



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

B I O L O G Í A

**Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de
ratón por exposición aérea a vanadio.**

T E S I S

Que para obtener el Título de Biólogo

Presenta

Díaz Mejía Sergio Axel

Directora de tesis:

Dra. Elia Roldán Reyes

Vo. B o.

Línea de Citogenética y Mutagénesis

Lab. 2 primer piso, UMIEZ-CII.

Ciudad de México

2021





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.

Esta Tesis se desarrolló en el Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis* (L-2 primer piso, clave de Registro **LI-FESZ-350115**), integrante de la UMIEZ- CII, de la *Facultad de Estudios Superiores Zaragoza*, **UNAM**, bajo la dirección de la *Dra. Elia Roldán Reyes*.

¡ A g r a d e c i m i e n t o s !

UNAM-PAPIIT Clave IN221919-3

Financiamiento del proyecto

Beca Titulación para Sergio Axel Díaz Mejía

No. de Folio: 3 7 9 2 1 9



¡ A g r a d e c i m i e n t o s !

Quiero agradecer en primera instancia y de manera muy especial a la **Dra. Elia Roldán Reyes**, por darme la oportunidad de pertenecer al equipo Citogenética y Mutagénesis, sin duda, la mejor etapa de mi estancia en la universidad, siempre agradeceré su profesionalismo y dedicación como asesora de nuestros proyectos, por todas las buenas pláticas acompañadas de café y por ser en un todo, una excelente profesora y amiga.

Agradezco de todo corazón a la **Dra. Leticia Morales Ledesma**, por formar parte de mi comité de sinodales y aportar mucho con su visión y conocimiento al proyecto en sus diferentes etapas, también por ser una de las mejores profesoras con las que cuenta nuestra universidad.

Agradezco mucho a la **Dra. María Elena Ayala Escobar**, por formar parte de mi comité de sinodales y aportar mucho con su particular visión y conocimiento al proyecto, igualmente por ser una de las mejores profesoras con las que cuenta nuestra universidad.

Quiero agradecer infinitamente a la **MVZ. Adriana Altamirano Bautista**, por formar parte de mi comité de sinodales y aportar mucho con su particular visión y conocimiento al proyecto, además de todo el apoyo que me brindó en el bioterio desde el principio.



¡ A g r a d e c i m i e n t o s !

Agradeceré siempre a mis compañeras y compañeros del laboratorio 2 primer piso, por todos esos buenos momentos, sin duda el mejor laboratorio de todos, y de manera muy especial a **Jesica Oliver** por todo el cariño, las risas y su apoyo en los peores momentos, y a **Alan Ortiz** por todas esas buenas platicas y comidas jugando al UNO, les recordare con mucho cariño.

Agradezco con todo el corazón a mis amigas y amigos zaragozanos por compartir tantos momentos especiales a lo largo de nuestra amada carrera, y por qué estuvieron junto a mí, apoyándome o jalándome las orejas cuando fue necesario, y que se volvieron para siempre como parte de mi familia, les recordare con muchísimo cariño y les deseo un futuro brillante.

Regina Díaz, Montserrat Bolaños, Estefany Solís, Ricardo Guzmán, Iván Ortiz, Luis Lara, Ashley Ordóñez, Diana Camarillo, Joselyn Anaya, Antonio Ramírez.

Finalmente quiero agradecer a la **M. en C. Elsa Eloísa Mariaca Meléndez**, por su profesionalismo como profesora en mis primeros pasos en un laboratorio y poder ser a la par una excelente amiga, y extendiendo mi agradecimiento a todo el personal docente y de limpieza, por tan importante labor.



¡ D e d i c a t o r i a !

**Dedicó en su totalidad el esfuerzo y el mérito de esta tesis,
A mis padres y hermanos, ya que, sin su guía, apoyo y amor,
probablemente me habría perdido en el camino.**



ÍNDICE

• RESUMEN	- 1 -
• INTRODUCCIÓN	
• Epitelio germinativo	- 2 -
• Espermatogénesis	- 5 -
• Toxicología del vanadio	- 8 -
• Antecedentes sobre el vanadio	- 11 -
• JUSTIFICACIÓN	- 13 -
• HIPÓTESIS	- 14 -
• OBJETIVOS	- 14 -
• MATERIALES Y MÉTODO	
• Grupos y tratamiento	- 15 -
• Obtención del material biológico	- 16 -
• Cuantificación del material celular	- 17 -
• RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
• Aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas	- 18 -
• Proporción de espermatogonias	- 27 -
• Índice mitótico espermatogonial	- 32 -
• Calidad espermática	- 35 -
• CONCLUSIONES	- 42 -
• PERSPECTIVAS	- 43 -
• REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 44 -
• ANEXO I.- ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	- 49 -
• ANEXO II.- PARTICIPACIÓN EN ACTIVIDADES DE DIVULGACIÓN	- 50 -

RESUMEN

Introducción: El vanadio presente en la atmósfera en forma de partículas es considerado un contaminante atmosférico, el cual, es emitido principalmente por la refinación y quema incompleta de combustibles fósil como el petróleo o carbón. Debido a su reducido tamaño de partícula ($PM_{2.5-10}$), la absorción por exposición aérea, aumenta en órganos blanco como pulmones, huesos, riñones y testículos, afectando así, la integridad celular y genética de tejidos y sistemas. El objetivo del presente trabajo fue analizar los efectos genotóxico, citotóxico y citostático del **pentóxido de vanadio (V_2O_5)** sobre células espermatozoales y calidad espermática de ratones expuestos por vía aérea en tratamiento sub-crónico.

Método: Se diseñaron cinco grupos experimentales, cada uno conformado por cinco ratones macho CD-1, tres de los grupos, se expusieron vía aérea a V_2O_5 en diferentes concentraciones (0.02, 0.04 y 0.08 M), dos grupos más, comprendieron al control: negativo (0.00 M) y positivo Mitomicina-C (0.002 M). Se empleó una modificación del ensayo de aberraciones cromosómicas (OCDE 483), consistente en la recuperación del epitelio germinativo para analizar y cuantificar la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (**ACE**) y numéricas (**ACN**), la proporción de los diferentes tipos de espermatogonia, célula madre (**A0**), intermedia (**In**) y diferenciada (**B**), además del índice mitótico espermatogonial (**IME**), se contabilizaron 50 C-metafasas y 2000 espermatogonias por ratón. Los epidídimos se disecaron para evaluar la calidad espermática: la **densidad** en cámara de Neubauer, y, se analizaron 400 espermatozoides por ratón para la **morfología**. La estadística empleada fue χ^2 -Y, Z para proporciones, y “t” de Student.

Resultados: Las ACE y ACN más recurrentes fueron los rompimientos cromosómicos y las euploidias respectivamente, denotando la genotoxicidad del Vanadio. La proporción de espermatogonias **A0** en ratones expuestos a [0.04 y 0.08 M] disminuyó significativamente ($p < 0.05$) en relación al control negativo. La proporción de espermatogonias **In** en ratones expuestos a [0.04 y 0.08 M] aumentó significativamente ($p < 0.05$). La proporción de espermatogonias **B** en ratones expuestos a [0.04 M] mostró aumento significativo ($p < 0.05$). El **IME** aumentó significativamente ($p < 0.05$), únicamente en ratones expuestos a [0.02 M]. La **calidad espermática** de ratones tratados con pentóxido de vanadio se vio afectada significativamente ($p < 0.05$) al reducirse la densidad en los grupos expuestos a [0.04 y 0.08 M], así como al aumento de las formas anormales en todos los grupos de exposición.

Discusión: Con base en los resultados anteriores, se concluye que la exposición aérea a V_2O_5 en tratamiento subcrónico induce **daño genotóxico, citotóxico y citostático** sobre las células espermatozoales y espermatozoides, lo que evidencia un amplio espectro reprotóxico.

Palabras clave: Aberraciones cromosómicas, Contaminante atmosférico, Epitelio germinativo Pentóxido de Vanadio y Reprototoxicidad.

PAPIIT IN – 221919-3.

INTRODUCCIÓN

Epitelio germinativo.

La línea germinal en los mamíferos macho está comprendida por diferentes etapas celulares, una de las primeras y más importantes son las **espermatogonias**, este término se le da a una célula madre germinal diploide y multipotente, la cual es capaz de llevar a cabo divisiones mitóticas, dando lugar finalmente a espermatoцитos primarios, las espermatogonias son células especializadas en diferenciarse para dar lugar a los espermatozoides a través del proceso de espermatogénesis. A diferencia de los espermatozoides, que son células haploides, móviles y muy diferenciadas; las espermatogonias son células diploides, inmóviles y sin diferenciar, estas se localizan en la base de los túbulos seminíferos del testículo, están unidas a la membrana basal de los mismos y están soportadas por las células de Sertoli, a medida que se van diferenciando, ascienden hacia la luz del túbulo seminífero (De Rooij & Russell, 2000).

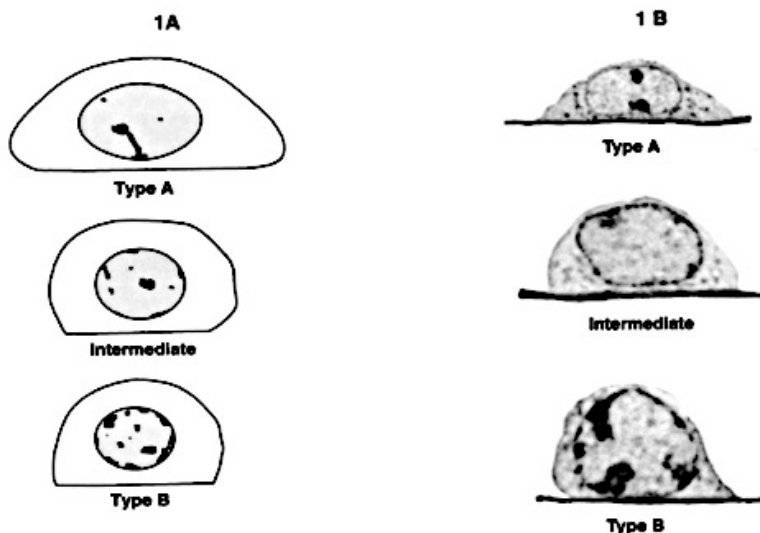


Fig 1.- Tipos de espermatogonia (A0, In, B) tomado de De Rooij & Russell, 2000.

Antiguamente se describieron 2 tipos de espermatogonias, el primero, tipo (A): no mostró heterocromatina en el núcleo y el segundo, tipo (B): si mostró heterocromatina. Poco después, alguien encontró un tipo de espermatogonia que tenía una cantidad intermedia de heterocromatina, que se denominó espermatogonia

intermedia (In) ver Fig.1.- Estos nombres son históricos y son categorías de células más amplias. Cuando se descubrieron más tipos de espermatogonias se diseñaron nuevos nombres para clasificarlos (De Rooij & Russell, 2000).

La célula germinal masculina llamada **espermatozoide**, se produce en la gónada o testículo mediante un proceso de división denominado **espermatogénesis**, el cual está controlado hormonalmente por el eje hipófisis-hipotálamo-testículo. A partir de cada espermatogonia se producen cuatro espermatoцитos haploides que permanecen unidos entre sí por puentes citoplasmáticos y a la vez están en comunicación con la célula nutricia o de Sertoli; estas últimas, a partir de moléculas señalizadoras, inducen la diferenciación que convierte las espermatidas en espermatozoides. Su morfología consta de dos partes: una cabeza y su flagelo, pero dentro de ellas podemos distinguir varias estructuras, las cuales, en orden cefálico-caudal son: membrana plasmática, acrosoma, núcleo, cuello, pieza media, cola y pieza terminal (Olivera *et al.*, 2006).

En relación con lo anterior, la mayoría de las líneas de ratones de laboratorio alcanzan la pubertad (con actividad espermática establecida) entre 6 y 8 semanas, mantienen la fertilidad prácticamente toda la vida. La espermatogénesis en roedores tarda alrededor de 13 semanas, para que una espermatogonia produzca alrededor de 120 espermatozoides, luego de esto, los espermatozoides maduran pasando por el epidídimo y realizan la capacitación al entrar en contacto con el tracto reproductivo femenino (tras la monta), los espermatozoides de mamíferos adquieren la capacidad fecundante en el tracto

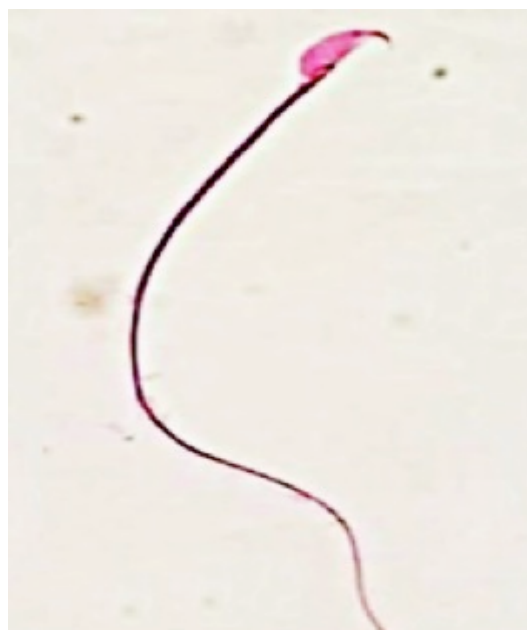


Fig 2.- Espermatozoide de ratón, forma normal. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ C-II (Lab. 2 primer piso).

femenino en un proceso llamado capacitación, sin embargo, de los millones de espermatozoides que se producen y eyaculan solo una fracción muy pequeña, estimada en torno al 10%, adquiere este estadio capacitado en un momento dado (Foster, 1981). Una vez que han sido completados los procesos de espermatogénesis y espermiogénesis se obtiene un espermatozoide ver **Fig.2.-**, formado por una cabeza responsable de transportar la carga nuclear y una cola la cual permite al espermatozoide atravesar el tracto sexual femenino y llegar al ovocito (Buffone *et al.*, 2012).

La biología de las células madre ni siquiera eran temas de ciencia en 1865 cuando Enrico Sertoli hizo sus observaciones históricas, ahora se han convertido en temas importantes en nuestra apreciación científicas y clínicas, por ejemplo el papel de las células de Sertoli en la espermatogénesis. En diversas clases de vertebrados, las células de Sertoli tienen modos bastante diferentes de proliferación y mantenimiento epitelial, pero cumplen esencialmente la misma función pero de formas sorprendentemente diferentes. La morfología de las células de Sertoli ver **Fig.3.-**, representa una de las estructuras tridimensionales más complejas de la biología celular, Enrico Sertoli pudo describir ramas únicas del citoplasma de la célula que apoyaban el desarrollo de las células germinales y el núcleo con un nucléolo grande (una característica morfológica importante que se usa para el reconocimiento celular en la actualidad). El nombre "célula enfermera" testicular fue otorgado a las células de Sertoli por su importante labor, tanto de nutrición como de soporte al conformar la barrera hematotesticular en el epitelio germinativo (França *et al.*, 2015).

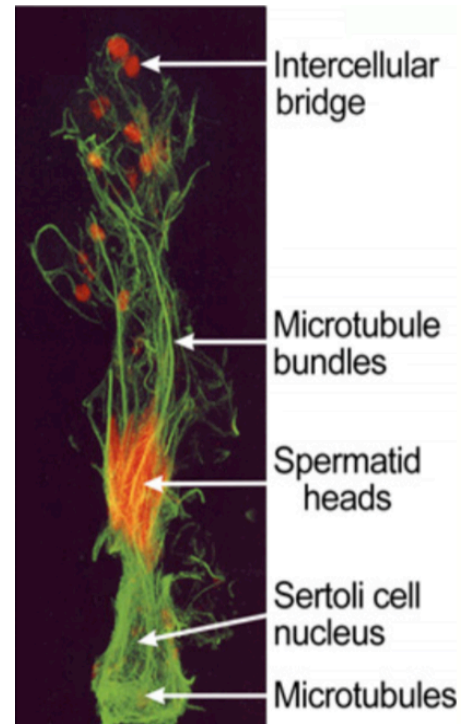


Fig 3.- Microscopía de inmunofluorescencia. La célula de Sertoli (Vogl *et al.*, 1995).

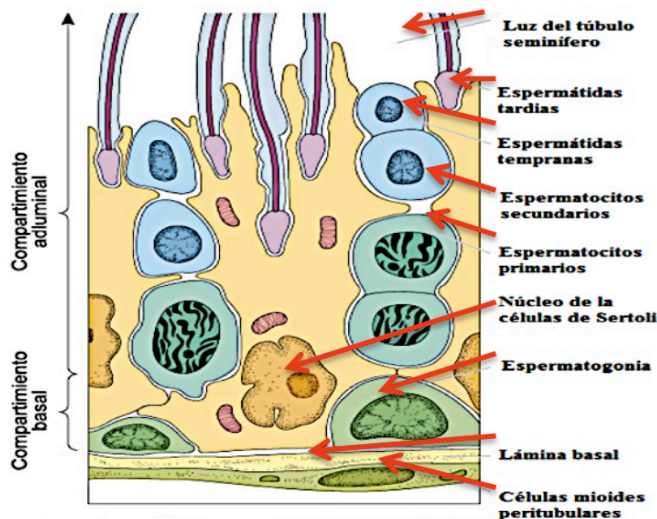


Fig 4.- Epitelio germinativo en mamíferos machos (Colmenares, 2012).

La célula germinal masculina **espermatozoide** se produce en la gónada (**testículo**) mediante un proceso permanente de división en el epitelio germinativo ver **Fig.4.-**, de las células germinales o espermatogonias, la eyaculación es el reflejo de expulsión de los espermatozoides y el plasma seminal fuera del tracto reproductivo, los espermatozoides junto con el plasma seminal pasan por la uretra y a través de movimientos peristálticos se liberan. (Olivera *et al.*, 2006).

Espermatogénesis

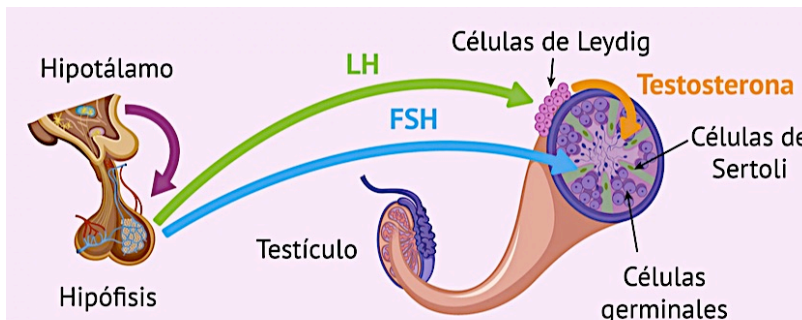


Fig 5.- Eje hipotálamico hipofisario gonadal, LH: hormona luteinizante, FSH: hormona foliculoestimulante. (García *et al* 2020)

El inicio y control de la actividad sexual esta definido por la interacción hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. ver Fig. 5.-. El hipotálamo es una estructura relativamente pequeña que se encuentra en la parte central de la base del cerebro, secreta la hormona liberadora de gonadotropinas (**GnRH**) de manera pulsátil, esta hormona ejerce su acción en las células gonadotropas hipofisarias, donde estimula la secreción y liberación de las gonadotropinas hormona foliculo-estimulante (**FSH**) y hormona luteinizante (**LH**) que tendrán efectos, principalmente, en las gónadas, la LH estimula la síntesis de andrógenos, principalmente testosterona, el receptor de LH en el macho, se encuentra en la superficie de las células de Leydig, además de estimular la formación de testosterona, actúa indirectamente en el control de la espermatogénesis ya que la testosterona es necesaria para la maduración de las células germinales (De la Riva, 2017).

