhealthy dietary habits featuring a high fat content and sucrose containing beverage intake, alone or in combination inducing in Wistar Rats and C57BL/6J mice. *Metabolism Clinical and Experimental*. 2009; 155-164.

Chou YC., Wang SY., Chen GC., Lin YS., Chao PM. The functional assessment of alpinia praelongata in Metabolic Syndrome induced by sucrose containing drinking water in mice. *Phytother Res* 2009; 23: 558-563.

Colín-Barenque L., Martínez- Hernández MG., Baiza-Gutman LA., Ávila-Acosta MR., Ordóñez-Librado JL., Bizarro-Nevarés P., Rodríguez-Lara V., Piñón-Zarate G., Rojas-Lemus M., Mussali-Galante P., Fortoul T. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in central nervous system and their modification after Vanadium inhalation. *J Appl. Toxicol* 2007; 28: 718-723.

Comisión para la Cooperación Ambiental de América del Norte. Aire y Atmósfera. Partículas suspendidas. El mosaico de América del Norte: panorama de los problemas ambientales más relevantes. *Cec.org*. 2014

Coronado J., Del Razo L., Garcia G. Inorganic arsenic exposure and type 2 diabetes mellitus in Mexico. [Environmental Research](#). 2007; 104(3): 383–389

Donaldson k., Stone V., Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles. *Ann Ist Super Sanità* 2003; 39(3):405-410

El Hafidi M., Cuellar A., Ramírez J., Baños G. Effect of sucrose addition in drinking water induces hypertension in the rats on liver microsomal $\Delta 9$ and $\Delta 5$ -desaturase activities. *The journal of nutritional Biochemistry*. 2001; 7 (2) . 396-403.

Environmental Protection Agency (EPA). Office of air and radiation. 2003.

European Food Safety Authority (EFSA). Opinion of Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission Related to the Tolerable Upper Intake Level of Vanadium. *EFSA Journal*. 2004; 33; 1-22.

Firer BM., Heller SR., Scherthner G. Hypoglycemia and Cardiovascular Risk. *Diabetes and Cardiovascular Disease* 2011; 34: 132-137

Fortoul T., Rojas M. Bone and teeth effects in Vanadium: its impact on Health. Nova Science Publishers. USA. 2007; 1-6

Fortoul T., Quan A., Sanchez I., Lopez I., Bizarro P., Mendoza M., Osorio L., Espejel G., Avila M., Avila-Costa M., Colín L., Villanueva D., Olaiz F. Vanadium in ambient air: concentrations in lung tissue from autopsies of Mexico City residents in the 1960s and 1990s. Archives of Environmental Health. 2002; 57:5; 446-449.

Fortoul T., Rojas M. Chapter 1: Vanadium as an air pollutant. Vanadium: its impact on Health. Nova Science Publishers. USA. 2007; 1-6

Fortoul T., González-Villalva A., Piñón-Zarate G., Rodríguez-Lara V., Montañó LF., Saldivar-Osorio L. Ultrastructural megakaryocyte modifications after vanadium inhalation in spleen and bone marrow. Journal of Electron Microscopy. 2009; 58(6): 375–380

Fortoul T., Rodriguez V., Gonzalez-Villalva A., Rojas M., Cano C., Ustarroz M., Colín L., Montañó L., Garcia I., Bizarro P. Vanadium inhalation in a mouse model for the understanding of air-suspended particle systemic repercussion. J Biom Biotechnol., 2011:951043 doi: 10.1155/2011/951043. Epub 2011 May 22.

Fortoul T., Rodriguez-Lara V., Mussali-Galante P., Diaz-Bech p., Montañó F. Vanadium and respiratory system , in Vanadium: its impact on Health. Nova Science Publishers. USA .2007; 1-6

Fox Stuart I. Fisiología Humana. Doceava edición. México. McGraw Hill. Educación. 2011, pp341-342.

Gallego A., González I., Sánchez B., Fernández P., Garcinuño R., Bravo J., Pradana J., García M., Durand J. Contaminación atmosférica. UNED Publicaciones. Madrid. 2012; 63.

García F. Manual de inmunohistoquímica. Laboratorio de Patología Molecular. Instituto Nacional de Pediatría. México. 2012.

