



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**Evaluación de micronúcleos en ratón  
hembra y su descendencia tratados con  
acetato de talio(I)**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA**

**P R E S E N T A :**

**KEYLA NAHOMI HERNÁNDEZ CÓRDOVA**

**DIRECTORA: DRA. LUCILA ÁLVAREZ BARRERA**

**ASESOR: DR. RODRIGO ANIBAL MATEOS NAVA**

**ASESOR: DR. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO**



**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y TOXICOLOGÍA AMBIENTAL**

**CIUDAD DE MÉXICO**

**ABRIL 2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



Esta tesis fue realizada bajo la dirección de la Dra. Lucila Álvarez Barrera en la Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental, en el laboratorio de Teratogénesis ubicado en el laboratorio 5 del primer piso del edificio de la UMIEZ de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Campus II, UNAM. Contó con la asesoría del Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava y el Dr. Juan José Rodríguez Mercado.

La tesis se desarrolló con la ayuda del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación Tecnológica, PAPIIT-UNAM, proyecto IA201123.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
CARRERA DE BIOLOGÍA  
FORMATO F-5



**OFICIO DE FECHA DE EXAMEN**

**QFB GRACIELA ROJAS VÁZQUEZ**  
JEFA DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR

Presente

Le comunico que al alumno: **HERNANDEZ CORDOVA KEYLA NAHOMI** con número de cuenta **313201525** de la carrera **BIOLOGÍA** se le ha fijado el día **28 de Abril de 2023** a las **11:00 hrs.**, para presentar la réplica oral de su examen profesional, que tendrá lugar en esta facultad, ante el siguiente jurado:

CARGO	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	MTRA. ALVARADO DOMINGUEZ MARIA CRISTINA	
VOCAL	DRA. ALVAREZ BARRERA LUCILA	
SECRETARIO	DR. RODRIGUEZ MERCADO JUAN JOSE	
SUPLENTE	DR. MATEOS NAVA RODRIGO ANIBAL	
SUPLENTE	DRA. VIEYRA VALDEZ ELIZABETH	

El título del trabajo escrito que se presenta es:

Evaluación de micronúcleos en ratón hembra y su descendencia tratados con acetato de talio(I).

En la modalidad de: **TESIS**

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
CDMX, a 21 de Marzo de 2023

DR. VICENTE JESÚS HERNÁNDEZ ABAD  
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES ZARAGOZA

## **Agradecimientos**

A la Dra. Lucila Álvarez Barrera por permitirme entrar al laboratorio y trabajar bajo su dirección brindándome su confianza, siempre tratándome con respeto y profesionalismo. Gracias por todos los consejos, el tiempo invertido y los ánimos para seguir mi formación académica.

Al Dr. Juan José Rodríguez Mercado por todos los conocimientos brindados, la dedicación y paciencia en la realización de este trabajo.

Al Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava por brindarme su apoyo y amistad desde mi primer día en el laboratorio.

A mis Sinodales, Dra. Elizabeth Vieyra Valdez y Mtra. María Cristina Alvarado Domínguez, por sus observaciones y apoyo.

A todos mis compañeros del laboratorio que me acompañaron y brindaron su ayuda en cada día de trabajo. Gracias por brindarme su amistad y hacer divertido cada día pasado en el laboratorio.

Gracias a Dios por permitirme concluir esta etapa satisfactoriamente, por llenar mi vida de amor y bendiciones.

A mis padres, por su amor incondicional, comprensión y cuidados. Me han acompañado y apoyado en cada decisión que he tomado siempre buscando mi felicidad y bienestar. Cada día le doy gracias a Dios por darme unos padres tan buenos, los amo.

A mis hermanos, por estar a mi lado en este proceso.

A mis abuelos, por cuidarme tanto y tener fe en mí.

A mis perritos, los que están físicamente y los que se adelantaron, por acompañarme en cada noche de trabajo.

## Índice

<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	8
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	8
<b>2.1 Talio</b> .....	8
2.1.1 Presencia en el ambiente.....	9
2.1.2 Usos y producción.....	11
2.1.3 Absorción y distribución.....	12
2.1.4 Toxicidad.....	13
2.1.4.1 Efectos sobre la reproducción y el desarrollo embrionario.....	14
2.1.4.2 Efectos genotóxicos y citotóxicos.....	16
<b>2.2 Modelo de estudio</b> .....	17
<b>2.3 Eritropoyesis en ratón</b> .....	19
<b>2.3 Evaluación de la genotoxicidad</b> .....	21
<b>2.4 Ensayo de micronúcleos</b> .....	21
2.4.1 Origen de los micronúcleos .....	23
2.3.3 Criterios para determinar micronúcleos .....	25
<b>3.JUSTIFICACIÓN</b> .....	26
<b>4.HIPÓTESIS</b> .....	27
<b>5.1 General</b> .....	27
<b>5.2 Particulares</b> .....	27
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	28
<b>6.1 Reactivos</b> .....	28
<b>6.2 Animales</b> .....	28
<b>6.3 Cruza</b> .....	28
<b>6.4 Diseño experimental</b> .....	28
<b>6.5 Prueba de viabilidad</b> .....	29
6.5.1 Tiempos de evaluación y toma de muestras.....	29
6.5.2 Evaluación de muestras .....	30
<b>6.6 Ensayo de MN</b> .....	31
6.6.1 Preparación de laminillas .....	31
6.6.2 Tiempos de evaluación y toma de muestras.....	31
6.6.3 Evaluación de muestras .....	31

<b>6.7 Análisis estadístico</b> .....	32
<b>7. RESULTADOS</b> .....	33
<b>7.1 Evaluación de viabilidad celular</b> .....	33
7.1.1 Hembras preñadas.....	33
7.1.2 Fetos.....	34
<b>7.2 Conteo de EPC</b> .....	35
7.2.1 Hembras preñadas.....	35
7.2.2 Fetos.....	36
<b>7.3 Evaluación de la frecuencia de MN en EPC y ENC</b> .....	37
7.3.1 Hembras preñadas.....	37
7.3.2 Fetos.....	39
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	40
<b>8.1 Evaluación de citotoxicidad</b> .....	40
8.1.1 Hembras.....	40
8.1.2 Fetos.....	41
<b>8.2 Evaluación de la genotoxicidad</b> .....	42
8.2.1 Hembras preñadas.....	42
8.2.2 Fetos.....	44
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	45
<b>10. REFERENCIAS</b> .....	46
<b>11. ANEXO</b> .....	57

## RESUMEN

La intensa actividad industrial ha aumentado la concentración en el ambiente de metales y otros agentes químicos y, la población en general se encuentra expuesta de manera cotidiana a estos por diversas vías poniendo en riesgo su salud. Las mujeres embarazadas son especialmente susceptibles a contaminantes ambientales por metales como el talio (Tl), principalmente por la ingestión de alimentos contaminados. El Tl puede atravesar la barrera placentaria y llegar al feto causando efectos sobre la salud y el desarrollo. Hay evidencias de su capacidad de causar daño al material genético en modelos *in vitro*, sin embargo, los datos sobre los efectos genotóxicos y citotóxicos en modelos gestantes son escasos. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos citotóxicos y genotóxicos del acetato de talio (CH<sub>3</sub>COOTl) en células de sangre periférica de ratones hembra preñadas de la cepa CD-1 y sus descendientes, utilizando el ensayo de micronúcleos.