La espermatogénesis es el proceso mediante el cual las espermatogonias tras una serie de divisiones y diferenciación celular dan lugar a espermatozoides. Se distinguen y clasifican tres fases. **1) Fase espermatogonial:** bien puede decirse que es la fase proliferativa, donde la espermatogonia está en contacto con la membrana basal del túbulo seminífero y se divide por mitosis. Se distinguen dos tipos de espermatogonias: tipo **A** que permanece en el compartimento basal del túbulo seminífero y la tipo **B** que pasa al compartimento luminal y se transforma en espermatocitos primarios preleptoténicos, los cuales corresponden a las células de mayor tamaño en el epitelio germinativo. **2) Fase espermatocitaria:** comprende dos divisiones celulares, de espermatocitos primarios a espermatocitos secundarios y de estos a espermátidas, que, en su proceso de diferenciación, adquirirán una morfología reconocible como, espermátida redonda o elongada. De un espermatocito primario que tiene 23 cromosomas bivalentes, es decir con cuatro cromátidas cada uno, se forman cuatro espermatozoides (Simón, 2003).

Las divisiones de la etapa espermatocitaria son de tipo reduccional o meióticas. Las células resultantes, es decir, las espermatidas, tienen una carga cromosómica haploide, solo 23 cromosomas en vez de los 46 cromosomas de las células somáticas. Durante la meiosis, además de la reducción cromosómica a la mitad, se produce el “*crossing-over*” o intercambio génico entre los cromosomas homólogos heredados del padre y de la madre. El intercambio génico tiene lugar durante la fase paquítenica de la profase I. En la fase anterior, la de zigoteno, se produce el apareamiento de cromosomas homólogos de una forma muy precisa gracias a una estructura, los complejos sinaptonémicos que permiten el intercambio de genes alelos. La rotura del DNA y su reparación son aspectos importantes dentro del proceso meiótico. En la profase I se distinguen por este orden los estadios de leptoteno, zigoteno, paquíteno, diploteno y diacinesis (Simón, 2003).

La meiosis, en síntesis, permite que se mantengan de generación en generación el número de cromosomas de la especie pues los gametos, masculino y femenino, aportan cada uno 23 cromosomas, la mitad de los cromosomas de la especie humana. El intercambio génico, que ocurre durante la profase I, produce diversidad génica en la descendencia respecto a los

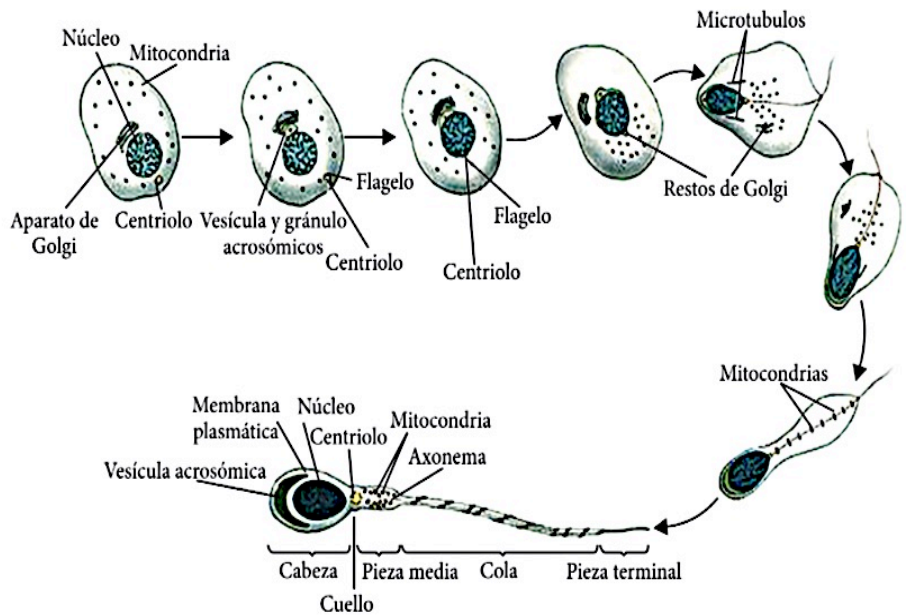


Fig 6.- Espermiogénesis en mamíferos (Gilbert, 2005).

progenitores. **3) Fase espermiogénica:** ver Fig.6.-. En esta fase no hay división celular, solo diferenciación celular. La espermatida, célula redonda, contiene 23 cromosomas; es por tanto haploide. Procede de la división celular del espermatocito secundario y se transforma en espermatozoide. Los cambios más evidentes son la transformación del aparato de Golgi en acrosoma, la elongación del núcleo pasando de redondo a elíptico; el desarrollo del flagelo espermático a partir del centriolo distal; y la eliminación del citoplasma (Simón, 2003).

A ello hay que añadir la condensación de la cromatina, cambios metabólicos y la localización de las mitocondrias alrededor de la parte proximal del flagelo, formando “la pieza intermedia”. Finalmente se produce la espermiación, es decir, la liberación de los espermatozoides de su relación con la célula de Sertoli, quedando libres en la luz del túbulo seminífero para poder ser transportados a través de los tubos rectos, *rete testis* y conos o conductillos eferentes hasta el epidídimo donde adquirirán la movilidad traslativa (Simón, 2003).

Los espermatozoides en el ser humano ver Fig. 7.-, son de forma piriforme, solo sobreviven entre 1 y 3 °C por debajo de la temperatura corporal, y son las únicas células humanas en poseer flagelo, esto la ayuda a ser una célula con alta movilidad, capaz de nadar libremente, se componen principalmente de dos partes: una cabeza y su flagelo, pero dentro de ellas se distinguen varias estructuras, las cuales, en orden cefálico-caudal, de la cabeza a la cola, son: acrosoma, núcleo, membrana, cuello, pieza media, cola y pieza terminal. Viven en promedio 24 horas en promedio, aunque es posible que lleguen a fecundar el óvulo después de tres días. Es una de las células cuya función es la formación de un cigoto totipotente al fusionarse su núcleo con el del gameto femenino, posteriormente dará lugar al embrión y al feto. En la fecundación humana, los espermatozoides otorgan el sexo a la nueva célula diploide, pues pueden llevar cromosoma sexual X o Y, mientras que el óvulo lleva solo el cromosoma X, los espermatozoides miden de diez a sesenta micras de longitud, la secuencia de los procesos que sufre el espermatozoide en el tracto reproductivo de la hembra son: 1) Activación, 2) Capacitación, 3) Hiperactivación, 4) Reconocimiento entre gametos, 5) Reacción acrosomal, 6) Adhesión y 7) Fusión (Olivera *et al.*, 2006).

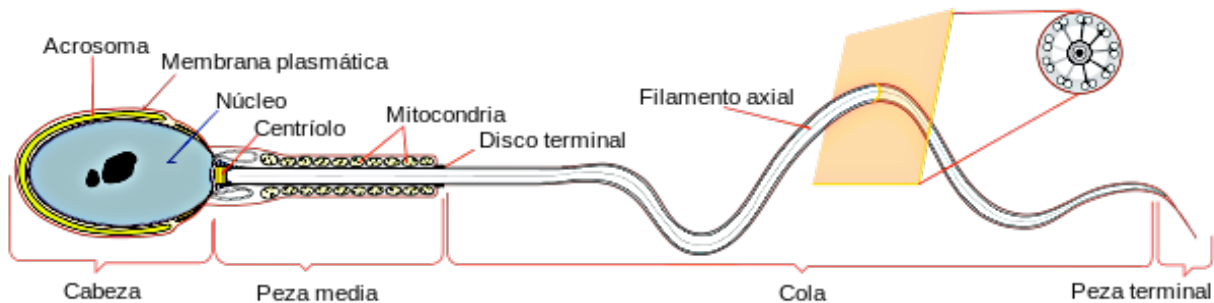


Fig 7.- Morfología de un espermatozoide humano y corte transversal del flagelo (Ruiz, 2009).

Toxicología del Vanadio.

El vanadio es un elemento metálico de color plateado y su símbolo es V, las principales propiedades materiales y termodinámicas de este elemento son las siguientes: pertenece a la primera serie de transición, su número atómico es 23, está situado en el grupo 5 y periodo 4 de la tabla periódica, el peso atómico del vanadio es de 50,9415, su densidad es 6,11 g/cm³, su punto de fusión y de ebullición son 1919 °C y 3407 °C respectivamente, es dúctil, blando y poco abundante, se estima en 0.013 ppm en yacimientos de Combustible fósil como petróleo crudo y carbón mineral, naturalmente es emitido a la atmósfera por actividad geológica a través de flujos piroclásticos o por medio de aerosoles marinos, se encuentra formando 90 minerales diferentes aproximadamente. El nombre Vanadio procede de “Vanadis” la diosa de la belleza en la mitología escandinava (Baran, 2017).

Las aplicaciones más usuales del vanadio y sus derivados son principalmente en la industria metalúrgica en la producción de aleaciones de acero de alta duración y en la industria química como catalizador para producir ácido sulfúrico, se ha agregado un creciente interés en el desarrollo de algunos fármacos basados en este elemento. Los principales productores de vanadio son China, Rusia y Sud África, la producción de estos países da cuenta de aproximadamente el 93% de la producción mundial (Baran, 2017).

El pentóxido de vanadio V₂O₅ es un óxido anfótero de color amarillo pálido o naranja rojizo, ver Fig. 8.-, tiene ligera solubilidad en agua y es fácilmente soluble en ácidos. Su liberación en la atmósfera es principalmente ocasionada por la actividad humana, por lo que es considerado un contaminante ambiental. Los trabajos sobre el papel biológico del vanadio han ganado mucha importancia en los últimos años debido a su bien conocido potencial mutagénico y genotóxico en una amplia variedad de sistemas biológicos, por ejemplo en 2006, el pentóxido de vanadio fue clasificado por la IARC (International Agency for Research on Cancer) como un posible carcinógeno para los humanos (Roldán *et al.*, 2016).



Fig 8. - Pentóxido de vanadio V₂O₅ en polvo fino (Oelen, 2005).

La contaminación atmosférica puede definirse como la presencia en el aire de compuestos que implican riesgo, daño o molestia grave para las personas y organismos de cualquier naturaleza, la Organización Mundial de la Salud (**OMS**) en 2012 estableció que la contaminación del aire fue responsable de 3.7 millones de muertes en el planeta y en el mismo año en la zona metropolitana del valle de México (**ZMVM**) se emitieron 2.52 millones de toneladas de contaminantes a la atmósfera (OMS, 2018). Una de las formas químicas del material particulado que prevalece en la atmósfera son **los óxidos** y, por la naturaleza química de estas estructuras complejas, los metales entran en el sistema respiratorio y en la circulación sistémica. El tamaño de partícula en el caso del vanadio es en promedio de 2.5 μm (**PM_{2.5}**) de acuerdo al (National Toxicology Program, 2002) y (Fortoul, 2014).

La presencia contaminante del vanadio en zonas urbanas ha ido en aumento como consecuencia de la quema incompleta de petróleo crudo, carbón mineral, petróleo pesado y en casi todos los productos de combustibles fósiles que se queman, el petróleo mexicano, el venezolano y el kuwaití tienen una alta concentración de este elemento, y también sus derivados, como la gasolina, las partículas de vanadio en la atmósfera son depositadas y arrastradas por la lluvia, las más pequeñas permanecen más tiempo en el aire y son transportadas más lejos (Barceloux & Barceloux, 1999). La presencia natural del vanadio en la atmósfera se debe principalmente a la actividad volcánica por medio de flujos piroclásticos, mediante la erosión en reservorios naturales y la acción de aerosoles marinos dirigidos hacia el continente (Baran, 2017).

El vanadio se encuentra presente en prácticamente todas las formas de vida, desde las bacterias hasta el hombre, aunque usualmente en cantidad de traza o micro traza, lo que muchas veces ha dificultado su identificación y cuantificación. En el caso de los seres humanos se ha observado que en el plasma existe una concentración promedio de vanadio de 200 nM mientras que es algo mayor en los tejidos. La mayor acumulación del elemento se da habitualmente en los huesos, pero también en el hígado, testículo y el riñón. Los pulmones absorben bien los compuestos solubles de vanadio (V_2O_5), pero la absorción de las sales de vanadio del tracto gastrointestinal es pobre. La excreción de vanadio por los riñones es rápida con una vida media biológica de 20 a 40 horas en la orina (Barceloux & Barceloux, 1999).

El vanadio es probablemente un elemento traza esencial, pero no se ha identificado una enfermedad por deficiencia de vanadio en los seres humanos. La ingesta diaria estimada de la población de EE. UU. varía de 10 a 60 $\mu\text{g V}$. El sulfato de vanadio es un suplemento común que se utiliza para mejorar el entrenamiento con pesas en atletas, a dosis de hasta 60 mg/día. Los estudios *in vitro* y en animales (*in vivo*), indican que el vanadato y otros compuestos de vanadio aumentan la actividad de transporte de glucosa y mejoran el metabolismo de la glucosa (Barceloux & Barceloux, 1999). El óxido de vanadio V exhibe una moderada toxicidad en los seres humanos, con una DL_{50} de aproximadamente 470 mg/kg, el mayor problema es la inhalación del polvo, donde los DL_{50} oscila entre 4–11 mg/kg para una exposición de 14 días, el vanadato (VO_4^{3-}), formado por la hidrólisis de V_2O_5 a pH alto, parece inhibir las enzimas que procesan el fosfato (PO_4^{3-}), sin embargo, no se conoce el modo exacto del proceso (Bauer *et al.*, 2005).

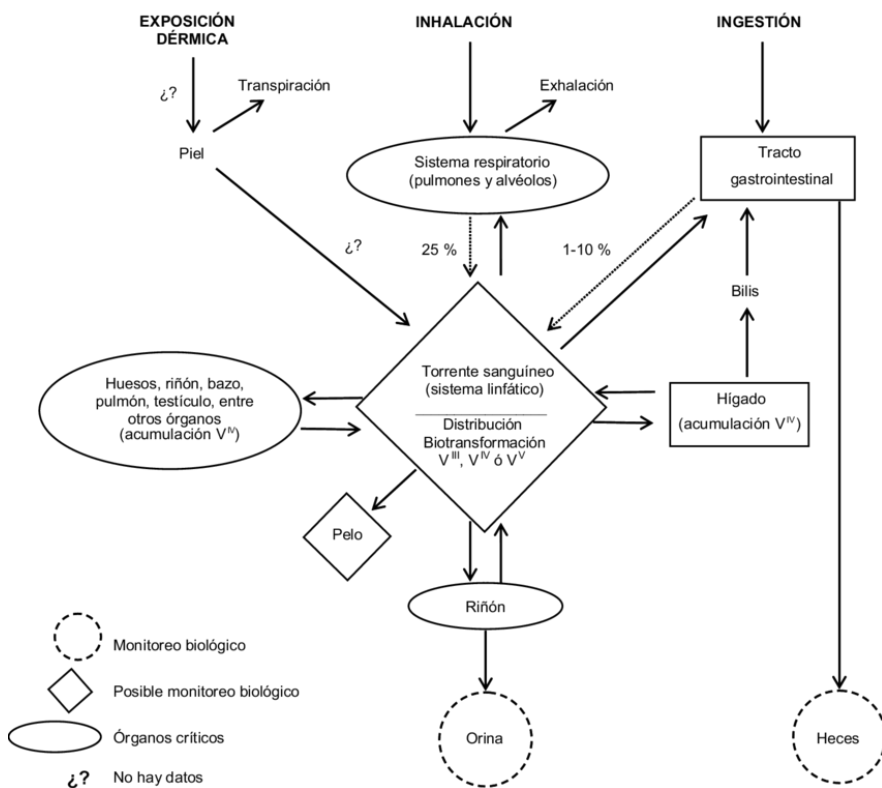


Fig 9.- Toxicocinética del vanadio (modificado de Elinder *et al.*, 1988)

En general, la toxicidad de los compuestos de vanadio es baja, la toxicidad de los compuestos de vanadio generalmente aumenta a medida que aumenta la valencia, los compuestos pentavalentes son los más tóxicos. La mayoría de los efectos tóxicos de los compuestos de vanadio resultan de la irritación local de los ojos y del tracto respiratorio superior en lugar de la toxicidad sistémica. El único efecto claramente documentado de la exposición al polvo de vanadio es la irritación del tracto respiratorio superior caracterizada por rinitis, sibilancias, hemorragia nasal, conjuntivitis, tos, dolor de garganta y dolor en el pecho, esto relacionado a la vía de ingreso del compuesto al organismo ver [Fig.9.-](#), esto de acuerdo a (Altamirano & Álvarez, 1996).

Antecedentes sobre el Vanadio.

Algunos de los efectos a corto plazo de respirar grandes cantidades de polvo con vanadio durante períodos cortos o largos de tiempo son la irritación de los pulmones que puede causar tos, dolor de garganta y ojos rojos e irritados, estas observaciones fueron recopiladas en diversos estudios de la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) en 1992, así mismo pudieron determinar que, la mayoría de las personas están expuestas diariamente a cantidades muy pequeñas de vanadio en los alimentos, el agua potable y el aire, las mayores cantidades ingeridas provienen de los alimentos, aproximadamente de 10 a 20 μg diariamente, el vanadio se encuentra naturalmente en el suelo y en las rocas a concentraciones aproximadas de 150 ppm en la corteza terrestre. Las personas que respiraron 0.1 miligramo (mg) de vanadio por metro cúbico (m^3) de aire durante 8 horas tuvieron tos durante aproximadamente 1 semana e irritación en los ojos.

Altamirano & Álvarez en 1996 reportaron su trabajo, el cual fue realizado con ratones macho CD-1, fueron tratados vía intraperitoneal con 8,5 mg/kg de V_2O_5 una vez cada 3 días durante 60 días. Veinticuatro horas después del fin del tratamiento y de la última inyección, los machos se aparearon con hembras sin tratar. Disminución en la tasa de fertilidad, número y peso de fetos vivos y un aumento en el número de reabsorciones fetales. Densidad y motilidad espermática deterioradas según avanzaba el tratamiento, también reportaron un aumento de las anomalías morfológicas en espermatozoides observadas en los días 50 y 60 de tratamiento.