González-Villalva A., Fortoul T., Ávila-Acosta MR., Piñón-Zarate G., Rodríguez-Lara V., Martínez-Levy G., Rojas-Lemus M., Bizarro-Nevarés P., Díaz-Bech P., Mussali-Galante P., Colín-Barenque L. Thrombocytosis induced in mice after subacute and subchronic Vanadium Pentoxide inhalation. Toxicol and Industrial Healt. 2006; 22: 113-116.

González-Villalva A. Piñón-Zarate G., De la Peña-Díaz A., Flores-García M., Bizarro-Nevarés P., Rendón-Huerta E., Colín-Barenque L., Fortoul T. Effect of Vanadium on platelet function. Environ. Toxicol . Pharmacol. 2011: 32: 447-456.

González-Villalva A., Rodriguez-Lara V., Montañó LF., Lima-Melo A., Ramírez G., Fortoul T. Blood changes generated after Vanadium inhalation. Curr. Topics Toxicol. 2009. 6:31-38.

Hiriart M. y Vidaltamayo R. Cuestión de hormonas: el papel de las hormonas del páncreas en la salud y en la diabetes. Ciencia. 2002; 53 (3): 38-45.

Inventario de emisiones de contaminantes criterio de la Zona Metropolitana del Valle de México. Secretaria del Medio Ambiente del Distrito Federal. 2010; 17-31.

Janghorbani M., Momeni F., Mansourian M. Systematic review and metaanalysis of air pollution exposure and risk of diabetes. *European Journal of Epidemiology* 2014; 29: 231-242

Jhonson PM., Vogt SK., Burney MW., Muglia LJ. COX-2 inhibition attenuates anorexia during inflammation without impairing cytokine production. *American Journal of Physiology – Endocrinology metabolism* 2002; 282: 650-656.

Kalantar K., Block G., McAllister CJ., Humphreys MH., Koppie JD., Appetite and inflammation nutrition anemia and clinical outcome of hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:299-307.

Kizhner T., Werman MJ., Long-term fructose intake: biochemical consequences and altered renal histology in male rat. *Metabolism*. 2002; 51(12): 1538-1547.

Krämer U., Herder C., Sugiri D., Strassburger K., Schikowski T., Ranft U., Rathmann W. Traffic-Related Air Pollution and Incident Type 2 Diabetes: Results from the SALIA Cohort Study. *Environ Health Perspect* 2010; 118:1273–1279

Larqué C., Myrian Velasco, Victor Navarro-Tableros, Mariana Duhne, Jonathan Aguirre, Gabriela Gutiérrez-Reyes, Jaime Moreno, Guillermo Robles-Díaz, Enrique Hong and Marcia Hiriart. Early Endocrine and Molecular Changes in Metabolic Syndrome Models. *IUBMB Life* 2001; 63(10): 831–839.

Lazar Mitchell. The Humoral Side of Insulin Resistance. *Nature Medicine*. 2006. 12: 43-44.

Lorte D., Crespo C., Rodriguez A., Barreto C., Vianna C., Barbosa M., Aguilar M., Madarim S. Renin angiotensin System blockers protect pancreatic islets against diet-induced obesity and resistance in mice. *Plos One* 2013; 8(7) e67192.

Matía P., Edurne P., Calle A. NUTRICIÓN Y SÍNDROME METABÓLICO. *Rev Esp Salud Pública* 2007; 81: 489-505

Mailhes J., Hilliard C., Fuseler J., London S., Vanadate, an inhibitor of tyrosine phosphatases, induced premature anaphase in oocytes and aneuploidy and polyploidy in mouse bone marrow cells. *Elsevier, Mutation Research* 2003; 538: 101-107.

Martínez-Pedraza Michelle. Tesis de licenciatura. Efecto del pentóxido de vanadio en ovario y epitelio vaginal. Modelo murino de exposición por inhalación. Universidad Nacional Autónoma de México. 2007. 81 páginas.

Mendivil Co . Bebidas azucaradas y riesgo de obesidad y diabetes. *Revista de la Asociación Latino Americana de Diabetes (ALAD)* 2013; 3(1); 387-396.