Se formaron cuatro grupos de seis ratones hembra preñadas y se les administró vía intraperitoneal (ip) con agua, 1 mg/kg de peso corporal (pc) de CgCl<sub>2</sub>, 5.28 y 6.16 mg/kg de pc de CH<sub>3</sub>COOTl en los días de gestación (DG) 6, 8, 10, 12, 14 y 16, respectivamente. Se tomaron muestras de sangre de la cola de las hembras a las 0, 24, 48, 72 h y en el DG18 después de la administración del compuesto. También se tomaron muestras de los fetos extraídos por cesárea en el DG18, para lo cual se hizo un corte en el cuello. Se evaluó la viabilidad celular con la técnica de naranja de acridina (NA) y bromuro de etidio (BE) y la frecuencia de micronúcleos (MN) con la prueba de NA. Las muestras se observaron en el microscopio de fluorescencia registrando el número de eritrocitos policromáticos (EPC) en 2000 eritrocitos totales y la frecuencia de MN en 2000 EPC y en 2000 eritrocitos normocromáticos (ENC).

Los resultados no revelan cambios en la viabilidad de las células de sangre periférica de las hembras tratadas con las diferentes dosis de CH<sub>3</sub>COOTl, así como de sus fetos. El número de EPC aumentó únicamente en los fetos. Por otro lado, el número de MN en EPC incrementó en las hembras y en los fetos, presentando el pico máximo de inducción de MN a las 48 h.

Con los resultados obtenidos se puede concluir que las dosis de 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTl administradas a ratones preñadas durante la organogénesis produce genotoxicidad en eritrocitos de sangre periférica con la formación de MN, esto también fue observado en sus descendientes junto con aumento en el número de EPC, sin ejercer efecto citotóxico.

## 1. INTRODUCCIÓN

La industrialización ha crecido de manera acelerada, aumentando la explotación de los recursos naturales para satisfacer las actividades antrópicas. Esto ha llevado a la creciente preocupación ecológica y de salud pública mundial por el aumento de la exposición humana a contaminantes ambientales como los metales (Tchounwou *et al.*, 2012; Covarrubias y Peña Cabriales, 2017; Briffa *et al.*, 2020).

Existen metales esenciales que participan en una amplia variedad de procesos biológicos vitales, por ejemplo, para los humanos el sodio (Na), potasio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca), manganeso (Mn), hierro (Fe), cobalto (Co), cobre (Cu), zinc (Zn) y molibdeno (Mo) son metales esenciales, aunque en exceso pueden ser tóxicos. Hay otros que no tienen funciones biológicas reconocidas y son tóxicos para los organismos aún en cantidades mínimas (Slobodian *et al.*, 2021; Jomova *et al.*, 2022). Metales no esenciales como plomo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg), arsénico (As), aluminio (Al) y **talio** (Tl) son elevadamente tóxicos (Cvjetko *et al.*, 2010; Vimalraj *et al.*, 2017), debido a que los organismos no pueden adaptarse a su presencia e incluso en concentraciones bajas provocan cambios moleculares, celulares, tisulares y sobre el organismo (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

La población en general está expuesta a diversos compuestos metálicos a través de la inhalación, contacto con suelos, residuos industriales, agua y alimentos contaminados lo que puede tener consecuencias para la salud, tales como problemas reproductivos y en el desarrollo embrionario (Caserta *et al.*, 2013; Dutta *et al.*, 2021). La exposición materna a metales, como el **Tl**, es motivo de preocupación ya que se tiene conocimiento de su capacidad de atravesar la barrera placentaria y poner en riesgo la salud del embrión o del feto (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Morello-Frosch *et al.*, 2016).

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Talio

El Tl es un metal blando, maleable, de color blanco azulado, tiene número atómico de 81, masa molar de 204.383 g/mol, densidad de 11.85 g/cm<sup>3</sup>, punto de fusión de 304 °C, punto de ebullición de 1457 °C y radio atómico de 1.704 Å. Pertenece a la familia 13 (IIIA) de la tabla periódica de los elementos químicos junto con el boro (B), aluminio (Al), galio (Ga) e indio (In). Ha demostrado ser más tóxico para los mamíferos que el Cd, Pb, Cu y Zn causando muchos envenenamientos accidentales, ocupacionales y terapéuticos desde su descubrimiento en 1861 por el químico inglés William Crookes (ATSDR, 1992; Peter y Viraraghavan, 2005; Xiao *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2019).

El Tl existe en estado de oxidación +1 y +3, (Tl<sup>+</sup> y Tl<sup>3+</sup>), formando compuestos orgánicos e inorgánicos, ambos considerados altamente tóxicos. El Tl<sup>+</sup>, por su parecido con cationes como el potasio (K<sup>+</sup>), puede atravesar membranas biológicas y reemplazarlo debido a la similitud de sus radios iónicos, 1.49 Å para el Tl<sup>+</sup> y 1.33 Å para el K<sup>+</sup> (Rodríguez- Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Liu, 2019).

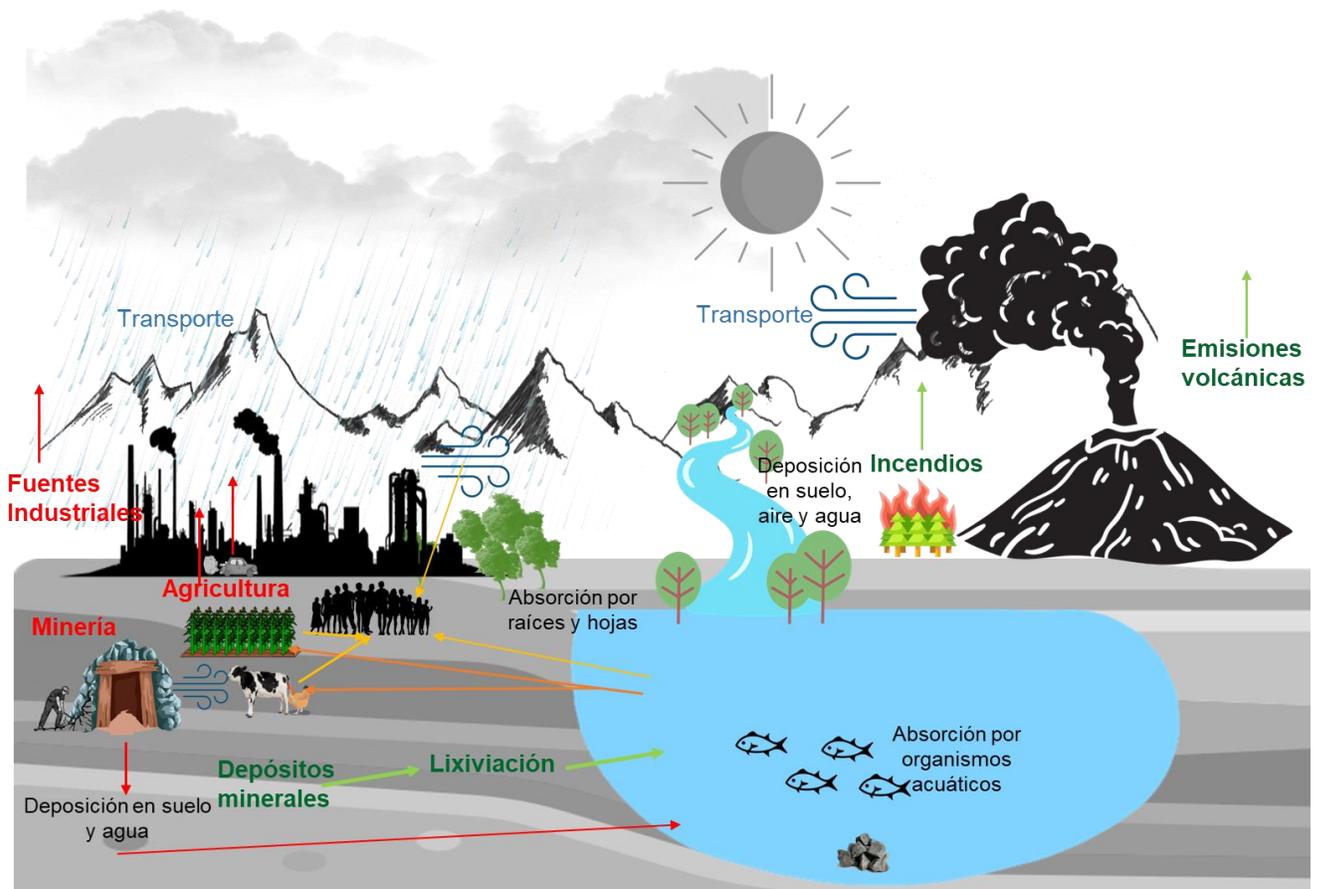
En 1979 fue clasificado como uno de los 13 metales contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) (Keith y Telliard, 1979). Actualmente en países como China, Rusia, Australia y Estados Unidos ha sido incluido como contaminante prioritario a controlar (Zhong *et al.*, 2022), debido a su geodisponibilidad, movilidad, dispersión, bioaccesibilidad, biodisponibilidad y toxicidad para especies de plantas y animales (Migaszewski y Gałuszka, 2021).