El pentóxido de vanadio es considerado como un posible carcinógeno para los humanos. La exposición ocupacional al pentóxido de vanadio se determina midiendo la concentración de V_2O_5 en el aire del lugar de trabajo o como, Hauser *et al.* en 1998, que determinaron por medio de espectrometría de masas por dilución de isótopos (IDMS) las concentraciones de vanadio en la orina de 20 trabajadores de una caldera de petróleo, las concentraciones de V_2O_5 en el aire oscilaban entre 0.2 mg/m^3 , la concentración media de vanadio en la orina fue $1,53 \pm 0.53 \mu\text{g}/\text{L}$.

De acuerdo a los resultados obtenidos por Devereux *et al.* en 2002, la exposición a pentóxido de vanadio vía intraperitoneal en ratones demostró fragmentación al ADN, las pruebas detectaron carcinomas de pulmón de ratón B6C3F1, esto se demostró mediante ensayo cometa. Aberraciones cromosómicas fueron reportado en médula ósea y se observaron efectos letales después de la administración intraperitoneal de 8.5 mg/kg de V₂O₅.

Durante 2012 la Secretaría del Medio Ambiente (**SEDEMA**) de la CDMX monitoreo las concentraciones de dióxido de azufre, monóxido de carbono y plomo en el ambiente, estas se mantuvieron por debajo de las concentraciones límite requeridas por las Normas Oficiales Mexicanas de Salud Ambiental, sin embargo, las concentraciones elementos con partículas \leq a 10 μm (PM10) como el de ozono y de algunos metales continuaron superando los valores recomendados para la protección de la salud pública. En su informe anual SEDEMA destaco el aumento de partículas \leq a 2.5 μm (PM2.5). los iones más abundantes con un 33% fueron nitrato, sulfato y amonio, no obstante alrededor del 59% de la masa total de PM2.5 no fue determinada, sin embargo, a través de estudios previos se sabe que podría estar constituido por compuestos orgánicos, biopartículas y metales (Sedema, 2013).

En el caso de los seres humanos se ha observado que en el plasma existe una concentración promedio de vanadio del orden de 200 nM mientras que la misma es algo mayor en los tejidos. La mayor acumulación del elemento se da habitualmente en los huesos, pero también en el hígado y el riñón, los requerimientos dietarios parecen ser extremadamente bajos, probablemente en torno a los 10 mg diarios. En la corteza terrestre el metal puro es muy difícil de obtener, principalmente porque se combina fácilmente con carbono, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno, el vanadio es el vigésimo segundo elemento en abundancia (0,013% p/p) y es, por lo tanto, más abundante que el zinc y el cobre. En el agua de mar, la concentración media de vanadio, presente fundamentalmente como NaH₂VO₄, es del orden de 30 nM, constituyéndose en el segundo elemento de transición más abundante en entornos marinos (Baran, 2017).

JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades multifactoriales resultan de la combinación de agentes genéticos, del medio ambiente y del estilo de vida, la organización mundial de la salud informo en 2012 que la contaminación del aire fue responsable de 3.7 millones de muertes en el planeta, por su parte, el gobierno de la ciudad de México, clasifíco en 2021 como regular, el índice de la calidad del aire, estableció como moderado, el riesgo a la salud y notifico que el contaminante principal son las partículas $PM_{2.5}$. dentro de las cuales es posible encontrar compuestos de Vanadio, que debido a su reducido tamaño atacan con facilidad a diferentes órganos blanco, este trabajo de investigación destaca los efectos del vanadio sobre el epitelio germinativo de ratones expuestos de forma aérea.

HIPÓTESIS

Estudios previos sobre el pentóxido de vanadio (V_2O_5) en ratones de la cepa CD-1, han demostrado el comportamiento reprotóxico de dicho compuesto, por lo tanto, se espera que machos maduros sexualmente, tratados de manera sub-crónica con (V_2O_5) por vía aérea, desarrollen alteraciones cromosómicas, modificaciones en la línea germinal, en la diferenciación del espermatozoide y en la calidad seminal.

OBJETIVOS

General

- Analizar los efectos genotóxico, citotóxico y citostático en células espermatogoniales y calidad espermática de ratones CD-1, provocados por la exposición aérea a V_2O_5 en tratamiento sub-crónico.

Particulares

1. Cuantificar la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (**ACE**) y numéricas (**ACN**) en espermatogonias para establecer efecto genotóxico.
2. Evaluar las proporciones de espermatogonias tipo célula madre (**A0**), intermedia (**In**) y diferenciada (**B**) para establecer efecto citostático.
3. Establecer el índice Mitótico Espermatogonial (**IME**) para establecer efectos citostático-citotóxico.
4. Evaluar la calidad espermática mediante la **densidad** y **morfología** para establecer efecto citotóxico en células gaméticas.

MATERIALES Y MÉTODO

Grupos y tratamiento

El modelo experimental consistió de 5 grupos conformados por 5 ratones macho de la cepa Cd-1, la edad de los organismos oscilo entre 8 – 12 semanas. Tanto el agua como el alimento se proporcionaron *ad libitum*, las condiciones de luz/obscuridad fueron (12/12 h) y la temperatura se mantuvo en $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ de acuerdo a la NOM – 062 – ZOO - 1999. Tres de los grupos se expusieron por vía aérea a pentóxido de Vanadio (V_2O_5) 99.6% (Sigma-Aldrich/EUA) empleando diferentes concentraciones (0.02, 0.04 y 0.08 M) y los dos grupos restantes comprendieron grupos de control, negativo (0.00 M) y positivo Mitomicina-C ($\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_5$) (0.001 M) (Sigma-Aldrich/EUA).

Cada 48 horas, durante un periodo de 15 días (tratamiento sub-crónico), se realizó la exposición aérea de los ratones al compuesto, se llevo a cabo dentro de un contenedor plástico con la ayuda de un nebulizador (Omron/Japón), de esta manera se realizó la exposición de los ratones al compuesto durante una hora. Las medidas de seguridad dentro del laboratorio consistieron en instalar el sistema dentro de una campana de extracción, así como el uso de bata, guantes de nitrilo, mascarilla cubre boca y gafas protectoras, además de establecer ½ hora extra en la campana de extracción terminada la hora de exposición.

Obtención de material biológico

Veinticuatro horas después de terminado el tratamiento sub-crónico de exposición aérea a V_2O_5 , se procedió a la obtención del material celular (**espermatogonias** y **espermatozoides**), primeramente se realizó la inyección intraperitoneal de 0.1ml/10g de Colchicina $\geq 95\%$ (Sigma-Aldrich/EUA) al 0.3% (P/V), cinco horas después se realizó el sacrificio de los ratones por medio de dislocación cervical, consecutivamente se extrajeron los testículos, conductos deferentes y epidídimos.

La obtención de las **espermatogonias** y **material cromosómico** consistió en una variante del método de Hoo & Bowels, 1971, primeramente se realizó la maceración de los testículos con 10 ml de solución hipotónica de citrato de sodio dihidratado (J.T.Baker/México) al 1% (P/V). El resultado de la maceración fue transferido a tubos de ensayo, una vez que el material biológico descendió por gravedad se eliminó el sobrenadante y se agregó nuevamente 10 ml de solución hipotónica, los tubos de ensayo se mantuvieron durante 20 min a una temperatura de 37.5 °C en baño María (Thomas scientific/EUA), al finalizar el periodo de hipotonización las muestras se centrifugaron (Mod-J-12 SolBat/México) a 3500 RPM durante 5 min y se eliminó nuevamente el sobrenadante.

El siguiente paso fue añadir a cada tubo de ensayo 5 ml de fijador de metanol (J.T.Baker/México) y ácido acético glacial (J.T.Baker/México) en proporción 3:1 (V/V) empleando un agitador de toque Vortex (Thomas Scientific/EUA), las muestras se mantuvieron en este fijador durante 30 min, pasado este tiempo, los tubos se centrifugaron a 3500 RPM durante 5min para poder eliminar el sobrenadante teniendo cuidado con el botón de células. Finalmente se añadió a cada tubo 5ml de ácido acético glacial (J.T.Baker/México) al 60% (V/V) empleando un agitador de toque Vortex. Las muestras se conservaron a 8°C hasta su posterior utilización

La obtención de los **espermatozoides** consistió en el exprimido de los conductos deferentes y epidídimos, el material obtenido se colocó en tubos eppendorff con 1ml de solución isotónica (Pisa/México) al 0.9%. Se empleo cámara de Neubauer (Marienfeld/Alemania, 0.0025mm²) para evaluar la densidad, por su parte, la morfología se evaluó al realizar la tinción de las muestras con eosina/nigrosina (Sigma-Aldrich/EUA) al 1% (V/V) y realizar el frotis en portaobjetos previamente etiquetados.

Cuantificación del material celular

Espermatogonias: Se utilizó una pipeta Pasteur para re-suspender el material biológico y gotear a 1.5 m de altura aproximadamente sobre portaobjetos previamente etiquetados y glaseados, las laminillas se dejaron secar al aire libre y fueron teñidas con Giemsa (Sigma-Aldrich/EUA) al 10% (V/V). En las laminillas de cada ratón se buscaron y analizaron **50 C-metafases** que mostraran daño cromosómico (genético) de tipo estructural (**ACE**) o numérico (**ACN**). Para establecer las proporciones de espermatogonias (**A0**, **In** y **B**) y el índice mitótico espermatogonial (**IME**) se contabilizaron 2000 células por organismo. Las observaciones se realizaron en microscopio óptico (Nikon eclipse 2000/Japón) en campo claro a 20X y 100X. El análisis estadístico comprendió a las pruebas X^2 con corrección de Yates para las ACE y ACN, Z para proporciones en el caso de los diferentes tipos de espermatogonias y “ t ” de Student para la densidad espermática.

Espermatozoides: Para la cuantificación de la **densidad espermática** se usó cámara de Neubauer (Marienfeld/Alemania, 0.0025mm^2), con la ayuda de una micropipeta (Tansferpette/Alemania) se tomaron 10 μL de la muestra espermática homogeneizada y se colocó en uno de los campos de lectura de la cámara, el número de casillas en las cuales se contabilizaron espermatozoides se determinó en función del número de espermatozoides que presentó la casilla central, se promediaron los dos conteos realizados para cada ratón y se dividió entre el factor de corrección obteniendo la densidad espermática en 1ml. Las observaciones se realizaron en microscopio óptico (Nikon eclipse 2000/Japón) en contraste de fases a 40X. El análisis estadístico empleó la prueba “ t ” de Student.

Para la cuantificación de la **morfología espermática** se mezcló una gota de material espermático homogeneizado, una gota de paraformaldehído (Sigma-Aldrich/EUA) y una gota de eosina/nigrosina 1% (V/V), se realizó el frotis de esta mezcla sobre un portaobjetos previamente etiquetado, las laminillas se dejaron secar al aire libre para posteriormente realizar conteos de 400 células por ratón, denotando las diferentes formas observadas (Normales y Anormales), Las formas anormales se jerarquizaron de la siguiente manera (**daño en cabeza > daño en la pieza media > daño en el flagelo**), de esta manera cada espermatozoide representó solo un tipo de daño. Posteriormente se promediaron los valores obtenidos y se calculó el porcentaje respectivo en cada caso. Las observaciones se realizaron en microscopio óptico (Nikon eclipse 2000/Japón) en campo claro 40X. El análisis estadístico empleó la prueba Z para proporciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se analizó el efecto toxicológico que la exposición aérea a Pentóxido de vanadio (V_2O_5) genera sobre diferentes células pertenecientes al epitelio germinativo de ratones macho, empleando técnicas de microscopía óptica (campo claro y contraste de fases) fue posible obtener los siguientes resultados.

Tabla 1.- Frecuencia de **Aberraciones Cromosómicas Estructurales** en ratones macho CD-1 tratados de manera sub-crónica con V_2O_5 por vía aérea.

		Frecuencia de ACE							
		Cromatídico		Cromosómico					
Tratamiento	Ratón	Rompimiento	Gap	R. C.	Pulv.	Tot. de ACE	Tot. de células		
[M]		[F]	[F]	[F]	[F]	[F]	con ACE y [%]		
Ctrl-	1	1	0	3	0	4	4		
	2	4	0	1	0	5	5		
	3	1	0	0	0	1	1		
	4	1	0	0	0	1	1		
	5	1	0	2	0	3	3		
$\bar{x} \pm EE$		1.6 ± 0.08	0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.08	0.0 ± 0.0	2.8 ± 0.1	2.8	5.6 ± 0.2	
Ctrl+ MMC	1	6	0	4	0	10	10		
	2	3	0	6	0	9	9		
	3	3	0	3	0	6	6		
	4	0	0	5	0	5	5		
	5	5	0	3	0	8	8		
$\bar{x} \pm EE$		$3.4 \pm 0.14^*$	0.0 ± 0.0	$4.2 \pm 0.08^*$	0.0 ± 0.0	$7.6 \pm 0.1^*$	7.6	$15.2 \pm 0.2^*$	
V_2O_5	1	2	0	1	0	3	3		
	2	3	0	1	0	4	4		
	3	2	0	2	0	4	4		
	4	2	1	1	0	4	4		
	5	3	0	2	0	5	5		
$\bar{x} \pm EE$		2.4 ± 0.07	0.2 ± 0.06	1.4 ± 0.07	0.0 ± 0.0	4.0 ± 0.1	4	$8.1 \pm 0.3^{+*}$	
V_2O_5	1	0	0	1	0	1	1		
	2	1	0	5	0	6	6		
	3	1	0	2	0	3	3		
	4	1	0	1	0	2	2		
	5	3	1	2	0	6	4		
$\bar{x} \pm EE$		1.2 ± 0.06	0.2 ± 0.06	2.2 ± 0.1	0.0 ± 0.0	3.6 ± 0.1	3.2	6.4 ± 0.2	
V_2O_5	1	2	0	1	0	3	3		
	2	2	0	3	0	5	5		
	3	4	0	2	0	6	6		
	4	4	0	10	0	14	14		
	5	2	0	6	0	8	7		
$\bar{x} \pm EE$		2.8 ± 0.15	0.0 ± 0.0	$4.4 \pm 0.51^*$	0.0 ± 0.0	$7.2 \pm 0.3^*$	7	$14 \pm 0.5^*$	

R.C. Rompimiento Cromosómico, Pulv. Pulverización, Ctrl- control negativo, Ctrl+ control positivo Mitomicina - C, F (frecuencia) * $p < 0.05$ VS control negativo, $\bar{x} \pm EE$, X^2 -Yates.

La **Tabla 1**, muestran las frecuencia de aberraciones cromosómicas de tipo estructural y el porcentaje de células con ACE observadas y registradas. La información en tanto a las **aberraciones estructurales** indica que tan solo los rompimientos de tipo cromosómico, es decir, aquellos que implican la rotura o escisión de ambas cromátidas ver **Fig.12.-**, aumentaron significativamente $*p < 0.05$, únicamente en el grupo expuesto a V_2O_5 [0.08 M] (concentración alta). Trabajos como el de Nussbaum *et al.*, (2008) establecen que el origen del rompimiento cromosómico y pérdida de los segmentos o minutas, en condiciones normales, son el resultado de un entrecruzamiento desigual entre cromosomas homólogos o cromátidas hermanas mal alineadas, es decir, existen frecuencias basales de este tipo de daño. Altamirano-Lozano *et al.*, (1996) establecen que la naturaleza altamente oxidante del V_2O_5 , el cual, al ingresar a sistemas biológicos, es biotransformado a V_2O_4 y en este proceso libera diferentes iones (OH , VO_2^+ y HVO_4^{2-}) lo cual ocasiona la lipoperoxidación de las membranas, esto compromete la integridad celular, principio del control de muerte programada.

Es bien sabido que los organismos han desarrollado mecanismos de defensa contras las especies reactivas de oxígeno (**ERO**) que pueden tener naturaleza tanto preventiva como de reparación, en condiciones normales siempre existe un balance entre las ERO y las defensas antioxidantes para que los organismos se encuentren en homeostasis, no obstante el daño ocasionado por las ERO, de acuerdo a López & Torres, (2012), es muy extenso e inespecífico, los mecanismos involucrados en la reparación del daño son ubicuos para proteínas, lípidos y ADN, las proteínas oxidadas son reducidas o degradadas en sistemas especializados como el proteosoma o los lisosomas, así como por diferentes proteasas.

En el mismo orden de ideas, los peróxidos de ácidos grasos en los fosfolípidos de las membranas son eliminados por la fosfolipasa A2 y reducidos a alcohol por la enzima glutatión peroxidasa GPx, sin embargo cuando los peróxidos reaccionan con metales complejos, representados en parte por diferentes sales metálicas y metales de transición, se forman diferentes aldehídos como el malondialdehído y 4-hidroxinonenal, así como otros hidrocarburos como el etano y el pentano; todos ellos son productos finales del proceso de lipoperoxidación, donde estos aldehídos pueden reaccionar con grupos tioles y amino de las proteínas, lo que producirá en éstas un daño estructural y funcional.

El aumento en la frecuencia de daño estructural cromosómico que la concentración de V_2O_5 [0.08 M] mostro, puede atribuirse a daño genotóxico producido a causa de niveles altos de estrés oxidativo, aquellas regiones del cromosomas que no pudieron mantener su integridad durante el estrés mecánico que supone el ciclo celular escindieron parte o totalidad de su material genético, que posteriormente en la fase de síntesis, duplicaría aquel daño que no pudiera ser reparado por ningún mecanismo, mostrando así daño en regiones homologas del cromosoma. La estadística no mostro significancia a los rompimientos cromatídicos, donde un fragmento, de una sola cromátida se separa, se producen generalmente por rupturas bicatenarias y reparación incompleta de lesiones al ADN de acuerdo a Aguirre, (2018). Establece además que, este tipo de aberraciones cromosómicas estructurales e inestables se utilizan como bio-marcadores de genotoxicidad, la cual está asocia con defectos al nacer, debido a la exposición de las células germinales, alteraciones metabólicas y cambios en la fertilidad.

Entre los daños que se presentan en el ADN se encuentran los rompimientos de cadena sencilla y doble, las modificaciones estructurales en las bases nitrogenadas y los diferentes tipos de mutaciones en la secuencia del ADN; estos daños son reparados por diferentes mecanismos como la unión de fragmentos terminales no homólogos (HEJN), la recombinación homóloga (HR), la reparación por escisión de bases (BER), la reparación por escisión de nucleótidos (NER) y el sistema de reparación por mal apareamiento (MMR), esto ultimo de acuerdo a López & Torres, (2012). Dado que el tratamiento con V_2O_5 se desarrollo de manera subcrónica, el tiempo que el compuesto actuó en el sistema de los organismos, pudo propiciar que en la concentración mas elevada, el equilibrio entre las **ERO** y los sistemas antioxidantes fallara, lo cual acarreo el aumento de rompimientos cromosómicos (escisión en ambas cromátidas). De acuerdo al manual “Cómo entender la genética” de la Genetic Alliance publicado en 2009, las anomalías cromosómicas estructurales son causadas por la ruptura o la unión incorrecta de segmentos cromosómicos. Varias de las anomalías cromosómicas estructurales tienen como resultado una enfermedad. La reorganización estructural se considera equilibrada si el conjunto cromosómico completo está presente, aunque su distribución no sea la normal, y se considera desequilibrada si falta o sobra información. Las reorganizaciones desequilibradas incluyen eliminaciones, duplicaciones o inserciones de segmentos cromosómicos, sufren dos roturas y los extremos rotos se unen para formar un cromosoma circular, se genera un cromosoma en anillo o anular. Si falta un brazo de un cromosoma y el brazo restante se duplica, se forma un isocromosoma.