Meyerovitch J., Shechter Y., Amir. Vanadate stimulates in vivo glucose uptake in brain and arrests food intake and body weight in rats. *Physiol Behav*. 1989; 45(6): 1113-6.

Mussali-Galante P., Rodriguez-Lara V., Ávila-Acosta MR., Fortoul T. Chapter 2: Mechanism of Vanadium Toxicity, in: Vanadium as an air pollutant. Vanadium: its impact on Health. Nova Science Publishers. USA.2007; 1-6

Mussali-Galante P, Rodríguez-Lara V, Hernández-Tellez B, Avila-Costa MR, Colín-Barenque L, Bizarro-Nevarez P, Martínez-Levy G, Rojas-Lemus M, Piñón-Zarate G, Saldivar-Osorio L, Diaz-Beck P, Herrera-Enríquez MA, Tovar-Sánchez E, Fortoul T. Inhaled vanadium pentoxide decrease gamma-tubulin of mouse testes at different exposure times. Toxicol Ind Health. 2005 Oct; 21(9):215-22.

Nakayama T., Kosugi T., Gersch M. Thomas C., Sanchez-Lozada L., Lanaspá M., Roncal C., Perez S., Richard J., Nakagawa T. Dietary fructose causes tubulointerstitial injury in the normal rat kidney. Am J Physiol. 2010; 298:

Norma Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-1993. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 26 de Septiembre de 2005.

Norma Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 20 de Agosto de 2014.

Ó Neal S., Rhoads D., Racker E. Vanadate inhibitor of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase and other ATPases. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1979; 89:3, 845-850.

Pantoja Urban Andrea Haree. Tesis de licenciatura: El efecto de la inhalación de vanadio en la presencia de IL-6, MMP-9 y MMP-12. Diferencia por sexos. 2012; 66p.

Perez I., Roque P., El Hafidi M., Diaz E., Baños G. Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome. Influence of gender. Free Radical Research 2009; 43(8): 761-771.

Piñón-Zarate G., Rojas-Lemus M., Garcia-Zepeda E., Fortoul T. Metals and immune system , in Metals and Toxicological Implications in Health. Research Signpost. 2007; 43-64.

Plata- Salaman CR. Cytokines and anorexia: a brief overview. School of life and Health Sciences. University of Delaware. Newark. 1998. 19716-2590. USA.

Qinghua Sun, Peibin Yue, Jeffrey A. DeJulius, Carey N. Lumeng, Thomas Kampfrath, Michael B. Mikolaj, Ying Cai, Michael C. Ostrowski, Bo Lu, Sampath Parthasarathy, Robert D. Brook, Susan D. Moffatt-Bruce, Lung Chi Chen and Sanjay Rajagopalan. Ambient Air Pollution Exaggerates Adipose Inflammation and Insulin Resistance in a Mouse Model of Diet-Induced Obesity. American Heart Association 2009; 539-545.

PROAIRE. Programa para Mejorar la Calidad del Aire de la Zona Metropolitana del Valle de México 2011-2020, SEMARNAT, INE, SSA, Comisión Ambiental Metropolitana.

[Disruption of microtubule assembly and spindle formation as a mechanism for the induction of aneuploid cells by sodium arsenite and vanadium pentoxide.](#) Ramírez P, Eastmond DA, Laclette JP, Ostrosky-Wegman P. Mutat Res. 1997;386(3):291-8.

Rodriguez-Lara V., Morales-Rivero A., Rivera-Cambas AM., Fortoul T. Vanadium inhalation induces actin changes in mice testicular cells. *Toxicol and Industrial Health* 2013; 32 (2): 367-374.

Rodriguez-Mercado J., Altamirano-Lozano M. Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Int. Contaminación Ambiental*. 2006, 22-4; 173-189.

Rojas L., Garibay V., Las partículas suspendidas, aeropartículas o aerosoles ¿Hacen daño a la salud? ¿Podemos hacer algo? *Gaceta Ecológica*, octubre-diciembre, numero 69, Instituto Nacional de Ecología. Distrito Federal, México, 2003; 29-44.