### 2.1.1 Presencia en el ambiente

El Tl está presente de forma natural en el aire y agua en concentraciones bajas, permanece en el ambiente ya que no se puede degradar y se acumula. No es esencial para los organismos, incluidos los humanos. La mayor exposición ocurre cuando se consumen alimentos cultivados en zonas industriales ya que al ingresar al agua y al suelo es fácilmente absorbido por las raíces de las plantas (ATSDR, 1992; Zhong *et al.*, 2022).

Hay dos tipos de fuentes de contaminación por Tl: i) naturales, por procesos geológicos como depósitos de minerales metálicos cercanos a la superficie que contienen Tl, formaciones rocosas mineralizadas expuestas o poco profundas y vulcanismo, y ii) antropogénicas, que incluyen emisiones atmosféricas, desechos sólidos y aguas residuales derivados de diversas actividades, estas tienen mayor potencial e impacto perjudicial en ecosistemas y en los seres humanos, **Figura 1** (Migaszewski y Gałuszka, 2021).

La minería y la agricultura son actividades que afectan la transferencia de Tl en el ambiente (Xiao *et al.*, 2012). Estudios recientes han evidenciado que las industrias que utilizan minerales que contienen Tl como la metalurgia, la industria siderúrgica, la combustión de carbón, la producción de cemento y la extracción y fundición de minerales de sulfuro ricos en Tl, tienen relación con la presencia de concentraciones elevadas de Tl en suelos, aguas, sedimentos y productos agrícolas ubicados en las cercanías (Xiao *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2019, 2020; Huang *et al.*, 2021). El Tl se encuentra unido a Cu, Pb, Zn y otros minerales de sulfuro, son la principal fuente del Tl comercial (Liu *et al.*, 2019).



**Figura 1.** Esquema del transporte del TI en el ambiente. Principales vías de exposición humana a TI por fuentes naturales (verde) y antropogénicas (rojas). Más información en Migaszewski y Gałuszka, 2021.

Las concentraciones de TI en el suelo son generalmente de 0.01–0.5 mg/kg, pero en áreas contaminadas se han reportado concentraciones de hasta 124 mg/kg TI (Xiao *et al.* 2004b). En México, la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 establece que suelos con uso agrícola, residencial o comercial debe tener un valor máximo de 5.2 mg/kg, y para uso industrial 67 mg/kg para una extensión menor o igual a 1000 m<sup>2</sup>, con valores por encima a estos se considera de riesgo para generar efectos adversos en la salud. En suelos de zonas mineras de México los valores registrados van de 0.28 a 199.7 mg/kg (Aguilar-Carrillo *et al.*, 2018).

En el aire, el TI no supera 1 ng/m<sup>3</sup> (Peter y Viraraghavan, 2005), en agua no contaminada de lagos y ríos, la concentración es inferior a 1 µg/L y rara vez supera los 20 ng/L en mar abierto (Belzile y Chen, 2017). La EPA estableció 2 µg/L como límite permisible en aguas potables (Lazorchak *et al.*, 2003). En ambientes laborales, la NOM-010-STPS-2014 establece que el valor límite de exposición a TI es de 0.02 mg/m<sup>3</sup>.

Su concentración promedio en vegetales comestibles de zonas no contaminadas varía de 0.02 a 0.125 mg/kg de peso seco, en áreas contaminadas de China cultivos de maíz y repollo verde mostraron mayor abundancia, de 0.78 y 495 mg/kg de Tl, respectivamente (Xiao *et al.*, 2004a; Migaszewski y Gałuszka, 2021).

### **2.1.2 Usos y producción**

Aunque la producción global de Tl es de aproximadamente 10 t/año, se libera al medio ambiente de 2000–5000 t/año como subproducto de las actividades antropogénicas antes mencionadas (USGS, 2021; Zhong *et al.*, 2022). Las formas más comerciales del Tl<sup>+</sup> son el acetato (CH<sub>3</sub>COOTl), carbonato (Tl<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) y sulfato de talio (Tl<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Rodríguez- Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

El CH<sub>3</sub>COOTl y Tl<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> son incoloros, inodoros e insípidos y poseen alto nivel de toxicidad, por estas características se emplearon en rodenticidas e insecticidas desde 1920, y esta práctica se mantuvo hasta la década de 1980. También se utilizó en la medicina como tratamiento contra la sífilis, tiña, malaria, tuberculosis, además, para reducir la sudoración y en agentes depilatorios. Después de reportes de casos de envenenamiento no intencional, fue prohibido su uso para estos fines (IPCS, 1996; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

En química orgánica compuestos de Tl son utilizados como catalizador de ciertas sustancias y a pesar de su toxicidad, actualmente el isótopo Tl<sup>201</sup> se aplica en gammagrafía de corazón, hígado y testículos, y como herramienta para obtener imágenes de tumores como el cáncer de pulmón, de mama y osteosarcoma (Pardo, 2019; Genchi *et al.*, 2021).