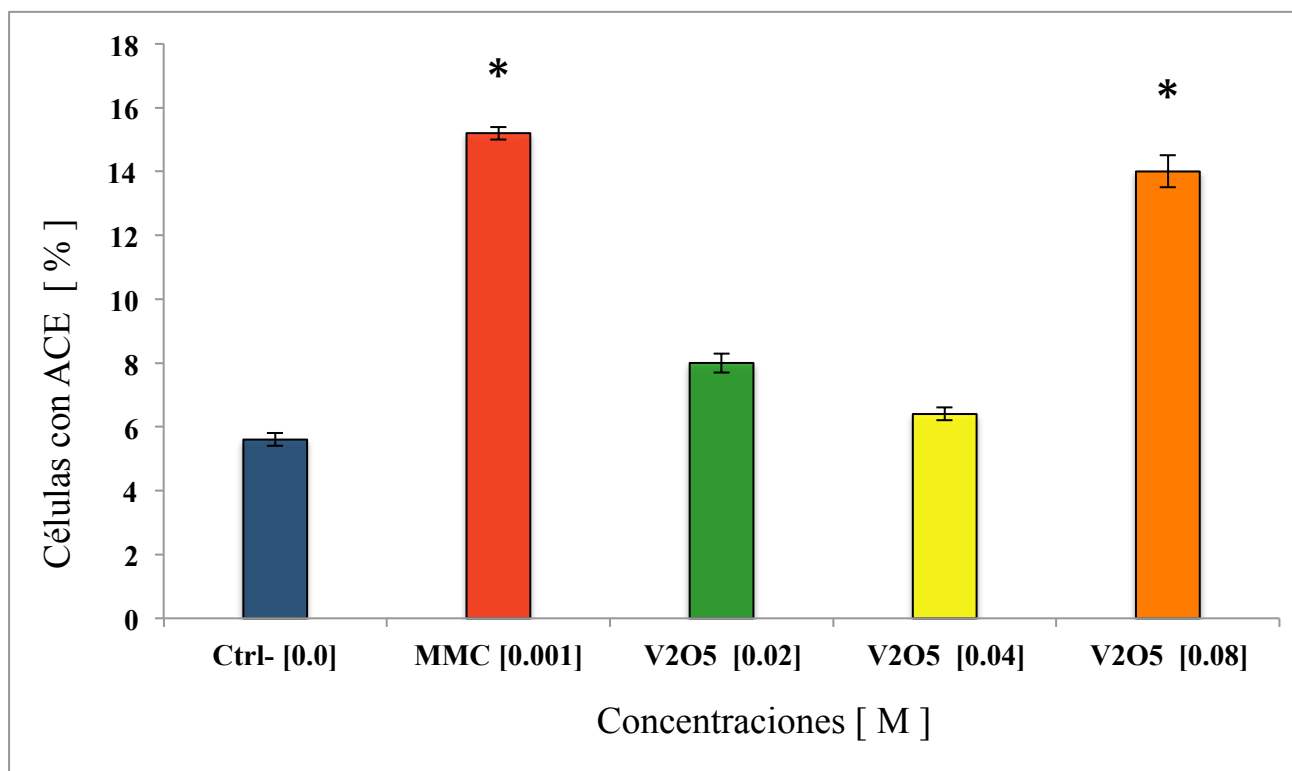


Fig.10. Efecto del V_2O_5 en el porcentaje de células con aberraciones cromosómicas estructurales ACE en ratones macho CD1, * $p < 0.05$ /S testigo negativo, MMC testigo positivo mitomicina-c, $x \pm EE$, X^2 - Yates.

Finalmente me gustaría discutir brevemente sobre el porcentaje de células que presentan ACE, la **Figura 10** muestra dicha grafica. El resultado permite observar el evidente comportamiento genotóxico del V_2O_5 en las concentraciones [0.02 M y 0.08 M], la exposición aérea en tratamiento subcrónico aumento el porcentaje de células que presentaron aberraciones estructurales, esto refleja el daño considerable que el tratamiento supone sobre el epitelio germinativo. Por su parte el tratamiento con diferentes concentraciones de vanadio no resulto significativo en el porcentaje celular con ACE, debido a que no representan riesgo o descontrol para el sistema de reparación oxidativa. Estudios posteriores podrían apreciar este parámetro con mejores resultados. Pese a que el epitelio germinativo es poco favorable ante una técnica como lo es el ensayo de aberraciones cromosómicas, considero que resulta de indescriptible importancia como fuente de conocimiento que aun representa un enigma para los investigadores, supone un campo prácticamente nuevo en términos de desarrollo de proyectos. Por su parte el grupo Control positivo (MMC 0.001 M) se comporto de manera ideal mostrando un claro efecto genotóxico.

Tabla 2.- Frecuencia de **Aberraciones Cromosómicas Numéricas** en ratones macho CD-1 tratados de manera sub-crónica con V₂O₅ por vía aérea.

Frecuencia de ACN								
Tratamiento	Ratón	Normal 2n	Euploide	Aneuploide	Haploide	Tot. de ACN	Tot. de células con ACN y [%]	
[M]		[F]	[F]	[F]	[F]	[F]		
Ctrl- [0.00]	1	34	13	2	1	16	16	
	2	42	5	2	1	8	8	
	3	43	4	3	0	7	7	
	4	44	6	0	0	6	6	
	5	44	5	1	0	6	6	
$\bar{x} \pm EE$		41.4 ± 0.6	6.6 ± 0.5	1.6 ± 0.08	0.4 ± 0.1	8.6 ± 0.6	8.6	17.2 ± 0.8
Ctrl+ MMC [0.001]	1	44	4	2	0	6	6	
	2	45	1	3	1	5	5	
	3	46	2	1	0	4	4	
	4	42	6	2	1	9	9	
	5	48	2	0	0	2	2	
$\bar{x} \pm EE$		45 ± 0.3	3 ± 0.1*	1.6 ± 0.06	0.4 ± 0.1	5.2 ± 0.3	5.2	10.4 ± 0.5
V ₂ O ₅ [0.02]	1	46	3	0	1	4	4	
	2	42	6	2	0	8	8	
	3	44	4	1	1	6	6	
	4	38	9	3	0	12	12	
	5	42	6	2	0	8	8	
$\bar{x} \pm EE$		42.4 ± 0.4	5.6 ± 0.3	1.6 ± 0.09	0.4 ± 0.1	7.6 ± 0.4	7.6	15.2 ± 0.6
V ₂ O ₅ [0.04]	1	41	7	2	0	9	9	
	2	34	13	3	0	16	16	
	3	40	6	2	2	10	10	
	4	38	9	3	0	12	12	
	5	35	10	4	1	15	15	
$\bar{x} \pm EE$		37.6 ± 0.4*	9 ± 0.2*	2.8 ± 0.07	0.6 ± 0.2	12.4 ± 0.4*	12.4	24.8 ± 0.6*
V ₂ O ₅ [0.08]	1	32	18	0	0	18	18	
	2	36	13	1	0	14	14	
	3	39	10	1	0	11	11	
	4	40	9	1	0	10	10	
	5	38	8	3	1	12	12	
$\bar{x} \pm EE$		37 ± 0.4*	11.6 ± 0.5*	1.2 ± 0.2	0.2 ± 0.1	13 ± 0.4*	13	26 ± 0.6*

ACN aberración cromosómica numérica, **Ctrl-** control negativo, **Ctrl+** control positivo Mitomicina - C, **F** (frecuencia) *p < 0.05 VS control negativo, $\bar{x} \pm EE$, X² - Yates.

La **Tabla 2**, muestran las frecuencia de aberraciones cromosómicas de tipo numérico y el porcentaje de células con ACN observadas y registradas, la estadística señalo como significativo $*p < 0.05$, el aumento en las euploidias en los grupos expuesto a V_2O_5 [0.04 y 0.08 M]. Esta aberración se definen como es el estado celular en el cual la célula tiene uno o más juegos completos de cromosomas haploides (n) de su especie. ver **Fig.12.-**. Diversos autores como Rodríguez & Frías, (2013), han establecido que la principal causa de las euploidias es la no disyunción (separación) de los todos los cromosomas homólogos en la primera división de la meiosis, no obstante, el proceso de citocinesis no debe ocurrir sino hasta que la separación de los cromosomas se ha completado. En general, se considera que la ejecución apropiada de la citocinesis recae en la organización estructural celular y no en moléculas difusibles, sin embargo, estudios recientes han encontrado que las deficiencias en la cinasa CHK1 pueden tener como consecuencia errores en la segregación cromosómica, regresión de la citocinesis y **binucleación**.

La citocinesis es un proceso independiente, que se inicia simultáneamente a la telofase, técnicamente no es parte de la mitosis, sino un proceso aparte, necesario para completar la división celular, en las células animales, se genera un surco de escisión que contiene un anillo contráctil, el cual se activa en el lugar donde estuvo la placa metafásica, estrangulando el citoplasma y aislando así los dos nuevos núcleos en dos células hijas. Tanto en células animales como en plantas, la división celular está dirigida por vesículas derivadas del aparato de Golgi, que se mueven a lo largo de los microtúbulos hasta la zona ecuatorial de la célula, de no darse esta interacción el ciclo celular y la carga genética se alteran.

Cabe resaltar dentro de este análisis que autores como De Rooij & Russell, (2000), establecieron que, el epitelio germinativo de mamíferos macho, el cual comprende a las espermatogonias, es un tejido, en el cual este tipo de aberraciones numéricas, esta altamente presente, en parte mediado por la unión de las espermatogonias a través de puentes citoplasmáticos, formando **sincisios**, que derivan en reacciones de diferenciación celular coordinada. En cuanto, al aumento de la frecuencia de euploidias en los grupos de exposición, la tendencia de los datos es clara, es posible que la exposición a V_2O_5 [0.04 y 0.08 M], afecte los mecanismos encargados de la culminación exitosa de la citocinesis, al detenerla o retrasarla, demostrando así una posible actividad citostática del Vanadio.

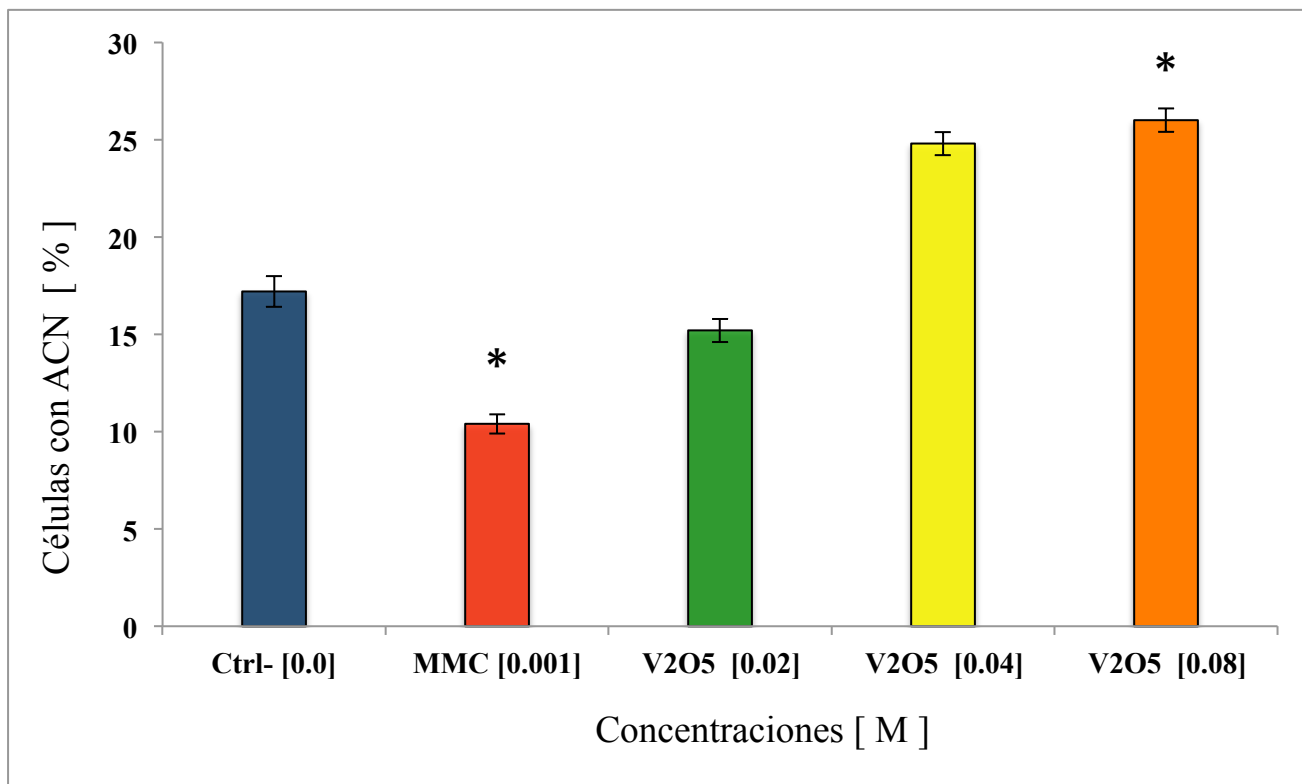


Fig.11. Efecto del V_2O_5 en el porcentaje de células con aberraciones cromosómicas numéricas ACN en ratones macho CD1, * $p < 0.05$ *t*S control negativo, MMC control positivo mitomicina-c, $x \pm EE$, X^2 - Yates.

En tanto, el porcentaje de células que presentaron **aberraciones cromosómicas numéricas** ACN, aumento significativamente * $p < 0.05$, esto únicamente en el tratamiento expuesto a la concentración más elevada [0.08 M], a pesar de que la estadística no indicó significancia en la concentración media, es decir V_2O_5 [0.04 M], estuvo solo 1.2 puntos porcentuales por debajo de la significancia anteriormente discutida y mostrando un comportamiento a la alza, es así posible atribuir este resultado al comportamiento genotóxico del pentóxido de vanadio, el total de células que presentaron daño y la disminución significativa * $p < 0.05$ de células normales 2n lo corroboran, de tal modo existen menos células normales 2n.

Existe un tema de gran controversia dentro de los estudios científicos con líneas murinas de ratones, pues la sucesiva consanguineidad, puede ser un parámetro a tomar en cuenta a la hora del análisis citogenético, y como lo establece, el manual de genética de roedores de laboratorio del 2014, en su capítulo “Los roedores de laboratorio, como modelo de enfermedades humanas” el descubrimiento de mutaciones con patologías similares a enfermedades humanas es una situación frecuente en los animalarios que crían roedores a lo largo de los últimos 90 años se han descrito más de 1.500 mutaciones en el ratón de laboratorio, entre espontáneas e inducidas, muchas de ellas de gran valor en medicina experimental y de diseño (Benavides & Guénet, 2014).

Profundizando en este tema, existen trabajos de investigación como el de Arencibia *et al.*, en 2012 donde se reporta la comparación de los índices espontáneos e inducidos de aberraciones cromosómicas en ratones de ambos sexos de las líneas Balb/c, NMRI, OF-1 y C57BL/6/cenp, sus resultados destacan el rango descrito para la cepa Balb/c con una frecuencia espontánea de 0-3% células con aberraciones en 1000 células registrables. En 2015 se reporto una base de datos sobre daños basales e inducidos al ADN de algunas de las especies murinas mas comercializadas, esto pues, en experimentación animal es necesario el conocimiento de los rangos basales de las especies a utilizar, esta base de datos se recopilo, teniendo en cuenta los resultados de daño al ADN, mediante el ensayo cometa alcalino de leucocitos de sangre periférica, micronúcleos y aberraciones cromosómicas de células de la médula ósea y la morfología de la cabeza del espermatozoide, sus resultados establecen que las especies murinas menos sensibles ante el daño genotóxico en cuanto a los índices espontáneos endógenos fueron los ratones BALB/c, en el caso de los ratones macho, el valor total de células con aberraciones cromosómicas fue de 175 dentro de un conteo de 500 células. Estos datos permiten comparar nuestros propios resultados, sobre todo en el posible análisis del control negativo [0.00 M] y si se comporto adecuadamente.

La estadística no mostró significancia sobre los eventos de aneuploidías, definidas como la presencia de uno o más cromosomas supernumerarios, o ausencia de cromosomas que lleva a desequilibrio en la dotación cromosómica, de la misma manera para el caso de los eventos resultantes en haploidias, la estadística no mostro diferencias significativas. El control positivo Mitomicina-C ($C_{15}H_{18}N_4O_5$) (0.001 M), no se equiparo en comportamiento al pentóxido de vanadio, pues mostró una reducción significativa $*p < 0.05$, esto concuerda con la citotoxicidad esperada para dicho compuesto. La Mitomicina-C, de acuerdo a Schiebe *et al.*, (1998), actúa como un agente alquilante, cancerígeno y teratógeno, cuyo metabolito activo se une al ADN, provocando la desorganización del ácido desoxirribonucleico, que resultan en la inhibición de la síntesis de ADN, el grado de unión al ADN parece estar relacionada con el contenido de guanina y citosina, la Mitomicina-C es también capaz de crear radicales libres de oxígeno, que dañan el ADN y causa roturas cromosómicas que conducen a aberraciones cromosómicas.