Rojas-Lemus M., Altamirano-Lozano M., Fortoul T. Sex differences in blood genotoxic and cytotoxic effects as a consequence of a Vanadium Inhalation: micronucleus assay evaluation. *J Appl. Toxicol*. 2014; 34: 258-264.

Romanko OP., Ali M., Mintz JD., Stepp DW. Insulin resistance impairs endothelial function but not adrenergic reactivity or vascular structure in fructose fed rats. *Microcirculations* 2009; 16: 414-423

Roncal CA., Lanaspas MA., Rivard CJ., Nakagawa T., Sanchez LG., Jalal D., Andres A., Tanabe K., Madero M., Li J., Cicerchi C., Mc Fann K., Sautin YY., Johnson R. Sucrose induces fatty liver and pancreatic inflammation in male breeder rats independent of excess energy stress. *Metabolism Clinical and Experimental* 2011; 60 (9) 1259-1270.

Samet J. Sibajoris R., Wu W., Graves L. Tyrosine phosphatases as targets in metal-induced signaling in human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999, 21; 357-364

Scottish Environmental Protection Agency (SEPA). Scottish Pollutant release inventory. 2006 en <http://apps.sepa.org.uk/spripa/Pages/Substancesinformation.aspx?pid=110>.

Sasi MM., Haider SS., Fakhiri M., Ghwarsha KM. Microchromatographic analysis of lipids, protein and occurrence of lipid peroxidation in various brain areas of vanadium exposed rats: a possible mechanism of vanadium neurotoxicity. *Neurotoxicology Summer* 1994; 15(2): 413-420.

Spector AC., Smith JC. A detailed analysis of sucrose drinking in the rat. *Physiology and Behavior* 1984; 33(1): 127-136.

Srivastava Aky Mehdi MZ. Insulino-mimetic and anti-diabetic effects of vanadium compounds. *Diabetic Medicine* 2004; 22: 2-13

Surwit RS., Feinglas MN., Rodin J., Sutherland A., Petro AE., Opara EC., Kuhn CM., Rebuffe S. Differential effects of fat and sucrose on the development of obesity and diabetes in C576/6J and A/J mice. *Metabolism* 1995; 55: 645-651.

Teichert T, Vossoughi M, Vierkötter A, Sugiri D, Schikowski T, *et al.* Association between Traffic-Related Air Pollution, Subclinical Inflammation and Impaired Glucose Metabolism: Results from the SALIA Study. *PLOS ONE* 2013; 8(12): e83042.

Vartanian L. PhD, Marlene B. Schwartz, PhD and Kelly D. Brownell, PhD. Effects of Soft Drink Consumption on nutrition and Health: A systematic Review and Meta-Analysis. Framing Health Matters. |American Journal of Public Health 2007;97(4) 667-675.

Velasco M., Larque C., Gutierrez G., Arrendondo R., Sanchez C., Hiriart M., Metabolic Syndrome induces changes in KATP channels and Ca currents in pancreatic beta cells. *Islets* 2012; (4):311.

Wang J., Han J., Zang Y., Guo W. Effects of Vanadate on Leptin Production from Isolated Rat Adipocytes. [Biological Trace Element Research](#) 2002; 85 (2) 171-182

Wang J., Yuen VG., McNeill JH. Effect of vanadium on insulin sensitivity and appetite. *Metabolism*. 2011; Vol 50 No. 6. . Pp 667-673.

Weitzenfeld H. Contaminación atmosférica y salud en América Latina. Boletín de la Organización Panamericana de la Salud. 1992; 26:1; 97-109.

World Health Organization (WHO). Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds. Concise International Chemical Assessment Document 29. Ginebra. 2001.

Yu C., Chen Y., Cline WG., Zhang D., Zong H., Wang Y., Bergeron R., Kim JK., Cushman SW., Cooney GJ., Atcheson B., White MF., Kraegen EW., Shulman GI. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation in insulin receptor substrate-1-associated phosphatidylinositol-kinase activity in muscle. *J Biol Chem* 2002; 277(52):50230-6.

Zuk M., Tzintzun G., Rojas L., Tercer Almanaque de datos y tendencias de la calidad del aire en nueve ciudades mexicanas. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT). 2007; 19-20.