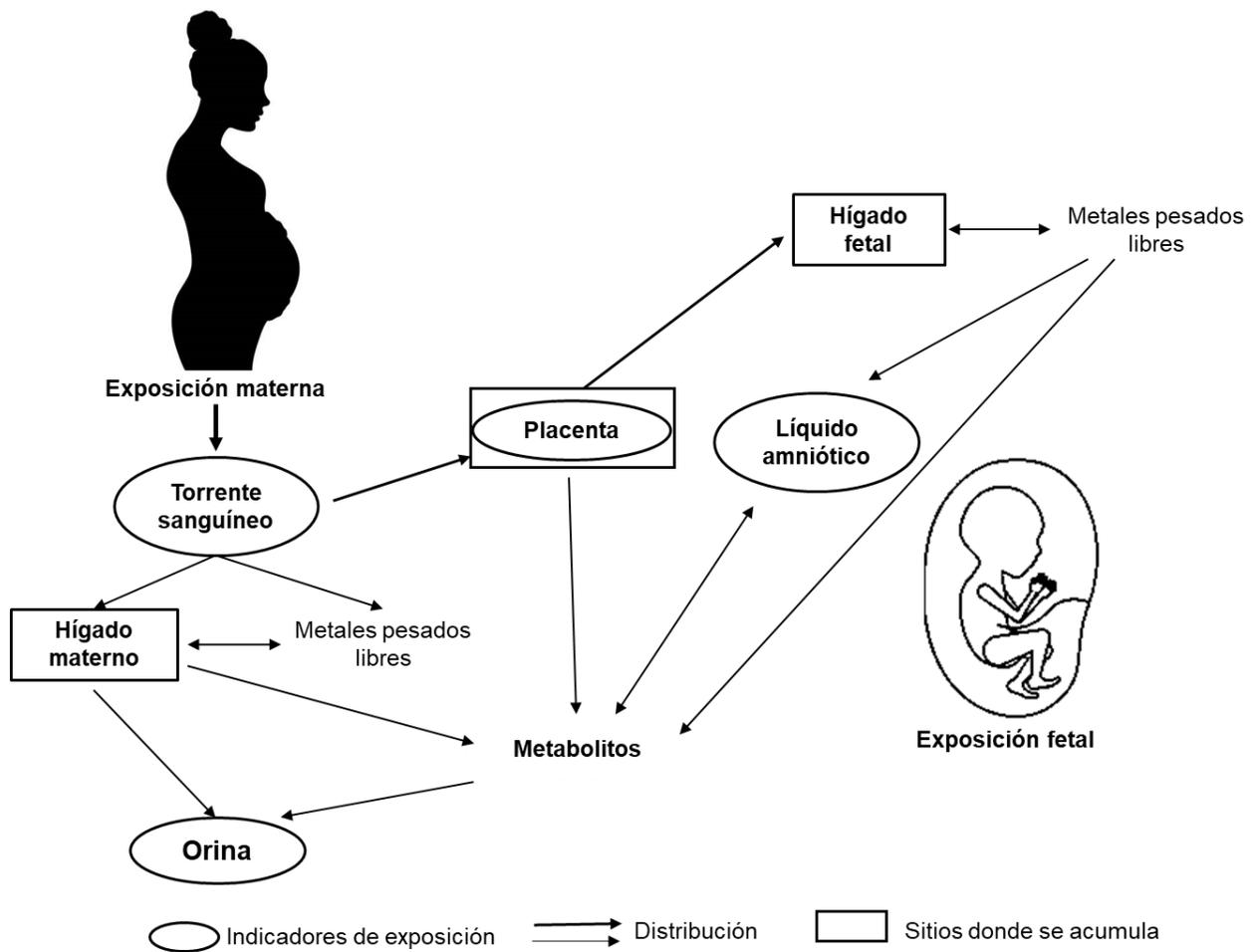
Es utilizado en la fabricación de dispositivos electrónicos y eléctricos, lentes de cámaras, cristales especiales de alta densidad y bajo punto de fusión, materiales semiconductores (Tl selenita), contadores de centelleo, equipos láser, termómetros de baja temperatura en aleaciones con mercurio y celdas fotoeléctricas (IPCS, 1996; Genchi *et al.*, 2021). Es utilizado ampliamente por países como China, Japón, República de Corea y Estados Unidos para la fabricación de equipos de detección de radiación gamma, superconductores de alta temperatura, materiales ópticos infrarrojos, vidrios de bajo punto de fusión, celdas fotoeléctricas y radioisótopos (USGS, 2021).

También es utilizado en la producción de pigmentos y tintes empleados en bisutería y diamantes artificiales, fuegos artificiales y vidrio amarillo verdoso (IPCS, 1996; Peter y Viraraghavan, 2005).

### 2.1.3 Absorción y distribución

En mujeres embarazadas la principal vía de exposición es por la ingesta de alimentos contaminados. En estudios realizados en humanos y modelos animales se observó que el TI se absorbe fácilmente a través del tracto gastrointestinal, tracto respiratorio y por la piel. Se distribuye rápidamente de la sangre a los tejidos independientemente de la dosis, la vía y la duración de la exposición (EPA, 2009). En mamíferos el TI se acumula en tejidos y órganos diana: hígado, gónadas, músculos, cerebro, huesos y médula ósea, presentando mayor acumulación en riñones. Por su parecido con el  $K^+$  es capaz de atravesar barreras biológicas como la hematoencefálica y la placentaria, causando problemas en la salud y el desarrollo embrionario (Cvjetko *et al.*, 2010; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

El mecanismo por el cual el TI pasa de la madre al feto no está descrito, pero de manera general los metales después de entrar a circulación llegan a órganos diana como el hígado, sus metabolitos pueden atravesar la barrera placentaria y llegar al feto a través del líquido amniótico, **Figura 2** (Caserta *et al.*, 2013). En general, el TI es liberado del cuerpo lentamente por lo que puede detectarse residuos de TI durante meses después de la exposición (Blain y Kazantzis, 2015). Se elimina en el pelo, las uñas, el sudor, la saliva, las lágrimas, la leche materna, en mayor parte en la orina y, en menor medida, en las heces. La lenta tasa de eliminación permite su acumulación y una porción del TI acumulado puede regresar a circulación por el torrente sanguíneo (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).



**Figura 2.** Paso de metales a través de la placenta. Más información en Caserta *et al.*, 2013.

### 2.1.4 Toxicidad

Anteriormente se mencionó que la exposición a TI puede ocurrir de manera natural, por consumo de alimentos contaminados, envenenamiento, ingesta accidental, uso de drogas contaminadas y también en entornos laborales. El límite vía cutánea de exposición laboral a TI es de  $0.1 \text{ mg/m}^3$  durante máximo ocho h al día (d), concentraciones de  $15 \text{ mg/m}^3$  se consideran extremadamente peligrosos (Kemnic y Coleman, 2018).

La sintomatología del envenenamiento por este metal suele ser inespecífica debido a que afecta diversos órganos. En casos clínicos de intoxicación, se habla de la triada característica que consiste en dolor abdominal, evidencia de déficit neurológico motor o sensitivo y alopecia. En las primeras 3–4 h después de la

exposición suele presentarse fiebre, náuseas, vómitos, diarrea y hematemesis, seguido de taquicardia, erupciones cutáneas, desorientación, convulsiones, insuficiencia cardíaca, edema pulmonar agudo, psicosis, neuritis óptica, hiperhidrosis, líneas grises de las encías, líneas de Mees, anhidrosis y finalmente, presencia de alopecia generalizada. En exposiciones crónicas, los síntomas neurológicos persisten aun cuando los niveles de Tl disminuyen en sangre. La dosis letal en humanos es de 10 a 15 mg/kg de peso (Osorio-Rico *et al.*, 2017; Kemnic y Coleman, 2018; Jiménez *et al.*, 2022).

Existen varios mecanismos propuestos para explicar la toxicidad del Tl. Uno de ellos es que dada su similitud con el  $K^+$ , puede interferir con sus procesos sustituyéndolo, esto fue demostrado en conejos donde encontraron que el Tl tiene una afinidad 10 veces mayor que el  $K^+$  por la  $Na^+/K^+$ -ATPasa, inhibiendo la actividad de esta enzima (Cvjetko *et al.*, 2010), que es la responsable de mantener el gradiente de  $Na^+$  y  $K^+$  a través de la membrana celular y es necesaria para mantener la función celular adecuada ya que preserva el potencial de membrana y el equilibrio osmótico de la célula (Suhail, 2010). Además, inhibe la piruvato deshidrogenasa, la succinato deshidrogenasa, la fructosa-1-6-bisfosfatasa, los complejos I, II y IV de la cadena de transporte de electrones comprometiendo la producción de ATP mitocondrial (Cvjetko *et al.*, 2010; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

También está involucrado en la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y esto puede dañar las mitocondrias bloqueando la progresión del ciclo celular desencadenando muerte celular por apoptosis con el aumento de las proteínas proapoptóticas y disminución de las proteínas antiapoptóticas (Chia *et al.*, 2005; Eskandari *et al.*, 2015).