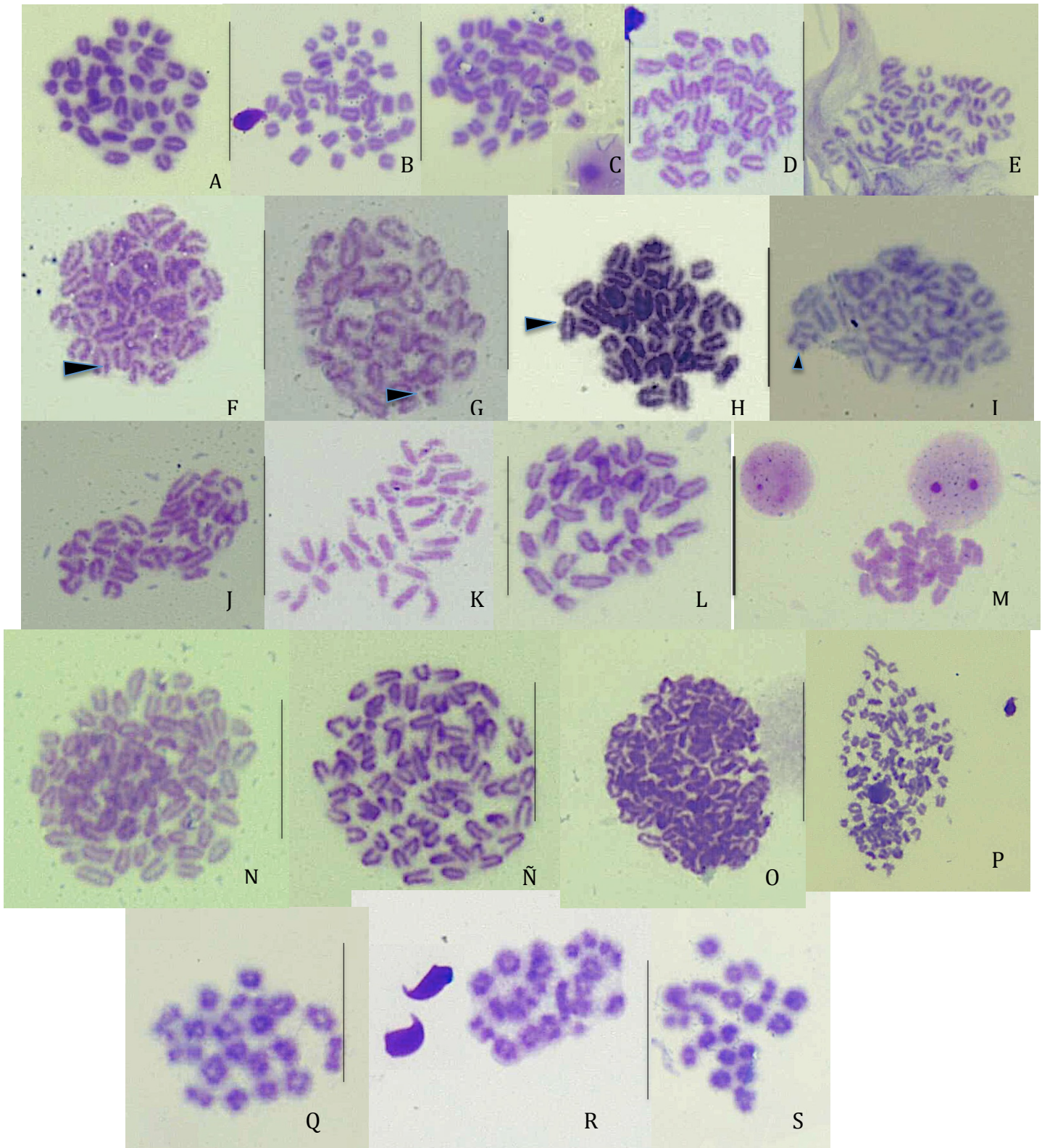


Fig 12.- Aberraciones Cromosómicas Estructurales y Numéricas en ratones macho CD-1 tratados de manera sub-crónica con pentóxido de vanadio (V_2O_5) por vía aérea. **A,B,C,D,E:** C-metafase, $2N = 40$, **F:** rompimiento cromatídico, **G:** Fragmento o minuta cromosómica, **H, I:** rompimiento cromosómico, **J, K, L, M:** aneuploidía, **N,Ñ,O,P:** euploidia, **Q,R,S:** metafase meiótica. 100x Obtenidas en Laboratorio 2 primer piso, Citogenética y Mutagénesis.

Tabla 3.- Proporción de espermatogonias e Índice Mitótico Espermatogonial en ratone CD-1 tratados de manera subcrónica con V₂O₅ por vía aérea.

Tratamientos	Ratón	Espermatogonia A0	Espermatogonia In	Espermatogonia B	IME
[M]		(%)	(%)	(%)	(%)
Ctrl - [0.00]	1	59.94	24.65	15.41	1.5
	2	58.21	25.85	15.94	1.7
	3	54.17	29.71	16.12	2
	4	48.7	28.6	22.7	1.5
	5	54.7	28.8	16.5	1.2
$\bar{x}\pm EE$		55.15±1.95	27.52±0.97	17.33±1.35	1.58±0.13
Ctrl+ MMC [0.001]	1	48.2	42.3	9.5	0.4
	2	48.05	39.8	12.15	0.2
	3	51	41.2	7.8	0.15
	4	51.5	33.3	15.2	0.25
	5	58.7	31.5	9.8	0.15
$\bar{x}\pm EE$		51.49±1.93*	37.62±2.18*	10.89±1.28*	0.23±0.04*
V ₂ O ₅ [0.02]	1	44.01	31.75	24.25	1.85
	2	58.3	29.8	11.9	3.4
	3	58.15	30.15	11.7	3.5
	4	66.35	17.95	15.7	2.8
	5	65.5	17.7	16.8	2.7
$\bar{x}\pm EE$		58.46±4.04	25.47±3.13	16.07±2.28	2.85±0.26*
V ₂ O ₅ [0.04]	1	47.65	25.4	26.95	1.4
	2	28.55	31.35	40.1	2.15
	3	44	35	21	1.35
	4	53.65	30.5	15.85	2.1
	5	55.4	32.35	12.25	2.0
$\bar{x}\pm EE$		45.85±4.78*	30.92±1.57*	23.23±4.89*	1.80±0.17
V ₂ O ₅ [0.08]	1	34.64	46.75	18.61	1.05
	2	50.45	37.15	12.4	1.35
	3	50.35	37.8	11.85	0.8
	4	48.25	35.65	16.1	1.4
	5	51.9	34.85	13.25	1.5
$\bar{x}\pm EE$		47.11±3.17*	38.44±2.14*	14.45±1.27	1.22±0.12

Ctrl- control negativo, Ctrl+ MMC control positivo Mitomicina-C, A0 célula madre, In intermedia, B diferenciada, IME índice mitótico espermatogonial. *p < 0.05 VS testigo negativo, $\bar{x} \pm EE$, Z para proporciones y "t" de Student.

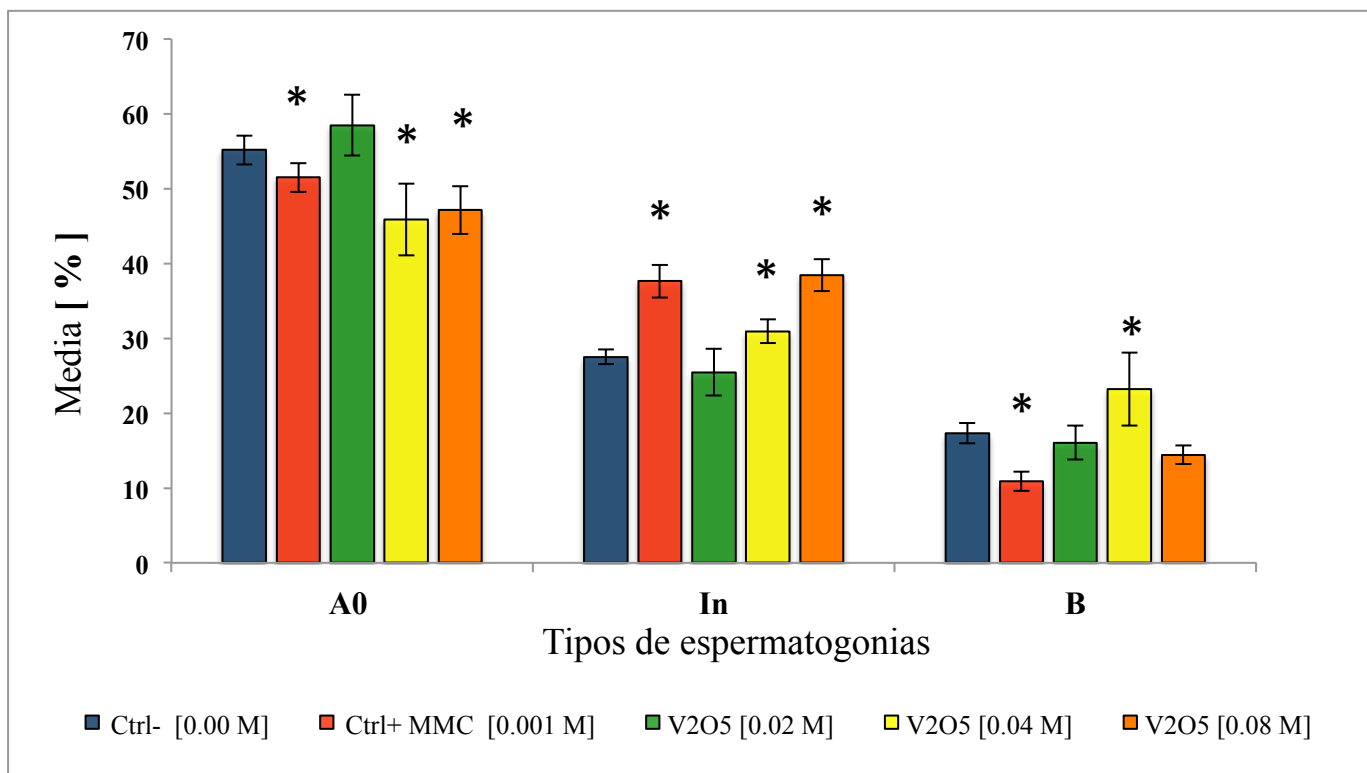


Fig 13.- Proporción de espermatozoos (**A0** célula madre, **In** intermedia y **B** diferenciada) de ratones CD-1 tratados de manera subcrónica con pentóxido de vanadio (V_2O_5) por vía aérea, MMC control positivo mitomicina-c, * $p < 0.05$ VS control negativo, $\bar{x} \pm EE$, Z para proporciones.

La [Tabla 3.-](#) y [Figura 13.-](#), muestran la proporción de espermatozoos tipo: **A0**, **In** y **B**, observadas y registradas. El sub-grupo más numeroso son las espermatozoos A0, células diploides y multipotente, cuyo ciclo celular, las mantiene dividiéndose por mitosis, hasta su diferenciación, de esta manera la continuidad del epitelio germinativo esta asegurada, los ratones expuestos a V_2O_5 [0.04 y 0.08 M] disminuyeron significativamente ($p < 0.05$), son células reconocibles por su morfología, células redondas, presentan solo una mota o región conspicua de material nucleolar, orientada a la periferia celular. La proporción **A0** en relación al control negativo. ver [Fig.14.-](#). La toxicología del V_2O_5 establece que es un compuesto altamente oxidante, el cual, genera ERO en su interacción química. La reducción en la proporción de A0 y el aumento en las concentraciones usadas, sugieren que eventos de disminución o muerte celular pudieron ocurrir durante el periodo de exposición, es decir efecto citotóxico, de acuerdo a Cooke *et al.*, (2003), el V_2O_5 es capaz de incrementar los radicales hidroxilo mediante la reacción de tipo Fenton, y cuando se excede la capacidad de la célula para defenderse del ataque de las especies reactivas de oxígeno, los componentes celulares se alteran, modifican la actividad enzimática, dañan el ADN e inducen de esta manera, las señalizaciones requeridas para la vía apoptótica.

Profundizando con esta idea, autores como Dubin, M & Stoppani, A. (2000), establece que las especies reactivas del oxígeno ERO: superóxido, radical hidroxilo y moléculas reactivas como el peróxido de hidrógeno son potentes promotores de la apoptosis. La autora refiere al mecanismo de apoptosis por EROS sobre mitocondrias, en el cual las ERO y otros factores apoptogénicos citosólicos actúan sobre la mitocondria induciendo la apertura del PMPT (poro mitocondrial de permeabilidad transitoria) o canal megamitocondrial, esto a su vez, desencadena el colapso del potencial de la membrana mitocondrial interna, posteriormente, el desequilibrio osmótico entre matriz y espacio intermembrana produce la expansión mitocondrial y la membrana externa se rompe, esto a su vez aumenta la producción de EROS y finalmente la liberación de las proteínas del espacio intermembrana como el citocromo c, nucleasas y las caspasas, completan la apoptosis y facilitan la fagocitosis de la célula. De este modo es posible que el daño citotóxico sobre las espermatogonias que no se han diferenciado aun, y que no son acogidas por la barrera hematotesticular, desarrollen mayor daño a su integridad genética y celular. El control positivo se comporta de la manera esperada, para un potente genotóxico como la MMC.

El siguiente sub-grupo celular son las espermatogonias **In** intermedias, esta conformado por un gran número de estadios de diferenciación celular hacia el tipo B. Diferenciables por su morfología, forma redonda o de avellana, [Fig.14.-](#). La síntesis de proteínas mediada por la actividad de secuencias de ARNr en las espermatogonias In, ha desarrollado motas o regiones conspicuas de material nucleolar, se consideran de 2 a 7. La particularidad de este subgrupo es que, a medida que avanzan en su diferenciación, la síntesis de proteínas trabaja a marchas forzadas, las regiones nucleolares son mas evidentes, el aumento de tamaño en la célula son característicos. la proporción de espermatogonias **In** de ratones expuestos a [0.04 y 0.08 M] aumento significativamente ($p < 0.05$) al compararlo con el control negativo. ¿Es posible que un compuesto que genera citotoxicidad sea capaz de desencadenar la proliferación en este grupo característico?, Los ROS son moléculas mensajeras que regulan una amplia variedad de procesos fisiológicos celulares incluyendo la proliferación, la diferenciación y la apoptosis esto, de acuerdo a Schmidt *et al.* (2015). Si la posición de las células dentro del resguardo epitelial le supone a las espermatogonias **In** un espacio más seguro, su número aumentaría en relación a las espermatogonias basales de tipo A0.

Retomando la idea de un compuesto que a través de su comportamiento tóxico, desencadene la aceleración del metabolismo, dos investigadores, Widlansky & Gutterman, (2011) dan cuenta del papel jugado por las especies reactivas de oxígeno ERO y las especies reactivas de Nitrógeno ERN en la regulación del metabolismo de la glucosa, induciendo un incremento en la captación de glucosa por parte de los adipocitos y de las células de músculo esquelético, en este caso se da una translocación a la membrana del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) y un incremento consecuente en la captación intracelular de glucosa también a nivel de músculo esquelético los ROS participan en la diferenciación miogénica y en la regeneración del tejido muscular lesionado, y me da pauta para hablar sobre los primeros compuestos de vanadio que se probaron con un enfoque antidiabético, fueron algunas de sus sales inorgánicas, como el sulfato de vanadilo o el ortovanadato de sodio, al usarlas se observó que normalizaban la concentración de glucosa en sangre, aunque provocaban algunos problemas colaterales como irritaciones gastrointestinales. No obstante este compuesto no ha sido estudiado farmacológicamente aun.

Pese a que, la idea del V_2O_5 como un agonista o efector insulínico que permite la captación de glucosa facilitada, resulta atractiva, existe otra posibilidad que explica el comportamiento que los números nos sugieren. Por un lado las espermatogonias A0, de los grupos expuestos a las concentraciones media y alta, disminuyeron debido a la apoptosis derivada de un potente efecto de estrés oxidativo, sin embargo es posible que el V_2O_5 pueda afectar de manera distinta a células en pleno desarrollo, si el efecto que el compuesto desencadena, sobre las espermatogonias **In**, es de tipo citostático, estas células que atraviesan un proceso complejo de diferenciación tenderían a no completarlo, a que su ciclo celular se viera afectado parcial o totalmente derivando en la no diferenciación y en una acumulación de nuevas células que sucumbirán ante el compuesto, el aumento de espermatogonias In se debe a la acumulación por no diferenciación de las mismas, si este supuesto se cumpliera, el número de espermatogonias B, tendría que verse mermado de igual manera. En este aspecto el control positivo no se comportó de la manera esperada, pues mostró aumento significativo ($p < 0.05$) al igual que los grupos de exposición a vanadio, este dato refuerza la idea de que un genotóxico como pueden ser el vanadio o la Mitomicina-c afectara de manera citostática a aquellas células que atraviesan un estadio de diferenciación, haciendo que su proporción vaya en aumento.

El último sub-grupo a discutir son las espermatogonias de tipo **B** o diferenciadas, aquellas células que se encuentran en la fase final de crecimiento previa a diferenciarse en espermatocito 1. Reconocibles por su apariencia, células con forma de avellana, **Fig.14.-** La actividad nucleolar está en su máxima expresión y se presentan motas o regiones conspicuas de material nucleolar, más de 7 motas son características. La proporción de espermatogonias B en el grupo de exposición a V_2O_5 [0.04 M] aumentó significativamente ($p < 0.05$) en contraste al control negativo. Dicho aumento es similar en estadios de diferenciación previos. La estadística sugiere que la concentración media de vanadio, no desempeña un efecto citostático tan marcado. El control positivo se comportó de la manera esperada, suponiendo un potente efecto citostático sobre el sub-grupo espermatogonial, los resultados que el grupo de exposición a V_2O_5 [0.02 M] se mantuvieron dentro de la normalidad, No demostró cambios o modificaciones alguna atribuible al tratamiento sub-crónico.

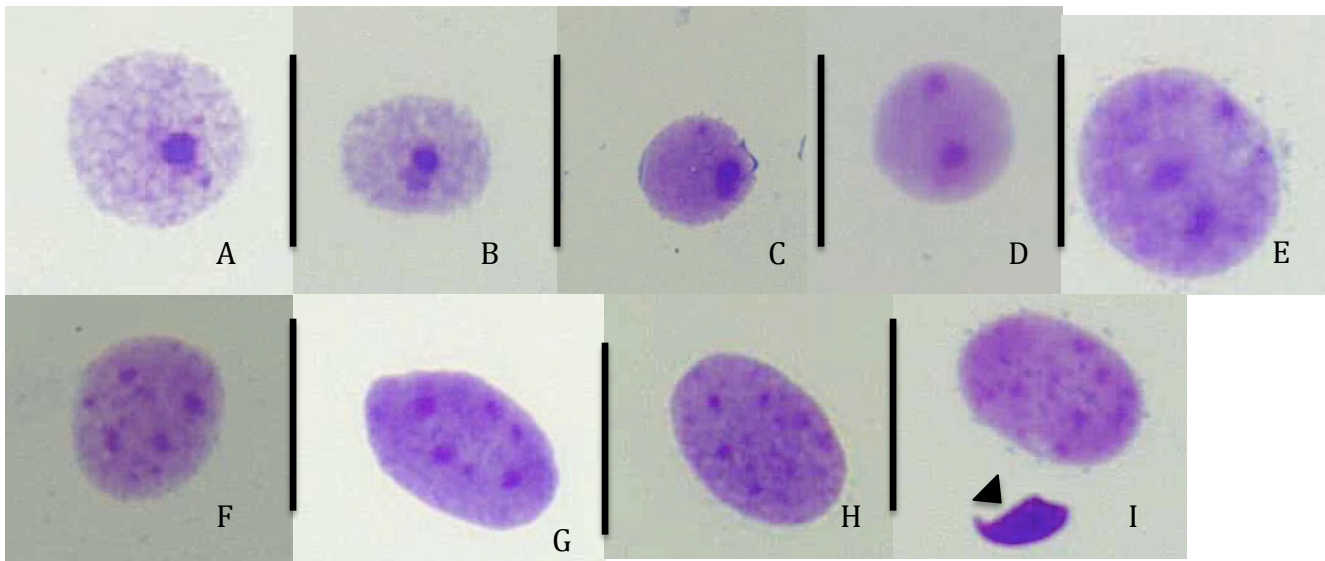


Fig 14.- Espermatogonias de ratones CD-1 tratados de manera subcrónica con pentóxido de vanadio (V_2O_5) por vía aérea. **A:** espermatogonia A0, **B,C, D:** espermatogonia In, **E,F,G,H,I:** espermatogonia B. **Punta de flecha:** cabeza de espermatozoide. 100x, Obtenidas en Laboratorio 2 primer piso, Citogenética y Mutagénesis.

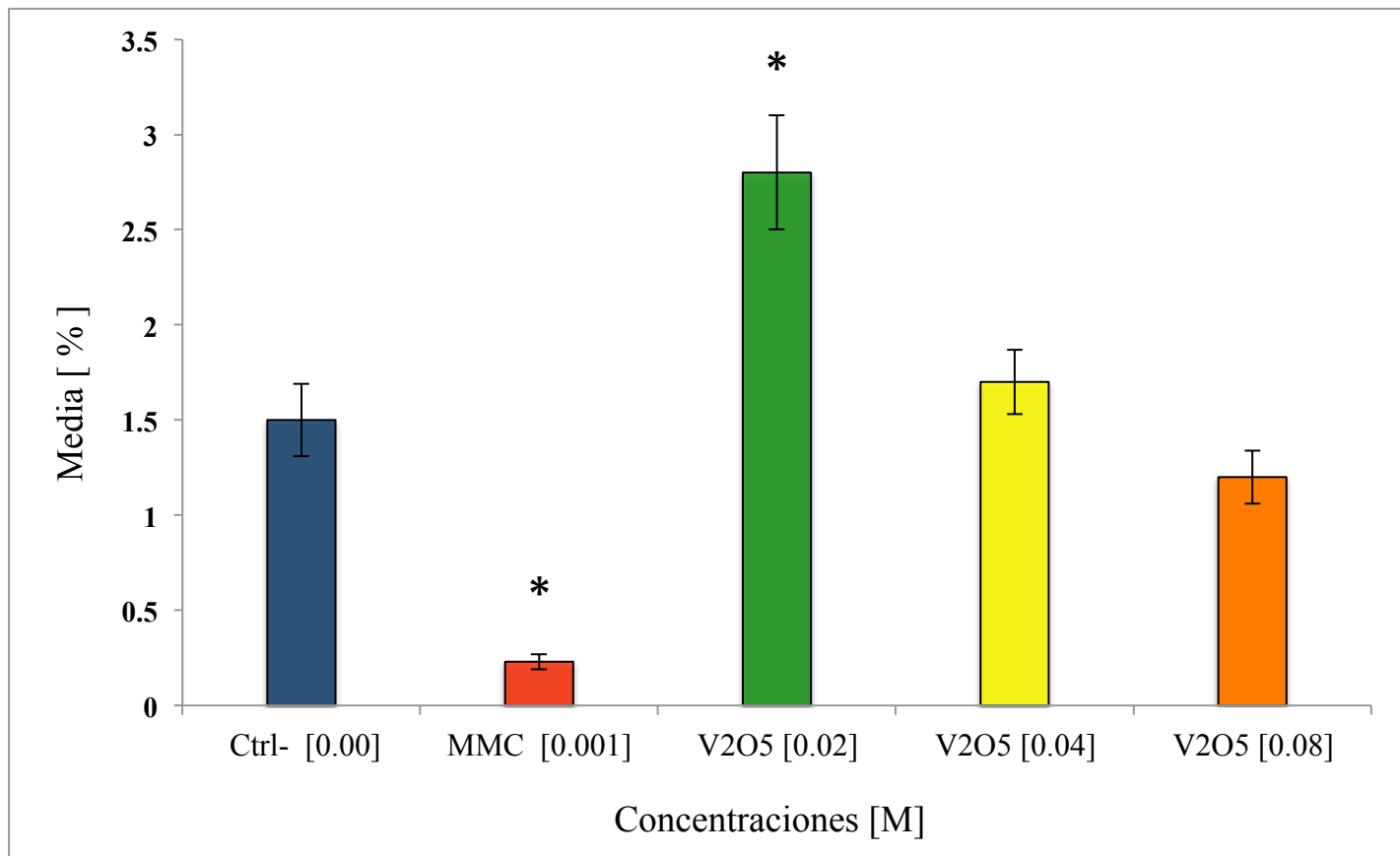


Fig 15.- Índice Mitótico Espermatogonial en ratone CD-1 tratados de manera subcrónica con V_2O_5 por vía aérea, Ctrl- control negativo, MMC mitomicina c, control positivo. * $p < 0.05$ VS testigo negativo, $x \pm EE$, “*t*” de Student.

La [Tabla 3.-](#) y [Figura 15.-](#), muestran los resultados del Índice Mitótico Espermatogonial **IME** en ratones tratados de manera sub-crónica con pentóxido de vanadio (V_2O_5) inhalado en diferentes concentraciones. El índice mitótico que los ratones expuestos a V_2O_5 [0.02 M] aumentó significativamente ($p < 0.05$) en relación al control negativo. La actividad mitótica dentro de un sistema *in vivo*, representa la medida de la velocidad a la que las células se multiplican y crecen. Es posible que la concentración mas inocua de vanadio empleada en este estudio manifieste efecto mitogénico y que a diferentes concentraciones este efecto se vea sobrepasado por algún otro efecto de mayor actividad catalítica. Diferentes estudios de células en cultivo como los de Berg *et al.* (1977), muestran que el vanadio tiene un comportamiento bifásico con respecto a la proliferación celular, concentraciones entre 2,5 y 25 μM son inductoras de la proliferación celular, mientras que concentraciones mayores a 50 μM producen la inhibición de la proliferación celular.

Por otro lado, hay algunos derivados de vanadio que no tienen este comportamiento, pues son inhibidores de la proliferación celular, independientemente de la concentración utilizada para el ensayo. Considero que, este comportamiento a nivel de cultivo puede tener una contraparte activa en sistemas *in vivo*, desencadenando un efecto inductor de la proliferación, con lo cual es posible que este efecto tenga injerencia en el aumento de la concentración espermática, o que inclusive bajo un comportamiento exacerbado o fuera de control pueda desarrollar crecimientos tisulares. Que el efecto mitogénico del V_2O_5 pueda estar presente solo en la concentración [0.02 M], actuando sobre las espermatogonias que se dividen por mitosis ver Fig. 16.-, es decir las no diferenciadas, puede ser la respuesta del sistema ante el efecto citotóxico del compuesto. No debemos olvidar que el Vanadio es un metal, y como tal, genera diferentes efectos sobre las células con las que interactúa, la hormesis, de acuerdo a López *et al.* (2012) es un tipo de comportamiento característico de distintos metales de transición como el Fe y el Zn.

Actualmente, el trabajo de López-Diazguerrero *et al.* (2013), establece una serie de procesos conservados durante los cuales una dosis baja o sub-lethal de un agente o estímulo estresante es capaz de activar una respuesta adaptativa que incrementa la resistencia de una célula u organismo frente a un estrés más severo, en esto consiste el efecto de **hormesis**, la respuesta hormética involucra la expresión de una gran cantidad de genes que codifican para proteínas cito-protectoras,

las enzimas antioxidantes. Sin embargo, la respuesta celular de los organismos dependerá de la intensidad del desbalance redox, un ejemplo muy interesante de dosis respuesta es el que se observa cuando se incrementan los niveles de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), una ERO que se presenta de manera ubicua en los organismos aeróbicos, a concentraciones nanomolares (10^{-9}), el H_2O_2 funciona como señalizador o segundo mensajero estimulando la proliferación celular, mientras que a concentraciones micromolares (10^{-6}) promueve la detención transitoria del ciclo celular e induce procesos adaptativos protectores mediante la modificación en la expresión de diferentes genes; sin embargo, a concentraciones milimolares (10^{-3}) o mayores, el H_2O_2 claramente induce un estado de estrés oxidante que la célula no puede contrarrestar, por lo que se genera la muerte celular, ya sea por procesos apoptóticos o necróticos.

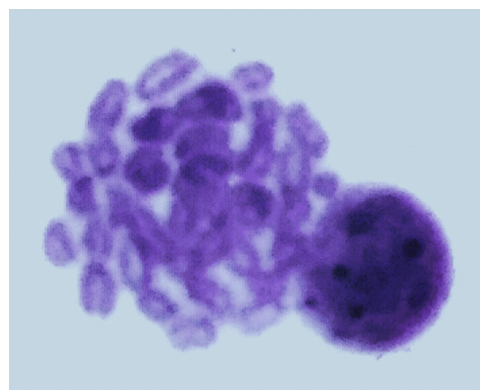


Fig 16.- C-metafase y espermatogonia, objetos del análisis mitogénico. Obtenidas en Laboratorio 2 primer piso, Citogenética y Mutagénesis.

Me gustaría retomar la última idea analizada, la presencia del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como una molécula altamente reactiva que puede funcionar como una señal característica y estimuladora en la proliferación, me parece muy adecuado mencionar que de acuerdo a autores como Korbecki *et al.*, (2012) el vanadio es acumulado en el organismo en su estado de oxidación 4^+ , éste ion puede ser oxidado al estado 5^+ mediante la reacción de Fenton, liberando un radical hidroxilo, asimismo el $V5^+$ puede ser reducido por NADPH al estado 4^+ generando de esta manera peróxido de hidrógeno H_2O_2 , el vanadio también puede reaccionar con el radical superóxido resultando el radical peroxovanadilo. Autores como (Barceloux & Barceloux, 1999), establecen que las alteraciones del organismo producidas por el vanadio, se deben principalmente a su capacidad oxidativa, asimismo se ha reportado que el vanadio activa proteínas cinasas activadoras de mitógenos (MAPKs) (Fortoul *et al.*, 2011). En modelos animales, se ha visto que la inhalación de vanadio tiene efectos adversos en varios órganos y sistemas. En huesos y dientes se ha observado un aumento en la concentración de vanadio en éstos proporcional al tiempo de exposición, ocasionando: disminución de la composición inorgánica de los huesos, rugosidad y desorden de la estructura del esmalte dental, y malformaciones de los incisivos de ratón (Fortoul *et al.*, 2014). El análisis mitótico contempla la relación entre los estadios metafásicos e interfásicos observables en la preparación citológica ver **Fig. 17.-**

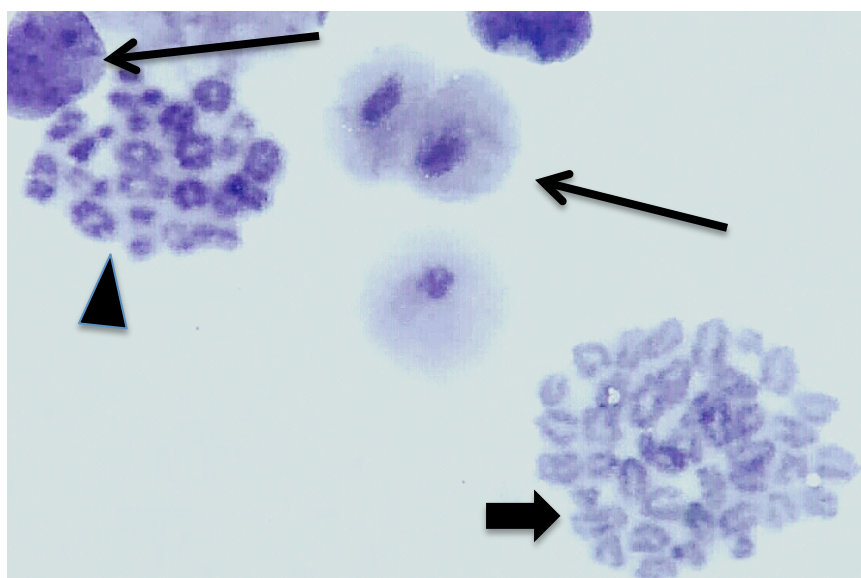


Fig 17.- Flecha: C-metáfase mitótica, **Punta de flecha:** metafase meiótica **Flecha larga:** espermatogonía. Obtenidas en Laboratorio 2 primer piso, Citogenética y Mutagénesis.

Tabla 4.- Densidad y morfología espermática de ratones CD-1 tratados de manera sub-crónica con V₂O₅ por vía aérea.

Tratamientos [M]	Ratón	Densidad (10 ⁶ cel/ml)	Normal (%)	Cabeza (%)	Pieza media (%)	Flagelo (%)
Ctrl - [0.00]	1	56.15	183.5	5	1.5	10
	2	13.81	162	13.5	1.5	23
	3	81.37	178.5	12	0.5	9
	4	11.85	154	12	4	30
	5	76.62	166	11.5	7.5	15
$\bar{x} \pm EE$		47.96±7.95	168.8±5.37	10.8±1.47	3.1±1.26	17.5±4.01
Ctrl+ MMC [0.001]	1	120.5	98.5	9	12.5	80
	2	55.25	132	3	4	61
	3	128.5	118.5	3.5	10.5	67.5
	4	70.75	122	1.5	5	71.5
	5	128.5	90.5	2.5	0.5	106.5
$\bar{x} \pm EE$		100.7 ± 15.6^a	112.3±7.7*	3.9±1.3*	6.5±2.1*	77.4±7.8*
V ₂ O ₅ [0.02]	1	22.91	152.5	14	2	31.5
	2	23.81	126.5	8.2	2.2	63.1
	3	52.51	138	6	1	55
	4	38.12	129	6.5	2	62.5
	5	52.87	167.5	4	0	28.5
$\bar{x} \pm EE$		38.04±6.5	142.7±7.6*	7.7±1.6	1.4±0.38	48.1±7.5*
V ₂ O ₅ [0.04]	1	27.51	142	22	11.5	24.5
	2	29.01	107	14.5	18	60.5
	3	30.13	124.5	21.5	25.5	28.5
	4	47.51	147.5	20.2	20.5	32
	5	10.51	127.5	14	42.5	16
$\bar{x} \pm EE$		28.93±5.86*	129.7±7.1*	18.4±1.9*	21.6±5.8*	30.3±7.7
V ₂ O ₅ [0.08]	1	25.01	138	15	24.5	22.5
	2	24.25	113.5	26.5	18.1	60
	3	24.01	133.5	16	2.5	48
	4	21.51	126.5	12	8	53.5
	5	15.25	122	16.5	4.5	57
$\bar{x} \pm EE$		22.06±1.78*	126.7±4.3*	17.2±2.4*	9.7±4.47*	46.4±6.17*

Ctrl-: control negativo, Ctrl+: control positivo Mitomicina C, ^ap < 0.05 VS testigo negativo, “t” Student.

*p < 0.05 VS testigo negativo, $\bar{x} \pm EE$, “t” de Student y Z para proporciones.

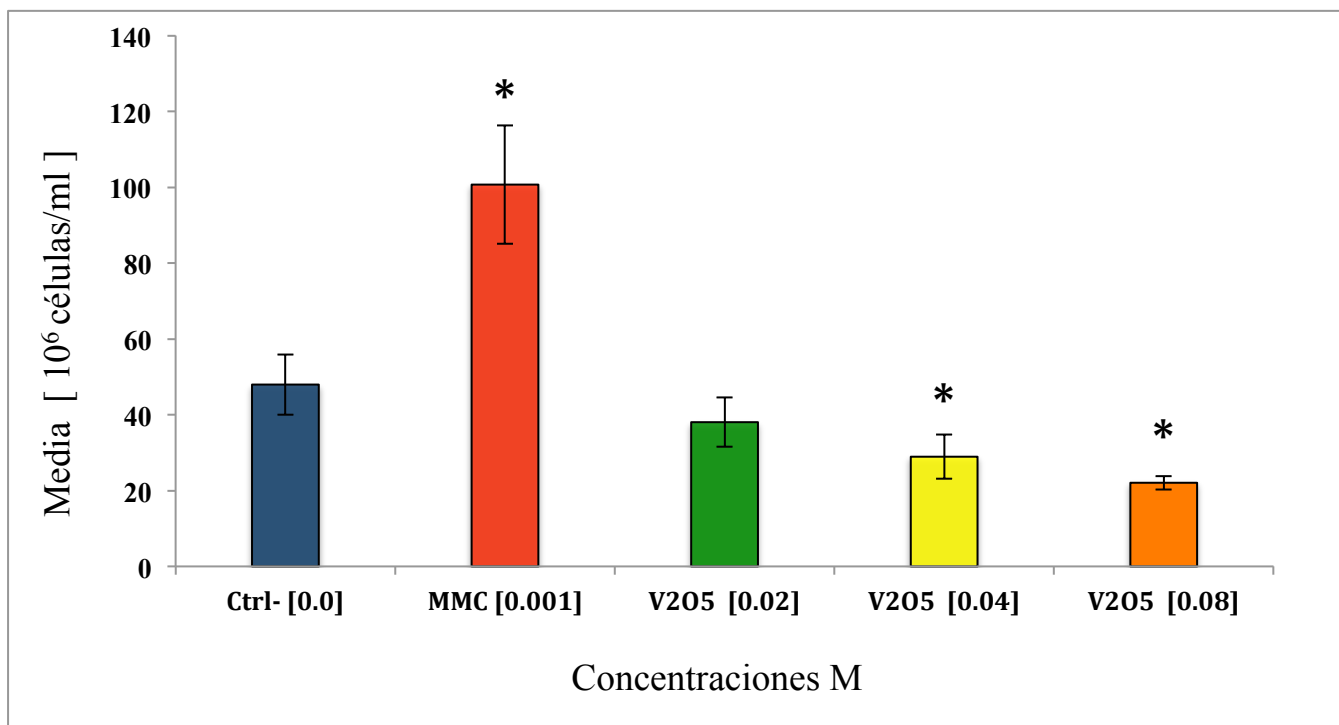


Figura 18.- Efecto del V_2O_5 sobre la densidad espermática en ratones macho CD-1. MMC control positivo mitomicina-c, * $p < 0.05$ VS control negativo, $\bar{x} \pm EE$, “ t ” de Student.

La [Tabla 4.-](#) y [Figura 18.-](#), muestran el comportamiento de la densidad espermática en los diferentes grupos de exposición, la densidad espermática de ratones expuestos a V_2O_5 [0.04 y 0.08 M] disminuyó significativamente ($p < 0.05$) al compararlo con el control negativo. La disminución en el número de espermatozoides presentes en el epidídimo de los grupos expuestos a vanadio, puede ser atribuida a su potencial efecto citotóxico, inducido por ERO. La estadística señala nuevamente a los grupos de exposición medio y alto, como blancos de daño citotóxico, la concentración baja, a pesar de no ser significativa, pareciera describir un comportamiento ante la concentración.