#### **2.1.4.1 Efectos sobre la reproducción y el desarrollo embrionario**

El Tl se ha asociado con alteraciones en la salud reproductiva femenina, en estudios realizados en orina de mujeres embarazadas expuestas ambientalmente a Tl, encontraron que las concentraciones más altas de Tl están relacionadas con un mayor riesgo de padecer insuficiencia ovárica prematura (Ma *et al.*, 2022).

Sobre la salud reproductiva en hombres no hay reportes, pero sí en modelos biológicos. En ratas Wistar macho tratadas con 10 ppm de  $Tl_2SO_4$  durante 30 y 60 d de forma oral, reportaron reducción de la movilidad espermática, alteración del epitelio tubular, vacuolización citoplasmática, cambios en las células de Sertoli y actividad reducida de enzimas testiculares, concluyendo que el sistema reproductor masculino bajo exposición crónica tiene mayor probabilidad de sufrir alteraciones (Formigli *et al.*, 1986).

En ratones macho CD-1 tratados ip con diferentes dosis de CH<sub>3</sub>COOTI durante 10 y 60 d, se encontró aumento en el peso y daño al ADN (ensayo cometa) en testículo, cambios en la movilidad y conteo de espermatozoides, además de incremento en el número de espermatozoides con anomalías (Hernández-de la Cruz, 2019).

En estudios *In vitro* reportaron que la administración de TI en cultivos de células testiculares de rata albina provoca pérdida significativa de células a las 48 h de exposición en todas las concentraciones (1.4, 7 y 35 µg TI/g de testículo), incluso en la concentración más baja (Gregotti *et al.*, 1992).

La exposición materna al TI puede causar efectos adversos en el desarrollo embrionario e infantil. En estudios realizados en orina de mujeres embarazadas encontraron que las concentraciones más altas (0.40 µg/L comparado con la media establecida de 0.16 µg/L) de TI están relacionadas con mayor riesgo de parto y rotura prematura de membranas, así como mayor riesgo de bajo peso al nacer (Xia *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2018). Zhou *et al.* (2021) sugieren que el bajo peso al nacer puede estar relacionado con la disminución del peso de la placenta, y Govarts *et al.* (2016) reportaron que la presencia de TI en sangre de cordón umbilical, junto con otros metales, está asociada con bajo peso al nacer en niñas.

En modelos experimentales se han estudiado los efectos que puede producir la exposición durante el desarrollo embrionario o en los primeros d de nacimiento y se encontró que el TI puede cruzar la barrera placentaria y, acumularse en el embrión y el feto en pequeñas cantidades. Esto fue demostrado en trabajos realizados en ratas y ratones donde además se observó que el TI atraviesa la placenta y llega al feto en un periodo de 15 min después de la aplicación en la hembra gestante, además se encontró acumulación de TI en el saco vitelino visceral, la placenta corioalantoidea y el amnios administrando en diferentes etapas de la gestación (Olsen y Jonsen, 1982; Ziskoven *et al.*, 1983).

Rossi *et al.* (1988) encontraron que la administración oral de TI<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 mg/dL en agua potable *ad libitum*) a ratas albinas NOS desde el d 1 de gestación hasta el destete y del primer d después del nacimiento hasta el destete (postnatalmente), causa impacto adverso en el desarrollo del sistema nervioso autónomo, alteraciones de los receptores α-, β-adrenérgicos y muscarínicos. Además, en ratas Wistar recién nacidas tratadas con 16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI vía ip en el d 1 postnatal, observaron en músculo: necrosis, atrofia progresiva, fibrosis terminal y problemas sistémicos evidenciados por diarrea, alopecia persistente y reducción de tamaño corporal (Barroso-Moguel *et al.*, 1996).

Álvarez-Barrera *et al.* (2019) reportaron que la administración de 4.62, 9.25 y 18.5 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI vía ip en el d 7 de gestación a ratonas preñadas, provoca variaciones esqueléticas (osificación incompleta y parcial) en cráneo, esternones y

costillas en todos los fetos examinados, además de anomalías externas como tronco inclinado, extremidades anteriores y posteriores mal rotadas o posicionadas, enroscamiento y mala posición de la cola. Por otro lado, Santiago-Toledo (2021), siguiendo el mismo protocolo, al administrar 5.28 mg/kg del mismo compuesto, encontró aumento en el número de reabsorciones y disminución del peso de la camada que son signos de toxicidad embrionaria y fetal. En el caso de los fetos, observó variaciones externas en: extremidades superiores e inferiores, en la cola y en la posición del tronco; hematomas, canal en la espalda, osificación incompleta del cráneo y variaciones en costillas, esternebras y falanges.

#### **2.1.4.2 Efectos genotóxicos y citotóxicos**

Además de los efectos en el desarrollo y reproducción causados en humanos, el TI produce genotoxicidad, por ejemplo, en un estudio realizado en sangre de mujeres en el primer trimestre del embarazo, se reportó daño al ADN, con 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) como marcador (Tabassum *et al.*, 2022). Asimismo, en un estudio de cohortes de nacimiento en China, se relacionó con disminución de las copias de ADN mitocondrial en leucocitos de sangre de cordón umbilical (Wu *et al.*, 2019). El mismo grupo de estudio, trabajó con 746 parejas de madres y recién nacidos de la ciudad de Wuhan, China y concluyeron que la exposición prenatal al TI se relaciona con la reducción de la longitud de los telómeros de leucocitos neonatales (Wu *et al.*, 2021).

Los efectos genotóxicos también han sido estudiados *in vitro* en linfocitos humanos tratados con  $Tl_2SO_4$ , y tricloruro de talio ( $TlCl_3$ ) en concentraciones de 0.5, 1, 5, 10, 50 o 100  $\mu g/mL$ , mostraron que ambos compuestos reducen el índice mitótico y el índice replicativo, aumentan el número de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE), la frecuencia de los intercambios de cromátidas hermanas e inducen daño primario al ADN (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2013, 2017). Además, en el mismo modelo celular, la administración de  $CH_3COOTl$ ,  $Tl_2SO_4$ , y  $TlCl_3$  incrementa el porcentaje de muerte celular por apoptosis y necrosis, así como reduce la viabilidad y proliferación celular (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2019).

La capacidad del TI para causar daño al ADN también ha sido reportada con modelos biológicos *in vivo*, por ejemplo, García-Rodríguez *et al.* (2014) administraron 30 mg/kg de  $Tl_2SO_4$  a ratón macho, determinaron el efecto genotóxico mediante la prueba de MN y citotoxicidad con la relación EPC/ENC y la viabilidad celular por apoptosis, reportaron incremento significativo de MN, células apoptóticas y no viables.

En estudios realizados en la UNIGEN donde administraron tres dosis de  $TlCl_3$  (4.56, 9.12 o 18.24 mg/kg) a ratones macho CD-1, encontraron aumento en la frecuencia

de MN, con el pico de inducción 24 h posteriores a la administración del tratamiento y daño primario al ADN, sin mostrar cambios en la viabilidad celular (Consuegra-Obregón, 2022; Vizcaya-Santillán, 2022).

Se ha demostrado que el CH<sub>3</sub>COOTI administrado en diferentes dosis a ratones hembra y machos CD-1 adultos es capaz de inducir efecto genotóxico y citotóxico incrementando el número de ACE y disminuyendo el índice mitótico en células de médula ósea, además de causar daño al ADN en hígado, riñón, cerebro y testículo (Buendía-Valverde, 2013; Nava-Valencia, 2018; Hernández- de la Cruz, 2019).