Es bien sabido que algunas especies reactivas de oxígeno están presentes dentro de la motilidad espermática, la cual ocurre en el epidídimo, es decir, son células susceptibles de daño ante ROS. Autores previamente citados como (Olivera *et al.*, 2006), establecen que diferentes ERO están involucradas con el proceso de la hiperactivación, el cual requiere de AMPc, cuya producción parece estar modulada por las especies reactivas de oxígeno (ROS), entre las que se encuentran el superóxido (SO) y el óxido nítrico (ON), El superóxido se origina en el transporte de electrones en la mitocondria y es transformado a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por la enzima superóxido dismutasa (SOD). Este peróxido activa a la enzima adenilil ciclasa presente en membrana, para que fosforile proteínas flagelares.

La peroxidación lipídica representa un mecanismo importante de daño tisular, cuando una célula ve comprometida su integridad, ante una posible reparación del daño, la vía apoptótica o necrótica, el mecanismo celular reaccionara de la manera mas eficiente para el sistema en general. Céspedes & Castillo, (2008), describen el proceso de peroxidación lipídica, generalizando las ideas, ellos establecen que el proceso consta de tres grandes fases reconocibles; primero, la Iniciación de la peroxidación lipídica, ocurre cuando un radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, ocurre la abstracción de hidrógeno del grupo metileno unido a un carbono flanqueado por dobles enlaces, esto es la formación de una especie radical (radical alquílico). El hecho de que exista un doble enlace, debilita los enlaces carbono-hidrógeno del átomo de carbono adyacente a dicho doble enlace. Los radicales formados se estabilizan por resonancia con el doble enlace. Posteriormente viene la fase de propagación, en la que ocurre una reacción en cadena con la extensión del daño y la formación de más especies radicales

La especie radical formada en la primera fase reacciona con el oxígeno y forma un radical peroxilo que puede reaccionar con otros ácidos grasos poliinsaturados adyacentes y originar un hidroperóxido o lipoperóxido y un radical alquílico; así se produce una reacción en cadena y el daño a un número creciente de ácidos grasos, finalmente, se genera la fase de terminación o descomposición, en la que hidroperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos reactivos y cetonas. Los aldehídos formados, como el malondialdehído y el 4-hidroxinonal, pueden reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos, lo que determina efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos, así como un papel patogénico en varias enfermedades, los iones metálicos pueden catalizar la descomposición de los hidroperóxidos lipídicos presentes en sistemas biológicos en radicales peroxilo. El comportamiento de los datos indica suponer el efecto Citotóxico del V2O5 sobre espermatozoides de ratón. El control positivo, en esta ocasión, no se comporto con forme a lo esperado, es rescatable, que la compactación del material genético en espermatozoides dificultaría el efecto de un poderoso genotóxico como la MMC, así mismo es posible que factores hormonales incidieran en la densidad.

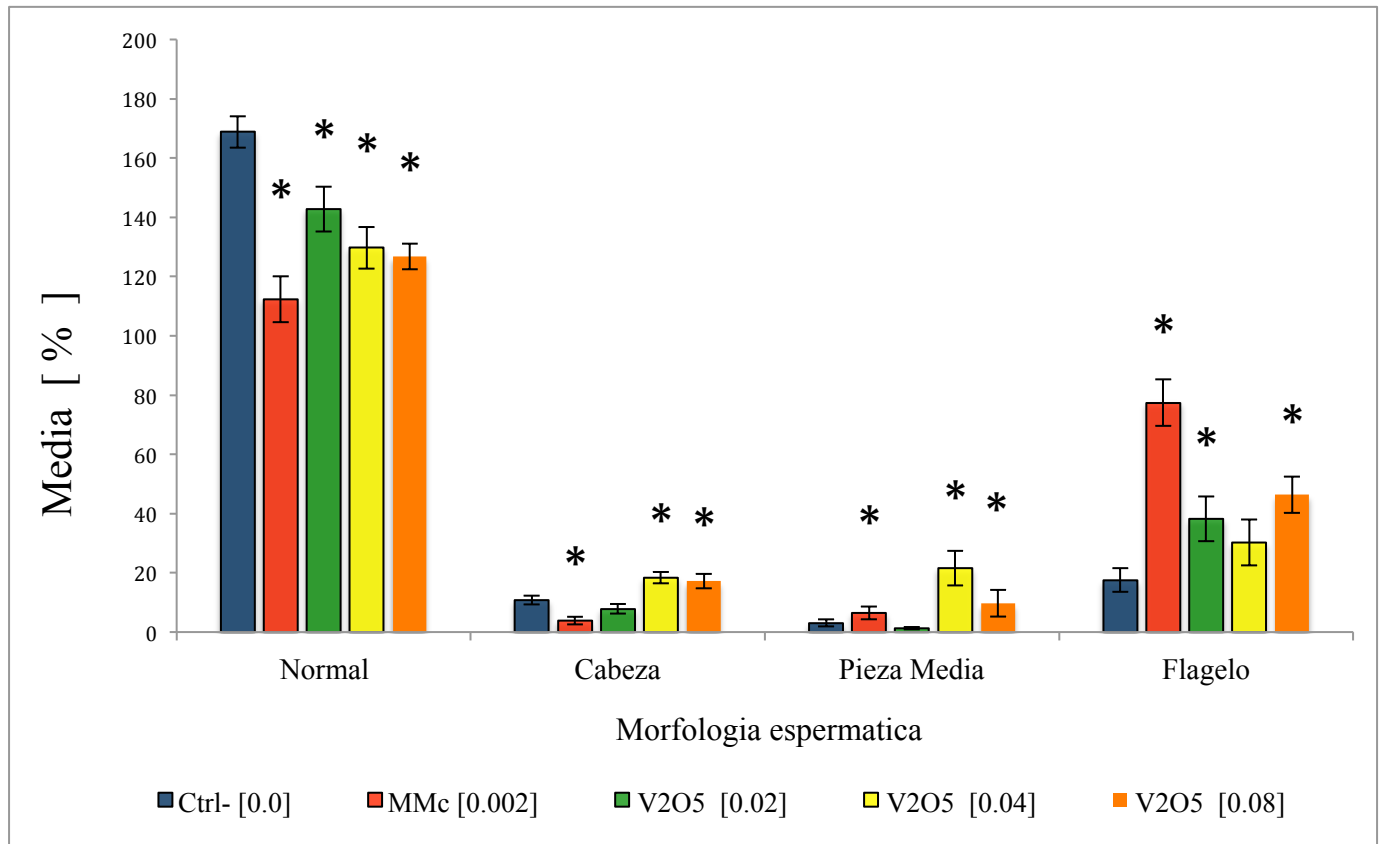


Figura 19.- Efecto del V_2O_5 en la morfología espermática en ratones macho CD-1. MMC control positivo mitomicina-c, * $p < 0.05$ VS control negativo, $\bar{x} \pm EE$, Z para proporciones.

La [Tabla 4.-](#) y [Figura 19.-](#), muestran los resultados de la morfología espermática de ratones CD-1 tratados con diferentes concentraciones de V_2O_5 por vía aérea. El análisis de la morfología espermática consistió en el conteo y reconocimiento, tanto de, espermatozoides con morfología normal, como de aquellos que presentaron daño en la cabeza, pieza media o flagelo. La estadística señala que existe una correlación entre el aumento de espermatozoides que presentan daño y la concentración del compuesto. La proporción de espermatozoides normales en todos los grupos experimentales disminuyó significativamente ($p < 0.05$) al compararlo con el control negativo, esta disminución está relacionada con el aumento de espermatozoides con daño. En los grupos de ratones expuestos a concentraciones de V_2O_5 [0.04 y 0.08 M], los tres tipos de daño (Cabeza, Pieza Media y Flagelo) ver [Fig. 20.-](#), señalaron aumentos significativos ($p < 0.05$) al contrastarlos con el control negativo. En cuanto al grupo expuesto a V_2O_5 [0.02 M], se registró el aumento significativo ($p < 0.05$) de espermatozoides con daño en el flagelo al ser comparada con el control negativo.

Como ya se ha establecido anteriormente, el comportamiento altamente oxidativo del V_2O_5 , el cual al ingresar a sistemas biológicos, es biotransformado a V_2O_4 y en este proceso libera diferentes iones como (OH , VO_2^+ y HVO_4^{2-}) lo cual ocasiona la lipoperoxidación de las membranas y compromete la integridad celular, esto concuerdan con lo establecido por Altamirano-Lozano *et al.*, (1996), quienes observaron la presencia de espermatozoides anormales, y la disminución de la densidad y motilidad espermática, así como es posible argumentar igualmente que el efecto citostático del V_2O_5 , afectaría la proliferación y diferenciación celular, mediante el daño a estructuras accesorias, impidiendo la replicación del ADN, generando de este modo daño morfológico, como cabezas malformadas y flagelos altamente enrollados principalmente. Estos resultados resultan similares a los obtenidos por este trabajo de investigación, a su vez esto refiere al carácter reprotoxico del V_2O_5 .

Dentro de las observaciones de este trabajo de investigación los espermatozoides que presentan daño en cabeza refiere cabezas deformes, sin acrosoma y sin gancho, dentro del daño que afecta a la pieza media, un aspecto a destacar es la presencia de gotas citoplasmáticas, claro signo de un proceso diferenciador deficiente, finalmente, el daño mas evidente, es el que ataña al flagelo, los enrollamientos fueron los mas representativos, este tipo de daño en la estructura espermática, son atribuibles a problemas relacionados con la calidad espermática, puntualmente con el desplazamiento. Méndez *et al.*, (2014) demostraron los efectos del V_2O_5 sobre la calidad espermática humana de manera *in vitro*, demostraron la disminución de la movilidad moderada y lenta en los dos grupos experimentales reportados (1ppm y 2ppm de V_2O_5).

La asimilación de los organismos ante el V_2O_5 contempla la inhalación (25%), la ingesta que resulta pobre (1-10%) y la absorción dérmica, algunos autores establecen que el vanadio se absorbe y se distribuye en la piel, (Elinder *et al.*, 1988). El vanadio asimilado seguiría la ruta de inervación del epidídimo, la cual proviene de los nervios espermáticos intermedio e inferior, que a su vez emanan de la porción superior del plexo hipogástrico y el pélvico, en ese orden, mientras que, el testículo esta inervado por los nervios escrotales anteriores y posteriores, terminando en los poros vasculares situados en el tejido conjuntivo, de esta manera las células espermátogonias resultaron expuestas al compuesto, sobre todo, aquellas espermátogonias no protegidas por la barrera hematotesticular, es decir las de tipo A0,

Cuando es asimilado, el vanadio puede encontrarse en estados de oxidación +3, +4 y +5, el pentóxido de vanadio es reducido a V_2O_4 por el glutatión de los eritrocitos o por el ácido ascórbico, las catecolaminas y otras sustancias reductoras del plasma, el vanadio es transportado por la albúmina y por la transferrina, condiciones de pH neutro propician el dominio de V_2O_5 en plasma. Se sabe que el V_2O_5 entra a la célula por mecanismos de transporte aniónico, principalmente por los canales de fosfato, (Rehder, 2003). De acuerdo a Heinz *et al.* (1982), el V_2O_5 entra a las células en dos etapas, primero cruza la membrana celular a través del sistema de intercambio aniónico, en tanto que en la segunda etapa el cruce es mucho más lento e involucra el producto reducido, V_2O_4 y un mecanismo de paso semejante al de los cationes divalente.

El proceso de división meiótica denominado espermatogénesis está controlado hormonalmente por el eje hipotálamo - hipófisis - testículo, el cual es un mecanismo de retroalimentación negativa, lo que quiere decir, es que el producto hormonal sintetizado por el tejido diana inhibe la liberación de los productos iniciales o intermedios del eje, las neuronas del hipotálamo liberan GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) en el sistema de vasos sanguíneos porta hipofisario, posteriormente la adenohipofisis es estimulada por este mensaje y libera hormonas gonadotropas como la LH (hormona luteinizante), la cual estimula a las células de Leydig para la producción de testosterona, y la FSH (hormona folículo estimulante), la cual estimula por un lado a las células de Certoli para producir inhibina y por el otro a los túbulos seminíferos en la producción de espermatozoides (De la Riva, 2017).

Retomando a Olivera *et al.* (2006), a lo largo del trayecto que supone la espermatogénesis, el espermatozoide modifica su morfología y sus componentes moleculares especialmente, y además ocurren procesos que conducen a la activación para la entrada al oocito, para activar a su vez los mecanismos que conducen a la formación del cigoto. Esto nos da un ejemplo del complejo proceso al que los espermias están sometidos. El daño morfológico que el espermatozoide llega a presentar supone la disminución en la calidad espermática y la del epitelio germinativo. El control positivo se comporta dentro de lo esperado, un compuesto genotóxico como la MMC, puede afectar la morfología espermática.

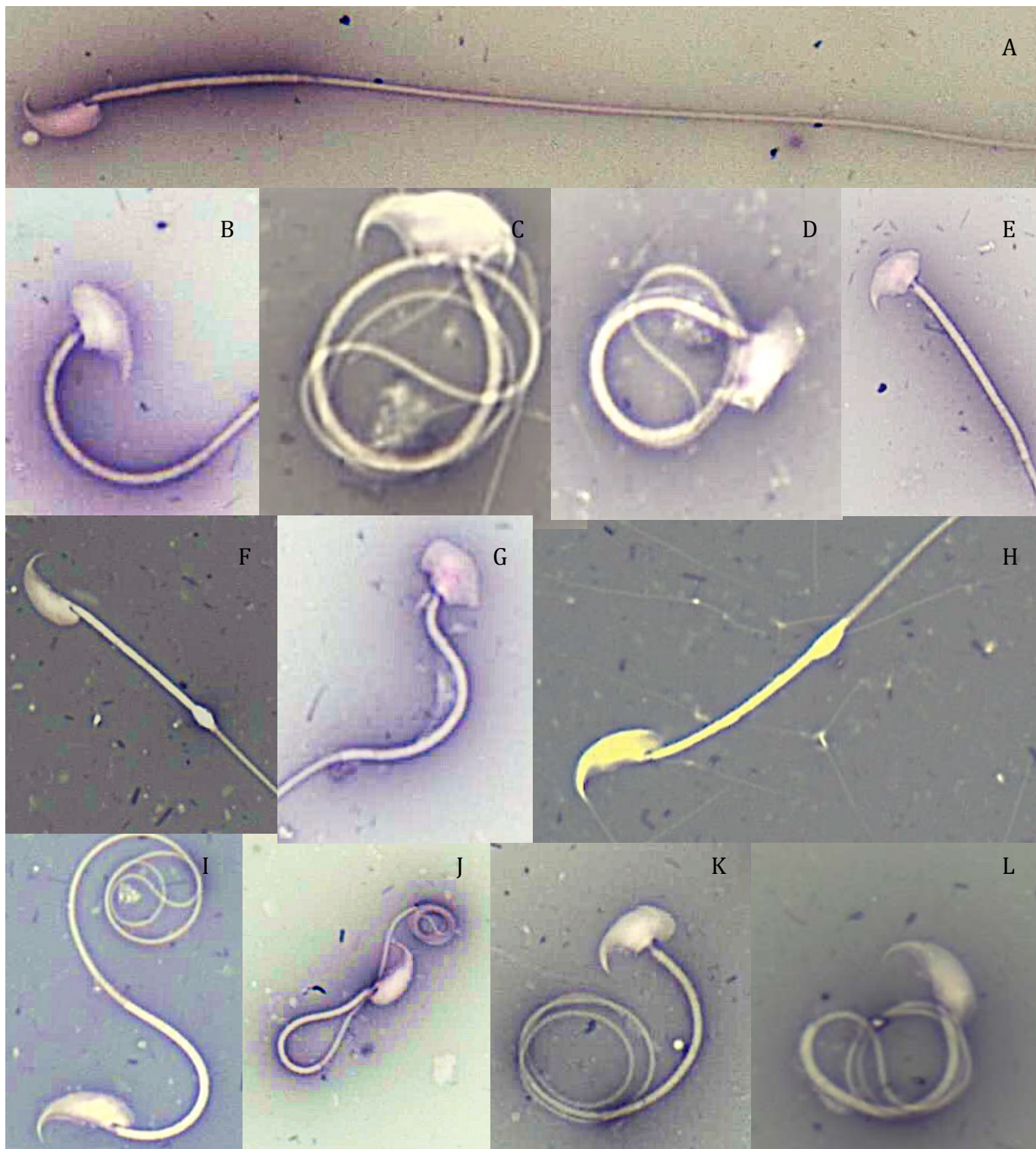


Fig 20.- Espermatozoides de ratones CD-1 tratados de manera subcrónica con V_2O_5 por vía aérea. **A:** espermatozoide Normal, **B, C, D, E:** espermatozoide con daño en cabeza, **F,G,H:** espermatozoide con daño en Pieza media, **I, J, K, L:** espermatozoide con daño en flagelo. 100x Obtenidas en Laboratorio 2 primer piso, Citogenética y Mutagénesis.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, permiten concluir que la exposición aérea a pentóxido de vanadio en tratamiento subcrónico:

- ∞ Aumenta el porcentaje de células que presentan **ACE** y **ACN**, denotando con ello un claro efecto genotóxico.
- ∞ Genera efecto citotóxico en las espermatogonias tipo **A0** y citostático en las espermatogonias tipo **In** y **B**.
- ∞ Aumenta el **IME** en la concentración [0.02 M], induciendo proliferación celular, es decir efecto mitogénico.
- ∞ Afecta la **calidad espermática** al reducir la densidad y aumentar el daño morfológico, evidenciando el efecto reprotóxico.

PERSPECTIVAS

- ⌚ Este proyecto de investigación aportó en igual medida, una gran cantidad de información y muchas más preguntas sobre la toxicología del V_2O_5 y sobre el epitelio germinativo de un modelo *in vivo* tan importante. Una de las metas de esta investigación es equiparar el daño Toxicológico que de manera aérea esta presente en la atmosfera y repercute en la vida de todos. La acumulación de conocimiento permite hacer frente al proceso natural en estudios de toxicología, y en la derivación de medicamentos o fármacos.

- ⌚ Por otro lado, existe la perspectiva a desarrollar el análisis a aquel material genético propio de cromosomas meióticos, es decir el análisis de metafases que pertenecen a espermatocitos primarios, una de las células más importantes de todo el ciclo espermatogénico.

- ⌚ Si el Pentóxido de Vanadio es o no, un representante del efecto de Hormesis como lo son otros metales de transición.

- ⌚ Añadir la cuantificación de ERO como un parámetro que permita esclarecer el daño genotóxico.