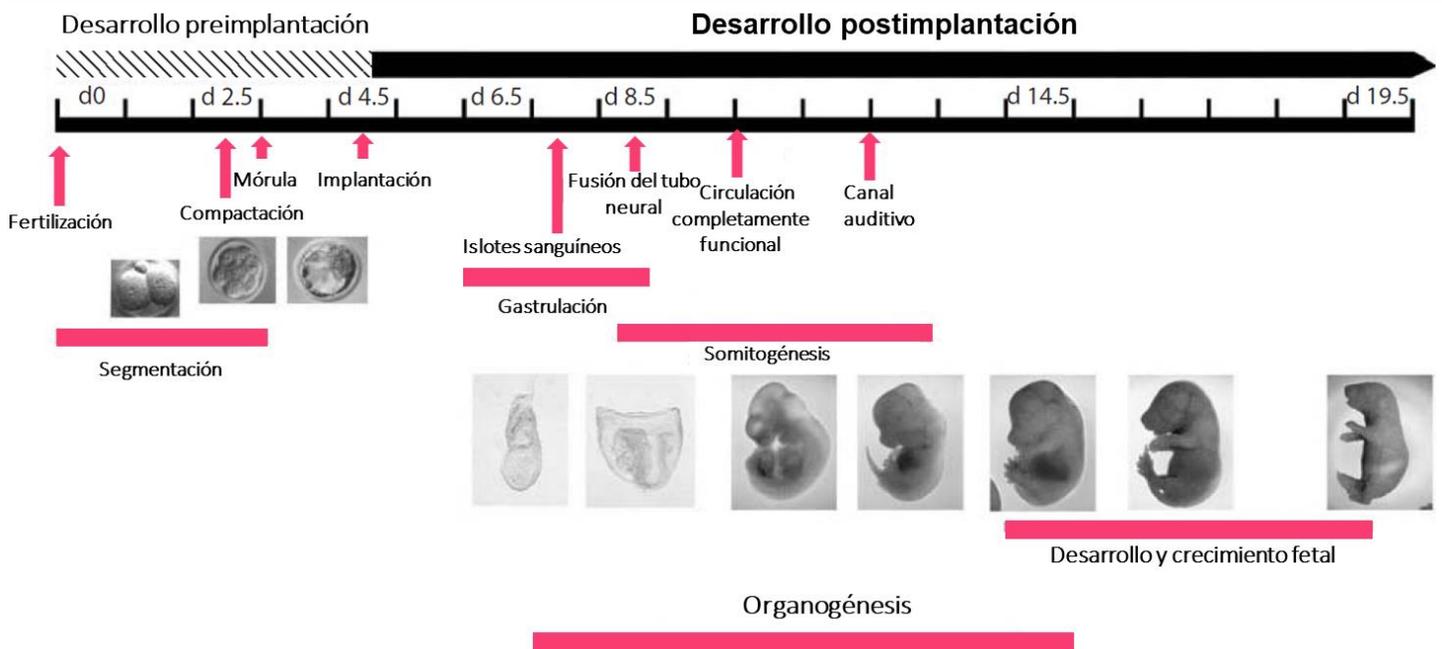
## 2.2 Modelo de estudio

En este trabajo se utilizó como modelo de prueba el ratón doméstico común, *Mus musculus*, que tiene las siguientes características: se adapta fácilmente a la vida en laboratorio, requiere poco espacio ya que son pequeños, son económicos de albergar, tienen camadas grandes, periodo de gestación corto, son dóciles y fáciles de manejar (Cuadro 1). En el área de la genética es utilizado porque su genoma está bien caracterizado y es parecido con el genoma humano, además de que es mamífero (Lambert *et al.*, 2017; Pierce, 2009; Bolon, 2015).

### Cuadro 1. Características generales del ratón

<b>Ciclo de vida</b>	
<i>Periodo de gestación</i>	18 a 21 d
<i>Número de crías por camada</i>	8 a 10 crías
<i>Peso promedio al nacer</i>	0.8–1.5 g
<i>Destete</i>	21 d después del nacimiento
<i>Madurez sexual</i>	4–6 semanas después del nacimiento
<i>Duración del ciclo estral</i>	4–5 d
<i>Vida media</i>	18 a 24 meses (según la cepa)
<b>Cromosomas</b>	20 pares de cromosomas: 19 pares autosómicos y 1 par sexual (X y Y)
<b>Cantidad de ADN</b>	2.5 millones de pares de bases 14 % más pequeño que el genoma humano
<b>Genes</b>	22 a 30 mil genes codificantes a proteínas: 90 % de los genes humanos y de ratón tienen el mismo orden en sus respectivos cromosomas

El ratón es empleado para estudiar numerosos procesos patológicos humanos, como enfermedades neurológicas, metabólicas y cáncer, ya que las mutaciones que causan enfermedades humanas a menudo causan enfermedades similares en ratones. También son utilizados en pruebas de toxicología del desarrollo por el parecido que tiene con el desarrollo embrionario humano. En el del ratón comienza con la fertilización, seguido de la preimplantación, la implantación, organogénesis y el crecimiento fetal, **Figura 3** (Kispert y Gossler 2004; Bolon, 2015; Lambert *et al.*, 2017).



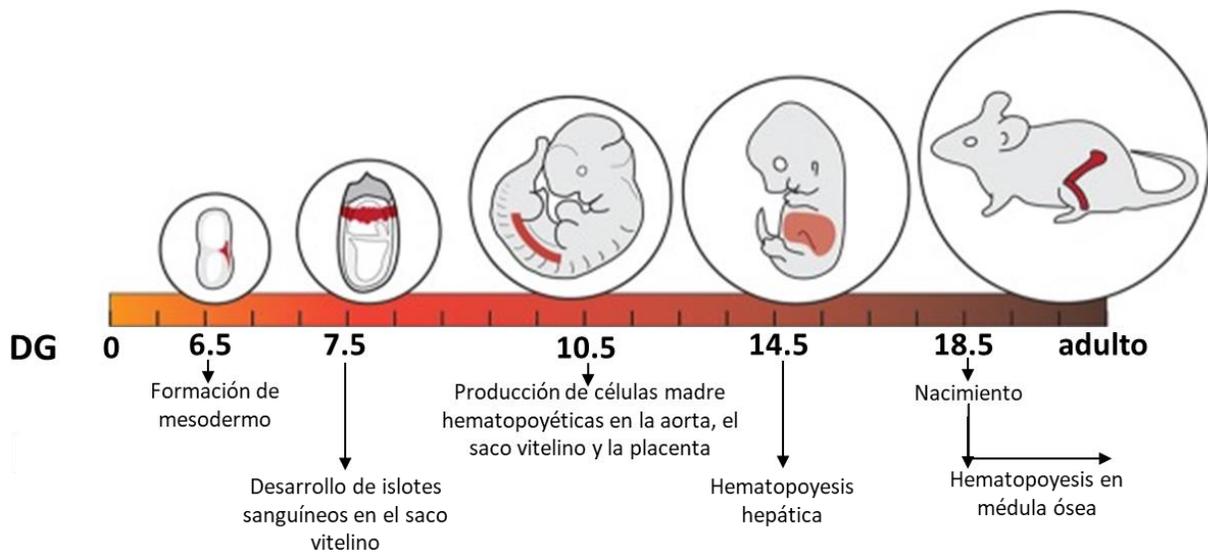
**Figura 3.** Descripción general del desarrollo del ratón. Tomado de Kispert y Gossler 2004, con modificaciones.

Durante la gestación, los fetos pasan por procesos, crecimiento del sistema nervioso, proliferación celular rápida, desarrollo de órganos y cambios metabólicos, lo que los hace susceptibles a sustancias tóxicas y nocivas presentes en el ambiente (Zhou *et al.*, 2021).