- ⌚ Finalmente otro aspecto que considero de suma importancia a desarrollar en este proyecto, es cubrir al menos un ciclo espermatogénico con el tratamiento desarrollado en esta investigación

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguirre, C. L. (2018). Daño genotóxico por exposición recreativa a la marihuana. Fecha de recuperacion 05/05/2020. Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México. <https://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/105464>.
- Altamirano, L. M. & Alvarez, B. L. (1996) Genotoxicity and reprotoxic effects of vanadium and lithium. *Metal Ions in Biology and Medicine*, Publisher John Libbey Eurotext, Vol. 4. pp. 423–425.
- Arencibia, D. F., Rosario, L A., Suárez, Y. E., Vidal, A. (2015). Reporte de daños basales e inducidos al ADN de especies murinas comercializadas en cuba. Vol 4. 12 pp. Fecha de consulta, 1/09/2021. ImePub Journals.
- Arencibia, D. F., Rosario, L A., Suárez, Y. E., Vidal, A. (2015). Comparación entre líneas de ratones en el ensayo de aberraciones cromosómicas en medula osea. Vol 17. 7 pp. Fecha de consulta, 1/09/2021. SciELO Analitics.
- Bauer, G., Güther, V., Hess, H., Otto, A., Roidl, O., Roller, H. & Sattelberger, S. (2000). Vanadium and Vanadium Compounds. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Vol 40. 146 – 153 pp. Weinheim Alemania. Wiley online library.
- Baran, E. J. (2017). Vanadio: ¿un nuevo elemento estratégico?, Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. tomo 69, pp 84114. Fecha de consulta, 17/05/2020. Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas físicas y naturales.
- Barceloux, D. G & Barceloux. D. (1999). Vanadium, *Journal of Toxicology. Clinical Toxicology*. Vol 37. 265 pp. Fecha de consulta, 02/07/2019. Taylor & Francis online.
- Benavides, J. F & Guénet, J. L. (2014). Los Roedores de laboratorio como modelo de enfermedades humanas. *Manual de genética de roedores de laboratorio*. 267 -287 pp. España. Universidad de Alcalá de Henares.
- Berg, J.-E., Karlsson, B., Pilotti, A.-M., Söderholm, A.-C. (1977) Dendrosterone, a stigmastane-type steroid. *Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, vol 33. 2927-2930pp. Fecha de consulta, 01/09/2021. Script.Lucr.org.

- Buffone, M. G., Ijiri, T. W., Cao, W., Merdushev, T., Aghajanian, H. K., y Gerton, G. L. (2012). Heads or Tails? Structural Events and Molecular Mechanisms That Promote Mammalian Sperm Acrosomal Exocytosis and Motility. Center for Research on Reproduction and Women's Health Department of Obstetrics and Gynecology Vol 79. 4 - 18 pp. Fecha de consulta, 06/09/2020. Wiley Periodicals.
- Chappelle, A. (2009). Cómo entender la genética: una guía para pacientes y profesionales médicos en la región de Nueva York y el Atlántico Medio. New York State Department of Health. The Resource Repository.
- Colmenares, M. L. (2012). Caracterización y diferenciación in vitro de células germinales de testículo de ratón. Caracas Venezuela. Escuela de Biología y Facultad de ciencias. Universidad central de Venezuela.
- Cooke M.S., Evans M.D., Dizdaroglu M. y Lunec J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. FASEB J. Vol 17. 1195-1214pp. Fecha de consulta, 23/05/2019. Pubmed.
- Devereux, T. R., Colleen, W. H., Ress, A. N., Roycroft, J. & Sills, R. C. (2002). Map kinase activation correlates with k-ras mutation and loss of heterozygosity in chromosome 6 in alveolar bronchiolar carcinomas from B6C3F1 mice exposed to vanadium pentoxide for 2 years. Carcinogénesis, Volume 23. 1737–1743pp. Fecha de consulta, 03/05/2020 Oxford Academic.
- Diazguerrero, L. E., González, P. A., Luna, L. A & Konigsberg, F. M. (2013). Hormesis: lo que no mata, fortalece. Gaceta Médica de México, Vol 24. 438-447pp.
- Dirección de monitoreo Atmosférico. (2002). Índice de la calidad del aire en la CDMX. Fecha de recuperación 06/09/2021. Gobierno de la ciudad de México. <http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php>.
- Dubin, M & Stoppani, A. O. (2000). Muerte celular programada y apoptosis: Función de las mitocondrias. Medicina. Vol 60. 12pp. Fecha de consulta, 03/05/2020 Centro de Investigaciones Bioenergéticas, Facultad de Medicina (UBA-CONICET), Universidad de Buenos Aires.
- De Rooij, D. G & Russel, L. D. (2000). All You Wanted to Know About Spermatogonia but Were Afraid to Ask. Cell Biology. Vol 25. 23pp. Fecha de consulta, 03/05/2020 University Medical Center Utrecht, The Netherlands.

- De la Riva, A. S. (2017). Inmunomodulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada: Valoración del conejo como biomodelo para el estudio de la fisiología de la reproducción. Madrid España. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria, Departamento de Fisiología Animal.
- Elinder, C. G., Gerhardsson, L. & Oberdoerster, G. (1988). Biological monitoring of toxic metals-overview. *Biological monitoring of toxic metals.*, Vol 12. 1-71 pp. Fecha de consulta, 08/11/2019. Plenum Press.
- Foster, H. L., Small, J. D. & Fox, J. G. (1981). *The Mouse in Biomedical Research*, Academic Press of New York. Vol 1. 464 pp. Fecha de consulta, 02/09/2021. Elsevier.com.
- Fortoul, T.I., Rojas, Lemus. M., Rodríguez, Lara. V., González, Villalva. A., Ustarroz, C., Cano, G. G., Gonzáles, R. S., Montañó, L. F., Altamirano, L. M. (2014). Descripción general de la exposición ambiental y ocupacional al vanadio y los resultados de salud asociados: un artículo basado en una presentación en el VIII Simposio Internacional sobre Química de Vanadio, Química Biológica y Toxicología, Washington DC, 15-18 de agosto de 2012. *Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC). Vol 86. 227 – 297pp. Fecha de consulta, 01/06/2021. Tandfonline.com
- França, L.R., Hess, R. A., Dufor, J. M., Hofmann, M. C. & Criswold, M. D. (2016) Sertoli cell: one hundred fifty years of beauty and plasticity. In: *Sertoli Cell Biology*. American Society of Andrology and European Academy of Andrology, Vol 4. 189–192 pp. Fecha de consulta, 01/06/2020. Pubmed. com.
- García, C. J., Barranquero, G. M. & Rogel, C. S. (2020). Esterilidad masculina debida a un factor pretesticular. Fecha de recuperación (05/09/2021). Reproducción asistida ORG. <https://www.reproduccionasistida.org/esterilidad-masculina-debida-a-un-factor-pretesticular>.
- Gilbert, S. F. (2005). *Biología del desarrollo* 7th. Swarthmore college, Médica Panamericana S.A.
- Hauser, R., Elreedy, S., Ryan, P.B. & Christiani, D. C. (1998) Urine vanadium concentrations in workers overhauling an oil-fired boiler. *Monographs on Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Vol 86. 227 – 297pp. Fecha de consulta, 12/10/2020. World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC).

- Heinz A., Rubinson K.A. y Grantham J.J. (1982). The transport and accumulation of oxovanadium compounds in human erythrocytes in vitro. *J. Lab. Clin. Med.* 100, 593-612.
- Korbecki, J., Baranowska, I., Gutowska, I., Chlubek, D. (2012). Biochemical and medical importance of vanadium compounds. *Acta biochimica polonica*. Vol 59. 1-6 pp. Fecha de consulta, 4/107/2019. Pubmed.com.
- López, M. E. & Torres, C. N. (2012). Aspectos moleculares del envejecimiento. 1a. edición, Secretaria de Salud México. Instituto de Geriatria.
- Mendez, Y., Báez, F., & Villamediana, P. (2014). Efecto in vitro del pentóxido de vanadio (V₂O₅) sobre la calidad espermática. *Perinatología y reproducción humana*, vol 28, 187 - 192 pp, De www.Mediagraphic.com Base de datos.
- Netter, F. H. (1998) *Atlas of human anatomy*. 2nd edition. Fayetteville, TX, U.S.A Novartis.
- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R. & Willard, H. F. (2008). Capítulo 5: Principios de citogenética clínica. *Genética en Medicina* (7^a edición). pp. 68-75. Barcelona España. Thompson & Thompson.
- Oelen, W. (2005). Vanadium pentoxide powder. Fecha de recuperación: 05/09/2021. WikipediaCommons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Vanadium_pentoxide.jpg.
- Organización mundial de la salud. (2018). Calidad del aire y salud. Fecha de consulta 29/08/2019. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health).
- Olivera, M., Ruiz, T., Trazona, A., Giraldo, C. (2006). El espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización. Departamento de Fisiología y Biotecnología de la Reproducción, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Vol. 19:4. 1226 pp. Fecha de consulta 03/02/2019. Pubmed.com.
- Rehder D. (2003). Biological and medicinal aspects of vanadium. *Inorg. Chem. Commun.* 6, 604-617.
- Rodríguez, G. A & Frías, V. S. (2013). La mitosis y su regulación. Laboratorio de Citogenética, Departamento de Investigación en Genética Humana, Instituto Nacional de Pediatría (INP). Vol 35. 55 – 68pp. Fecha de consulta 03/02/2020. SCIELO.com.

- Roldán, R. E., Aguilar, G. M., Vargas, V. A., Toledo, P. D. (2016). Efectos de contaminante ambiental sobre las espermatogonias de ratón y la calidad seminal. TIP Revista especializada en ciencias químico-biológicas. Vol 21. 20 pp. Fecha de consulta 03/02/2020. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Memorias XIV congreso de investigación, UNAM, México.
- Ruiz, M. LadyOfHats. (2009). Simplified spermatozoon diagram. Fecha de recuperación 05/09/2021. Wikipedia en es pañol. https://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Simplified_spermatozoon_diagram.svg.
- Schiebe, M. E., Hoffmann, W., Belka, C., Bamberg, M. (1998). Mitomycin C-related hemolytic uremic syndrome in cancer patients. Anticancer Drugs. Vol 5. 433pp. Fecha de consulta 23/05/2019. Department of Radiotherapy, University of Tübingen, Germany.
- Schmidt, H. H., Stocker, R., Volibracht, C., Paulsen, G., Riley, D. Daiber, A. & Cuadrado, A. (2015). Antioxidants and Redox Signaling. Antioxidants in Translational medicine., Vol 23. 1130-1143 pp. Fecha de consulta 23/05/2019. Pubmed.com.
- Secretaría del Medio Ambiente (SEDEMA). (2013). Inventario de emisiones de la Zona Metropolitana del Valle de México en 2012. Fecha de recuperación 18/04/2019. Secretaría del Medio Ambiente, GDF, México. <http://www.aire.cdmx.gob.mx/descargas/publicaciones/flippingbook/inventario-emisioneszmvm2012/inventario-emisioneszmvm2012.pdf>.
- Simón, M. (2003). Avances en el conocimiento de la espermatogénesis. Implicaciones clínicas. Revista iberoamericana de fertilidad. Vol 4. 10 pp. Fecha de consulta 15/09/2021. Instituto de Reproducción CEFER.
- Vogl, A.W., Pfeiffer, D.C., Redenbach, D.M., & Grove, B.D. (1993). Sertoli cell cytoskeleton. The Sertoli Cell. Vol 636. pp. 39–86. Fecha de consulta 01/06/2020. LinkSpringer.com.
- Widlansky, M. E. & Gutterman, D. D. (2011). Regulation of endothelial function by mitochondrial reactive oxygen species. Antioxidants and Redox Signaling. Vol 15. 1517 – 1530 pp. Fecha de consulta 01/06/2020. Pubmed.com.

ANEXO I.-

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Fig 1.- Tipos de espermatogonia (A0, In, B) (De Rooij & Russell, 2000).	- 2 -
Fig 2.- Espermatozoide de ratón, forma normal. Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.	- 3 -
Fig 3.- Microscopía de inmunofluorescencia. La célula de Sertoli (Vogl et al., 1995).	- 4 -
Fig 4.- Epitelio germinativo en mamíferos machos (Colmenares,2012).	- 4 -
Fig 5.- Eje hipotalámico hipofisario gonadal (García <i>et al.</i> , 2020).	- 5 -
Fig 6.- Espermatogénesis en mamíferos (Gilbert, 2005).	- 6 -
Fig 7.- Morfología de un espermatozoide humano (Ruiz, 2009).	- 7 -
Fig 8.- Pentóxido de vanadio V ₂ O ₅ en polvo fino (Oelen, 2005).	- 8 -
Fig 9.- Toxicocinética del vanadio (modificado de Elinder <i>et al.</i> , 1988).	- 10 -
Fig 10.- Porcentaje de células con aberraciones cromosómicas estructurales ACE.	- 21 -
Fig 11.- Porcentaje de células con aberraciones cromosómicas numéricas ACN.	- 24 -
Fig 12.- Aberraciones Cromosómicas Estructurales y Numéricas.	- 23 -
Fig 13.- Proporción de espermatogonias en ratones tratados con V ₂ O ₅ vía aérea.	- 25 -
Fig 14.- Espermatogonias de ratones tratados con V ₂ O ₅ vía aérea.	- 28 -
Fig 15.- Índice Mitótico Espermatogonial en ratone tratados con V ₂ O ₅	- 29 -
Fig 16.- C-metafase y espermatogonia, objetos del análisis mitogénico.	- 30 -
Fig 17.- C-metafase mitótica y meiótica, espermatogonias de ratón.	- 31 -
Fig 18.- Efecto del V ₂ O ₅ sobre la densidad espermática en ratones macho CD-1.	- 36 -
Fig 19.- Efecto del V ₂ O ₅ en la morfología espermática en ratones macho CD-1.	- 38 -
Fig 20.- Espermatozoides de ratones tratados con V ₂ O ₅ por vía aérea.	- 41 -
Tabla 1.- Frecuencia de Aberraciones Cromosómicas Estructurales.	- 18 -
Tabla 2.- Frecuencia de Aberraciones Cromosómicas Estructurales.	- 22 -
Tabla 3.- Proporción de espermatogonias e Índice Mitótico Espermatogonial.	- 24 -
Tabla 4.- Densidad y morfología espermática de ratones CD-1.	- 32 -

ANEXO II.-

PARTICIPACION EN ACTIVIDADES ACADÉMICAS DE DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN ESTA INVESTIGACIÓN.

- Por la presentación del trabajo: Calidad seminal en mamíferos asociada con la exposición aérea a vanadio, contaminante atmosférico, en el marco de divulgación del premio al servicio social **Dr. Gustavo Baz Prada** organizado por la Dirección General de Orientación y Atención Educativa, DGOAE, en el periodo 2019 – 2020.
- Por su participación en la **XX Reunión Internacional de Ciencias Médicas**, con el trabajo; Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de ratón por exposición aérea a Vanadio, celebrada de forma virtual del 14 al 16 de octubre de 2020.
- Por la presentación del trabajo: Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de ratón por exposición aérea a Vanadio, durante el **XV congreso de investigación**, organizado por la División de estudios de posgrado e investigación de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, del 15 al 17 de octubre del 2019.
- Por participar como expositor del tema: Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de ratón por exposición aérea a Vanadio. en el **XXIV simposio del Departamento de Ciencias de la Salud**. Otorgado por la Universidad Autónoma Metropolitana, celebrado los días 30 de septiembre al 04 de octubre del 2019.
- Por su participación en la modalidad de exposición oral, titulada: Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de ratón por exposición aérea a Vanadio. en el **XXIV Foro de investigación Escolar en Biología; organizado** por la Carrera de Biología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. el día 9 de agosto del 2019.
- Por el apoyo brindado al alumno Juan Carlos Fernández Hernández de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, el cual realizo bajo su asesoría y supervisión, su Estancia Corta de investigación del 3 al 28 de junio del 2019, Otorgado por la Universidad Nacional Autónoma de México y la Dirección General de Divulgación de la Ciencia.
- Artículo en revisión por pares, (20/09/2021) a cargo de Revista Científica de Toxicología **AETOX** bajo el titulo: Efectos de la inhalación de vanadio sobre las espermatogonias y calidad seminal en el modelo de ratón *in vivo*.

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



XX Reunión Internacional
de Ciencias Médicas

otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a

DÍAZ MEJÍA SERGIO AXEL

Por su participación en la XX Reunión Internacional de Ciencias Médicas.

Celebrada de forma virtual los días 14, 15 y 16 de octubre de 2020.

“La Verdad Os Hará Libres”


Dr. Tonatiuh García Campos
Director de División de
Ciencias de la Salud


Dr. Maciste H. Macías Cervantes
Presidente del Comité Organizador
Director del Departamento
de Ciencias Médicas



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a *Elia Roldán Reyes, Sergio Axel Díaz Mejía*

Por la presentación del trabajo: **Efectos toxicológicos en espermatozonias y espermatozoides de ratón por exposición aérea a Vanadio**, durante el XV Congreso de Investigación, organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación de esta Facultad, del 15 al 17 de octubre del año en curso.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, a 21 de noviembre de 2019.


Dr. Vicente Jesús Hernández Abad
Director

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
y
EL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD



Otorgan la presente

Constancia

a:

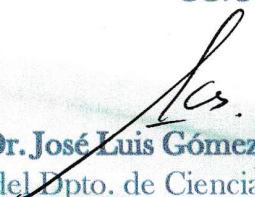
Díaz Mejía Sergio Axel, Pérez Cruz Jesús Omar y Roldán Reyes Elia

Por la presentación del trabajo:

Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de ratón
por exposición aérea a Vanadio

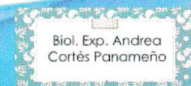
en el XXIV Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud

Celebrado los días 30 de Septiembre al 04 de Octubre del 2019


Dr. José Luis Gómez Olivares
Jefe del Dpto. de Ciencias de la Salud


Dra. Norma Edith López Díaz-Guerrero
Coordinadora


Dra. Elsa Cervantes Ríos
Coordinadora





UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO



Constancia

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través de la Unidad de
Formación Integral

A Elia Roldán Reyes, Sergio Axel Díaz Mejía y
Jesús Omar Pérez Cruz

Por su participación en la modalidad de **Exposición oral**,
titulada: *“Efectos toxicológicos en espermatogonias y
espermatozoides de ratón por exposición aérea a Vanadio”*, en
el marco del **XXIV Foro de Investigación Escolar en Biología**;
organizado por la Carrera de Biología, el día 9 de agosto del año
en curso.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, 20 de septiembre de 2019.



Dr. Vicente Jesús Hernández Abad

Director



La Universidad Nacional Autónoma de México
y la Dirección General de Divulgación de la Ciencia

otorgan el presente reconocimiento al

Biól. Sergio Axel
Díaz Mejía

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

por el apoyo brindado al alumno Juan Carlos Fernández Hernández de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, el cual realizó bajo su asesoría y supervisión, su Estancia Corta de Investigación del 3 al 28 de junio del presente año.

Encomiamos su dedicada y valiosa participación,
la que reditúa en beneficio de los jóvenes participantes del programa.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad Universitaria, Ciudad de México, noviembre 2019

Biól. Guillermina de Francisco Salas
Jefa de Programas al Exterior