En pruebas de genotoxicidad *in vivo* es utilizado para evaluar el riesgo mutagénico de agentes presentes en el ambiente, como es la prueba de **MN**.

### 2.3 Eritropoyesis en ratón

Dado que en este trabajo se evaluaron MN en sangre periférica de hembras preñadas y sus fetos, mencionaré que la hematopoyesis se refiere a la formación de los componentes celulares de la sangre (glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas) a partir de células madre hematopoyéticas multipotentes de origen mesenquimal, capaces de dividirse y derivar hacia cualquier línea hematopoyética (mieloide o linfoide), durante el desarrollo embrionario se encuentra en diferentes lugares de acuerdo con la etapa de desarrollo del embrión o feto, primeramente, se establece en el saco vitelino y progresa al hígado fetal, que asume el papel hematopoyético predominante hasta el nacimiento, **Figura 4**. Después del nacimiento y durante la etapa adulta se lleva a cabo en la médula ósea (Keller *et al.*, 1999; Díaz *et al.*, 2001).



**Figura 4.** Ontogenia del sistema hematopoyético del ratón. Tomado de Barón *et al.*, 2012, con modificaciones.

En el saco vitelino se lleva a cabo la producción temprana de células del linaje eritroide, estas son nucleadas, tienen una vida corta y se derivan de células mesodérmicas que entran en contacto con el ectodermo iniciando la eritropoyesis. Los islotes sanguíneos comienzan a formarse debido a estas interacciones en el DG7.5, contienen macrófagos, megacariocitos fetales y eritrocitos primitivos. Los eritrocitos primitivos están presentes desde el DG7.5, alcanzan su punto máximo en el DG8.5, disminuyen en el DG9 y entran a circulación para madurar entre el DG 9.5–12.5. En esta etapa de maduración se condensa el núcleo, disminuyen su volumen y el contenido de ARN, entre el DG12.5–16.5 sufren enucleación (Barón *et al.*, 2012; Udriou, 2016; Yumine *et al.*, 2017). En el DG9.5 hay una superposición temporal entre la eritropoyesis primitiva y la definitiva, la región aorta-gónada-mesonefros genera las primeras células madre hematopoyéticas y en el DG11.5

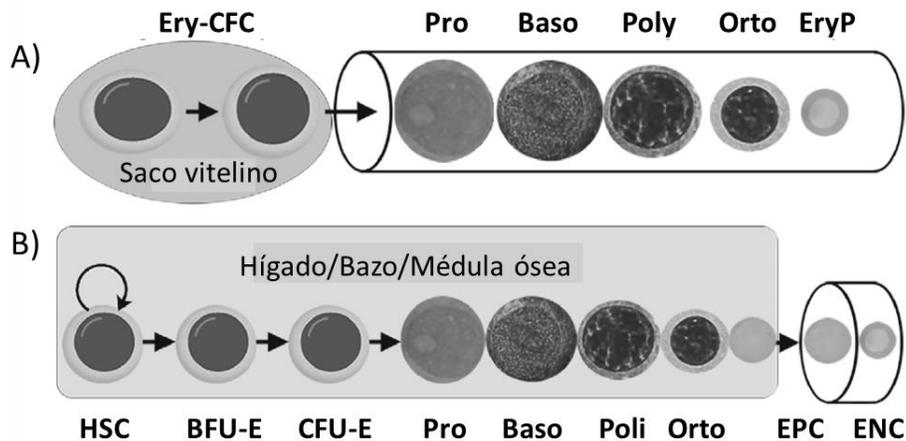
migran al hígado fetal para diferenciarse en eritrocitos definitivos que ingresan a la circulación. Al nacer, las células madre hematopoyéticas del hígado fetal migran y colonizan la médula ósea, se producen en eritrocitos definitivos para la circulación durante toda la vida. El bazo también es un sitio de diferenciación para las células eritroides (Keller *et al.*, 1999; Dzierzak y Philipsen, 2013; Udroui, 2016).

En adultos, a partir de una célula madre eritropoyética se forman los proeritroblastos. De ellos derivan los eritroblastos, cuando estos se desarrollan en un EPC o reticulocito (eritrocito joven que aún contiene ARN), el carácter que define esta etapa es la expulsión del núcleo. La maduración del EPC comienza en el órgano eritropoyético y continúa dentro del torrente sanguíneo, que en roedores adultos toma de 48-72 h, dividido en partes iguales entre la médula ósea y la circulación. Los EPC, con el tiempo, degradan al ARN y contienen primordialmente hemoglobina, entonces se conocen como ENC o eritrocitos maduros, **Figura 5** (Rojas-Lemus y Milán-Chávez, 2016; Udroui, 2016).

En los mamíferos adultos, las células eritroides en las etapas terminales de diferenciación son anucleadas, no poseen retículo endoplasmático ni mitocondrias, asegurando que estas células no utilicen el oxígeno que transportan. En consecuencia, ya no pueden proliferar (Dzierzak y Philipsen, 2013; Udroui, 2016). Poseen un diámetro de solo 6–8  $\mu\text{m}$  y forma bicóncava creando una gran área de superficie para el intercambio de gases, estas dos características permiten que las células ingresen a los microcapilares en los tejidos (Dzierzak y Philipsen, 2013).

En condiciones estables, aproximadamente el 1 % de los eritrocitos totales se eliminan todos los días y se reemplazan por nuevas células. La vida útil en ratones adultos es de 42 días (Dzierzak y Philipsen, 2013; An *et al.*, 2015).

Los estudios de los mecanismos fundamentales de la eritropoyesis en humanos y ratones han proporcionado información crítica sobre los trastornos hereditarios y adquiridos del eritrocito como anemia de células falciformes y talasemia (Sankaran y Gallagher, 2013; An *et al.*, 2015).



**Figura 5.** Eritropoyesis A) primitiva y B) definitiva. Abreviaturas: eritrocitos, Ery; eritrocitos primitivos, EryP; células formadoras de colonias, CFC; proeritroblasto, Pro; eritroblasto basófilo, Baso; eritroblasto policromatófilico, Poli; eritroblasto ortocromático, Orto; unidad formadora de estallido eritroide, BFU-E; unidad formadora de colonias eritroides, CFU-E; eritrocito policromático, EPC; eritrocito normocromático, ENC. Tomado de Udroi, 2016.

### 2.3 Evaluación de la genotoxicidad

Los agentes genotóxicos son aquellos capaces de interactuar directa o indirectamente con el material genético, estos pueden ser de origen físico, químico o biológico. La toxicología genética se encarga de identificar y analizar la acción de este grupo de agentes y definir a partir de ello los efectos que producen sobre la integridad genética de los seres vivos (Roldán-Reyes, 2016).

El ensayo de MN, junto con otras pruebas, es recomendado como batería de prueba para la evaluación genotóxica en la “International Conference on Harmonization of Genotoxicity Guidelines” (ICH), así como por otras agencias reguladoras como la “Environmental Protection Agency” (EPA), la “Food and Drug Administration” y la “International Agency for Research of Cancer” (IARC).

### 2.4 Ensayo de micronúcleos

Los MN son pequeños cuerpos citoplasmáticos de origen nuclear que contienen cromatina, formados por fragmentos de cromosomas o cromosomas completos no incorporados correctamente a los núcleos de las células hijas durante la división celular, específicamente durante la transición de metafase a anafase de la mitosis. Son biomarcadores de eventos genotóxicos y de inestabilidad cromosómica (Mavournin *et al.*, 1990; FDA, 2000; Fenech *et al.*, 2011; Rojas-Lemus y Milán-Chávez, 2016).

Esta prueba tiene la ventaja de ser rápida, los MN pueden visualizarse fácilmente, se usa ampliamente como ensayo a corto plazo que permite detectar daño citogenético asociado con la frecuencia de aberraciones cromosómicas (sin identificar de que tipo son). Los MN se evalúan con mayor frecuencia en EPC de médula ósea o EPC de sangre periférica. La frecuencia basal de MN en EPC para la mayoría de las cepas de ratones y ratas es de 1 a 3 por millón (FDA, 2000; Grawé, 2005).

Hayashi (1983) implementó la técnica por tinción con NA en células de sangre periférica de ratón. Este colorante se intercala en el ADN emitiendo fluorescencia de color verde, y cuando se une al ARN al no poder intercalarse se tiñe de anaranjado. Los ENC no presentan fluorescencia ya que no tienen ribosomas, los EPC tienen actividad ribosómica y por lo tanto se tiñen de color rojo (McGahon *et al.*, 1995). Al observar los eritrocitos en sus diferentes etapas de maduración, se puede evaluar citotoxicidad de un agente al hacer un conteo de al menos 200 eritrocitos de médula ósea o al menos 1000 eritrocitos de sangre periférica por animal para observar cambios en la proliferación celular (Hayashi *et al.*, 1994).

El incremento en la frecuencia de MN en EPC, es un indicador de daño genético, de inestabilidad cromosómica y actualmente, tiene valor predictivo en la predisposición a desarrollar cáncer, ya que la inestabilidad del genoma es un sello distintivo de los cánceres que surgen espontáneamente (Balmus *et al.*, 2015). Los MN encontrados en ellos pueden atribuirse a un tratamiento químico administrado durante un ciclo celular reciente. La variación en el número de MN con el tiempo es una función compleja de muchos factores y el tiempo preciso de la máxima inducción no se puede predecir de antemano para un químico específico. En la mayoría de los casos, el pico ocurrirá entre 24 y 60 h después del tratamiento (Mavournin *et al.*, 1990; Rojas-Lemus y Milán-Chávez, 2016).

En el ratón, los MN en ENC también son una población celular aceptable que se puede analizar cuando la duración de la exposición supera las 4 semanas (que es aproximadamente la vida útil de eritrocitos) que son indicativo de un tratamiento crónico. Los resultados se observan como una acumulación a niveles significativos en los ENC periféricos de estos ratones (Mavournin *et al.*, 1990; Hayashi *et al.*, 1994).

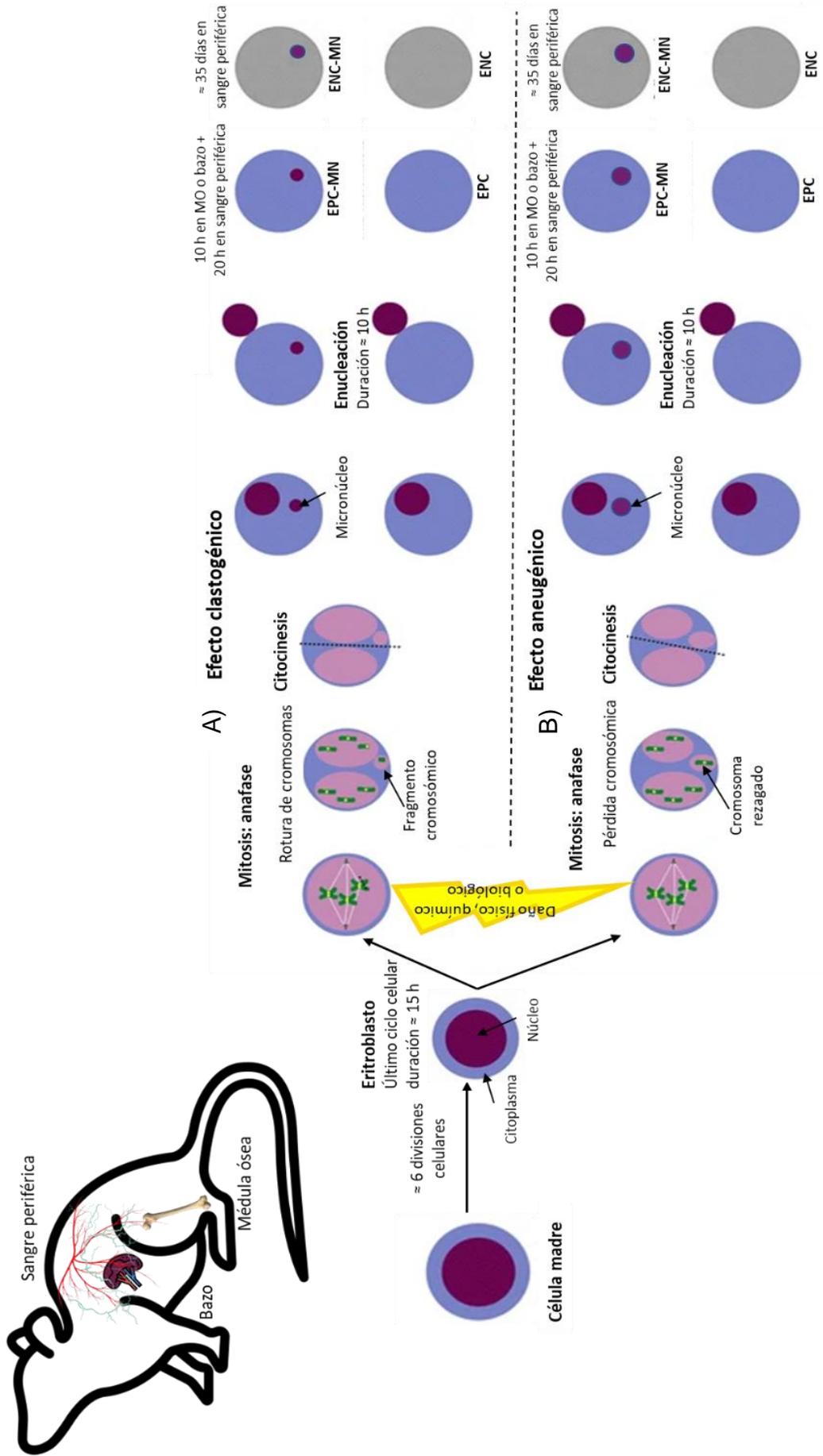
#### 2.4.1 Origen de los micronúcleos

El ADN es susceptible a presentar daños en su estructura resultado de diferentes factores como radiación y sustancias genotóxicas. Durante la división celular normal, el material genético contenido en el núcleo celular se replica y divide equitativamente dando lugar a dos células hijas idénticas; durante este proceso pueden ocurrir errores que conllevan a la pérdida cromosómica y reparto del material genético inequitativo, origina un nuevo núcleo de menor tamaño que el primero, denominado MN (Fenech, 2006; Zalacain *et al.*, 2005).

El origen de los MN es de dos vías (Schmid, 1975):

- a. Daño clastógeno. Se da por la ruptura o fragmentación de los cromosomas que se originan a través de múltiples mecanismos como la mala reparación de roturas de doble cadena en el ADN, esto conduce a la formación de MN de cromosomas acéntricos o fragmentos de cromátidas, **Figura 6A**.
- b. Daño aneuploidógeno. Por el daño a nivel de las proteínas encargadas de la segregación cromosómica, defectos en el ensamblaje o desensamblaje del huso mitótico, remoción de cinetocoros, daños al centriolo, centrómero inactivado en los puntos de control de la mitosis y la amplificación anormal del centrosoma, que da como resultado MN de cromosomas enteros mal segregados, **Figura 6B**.

Los MN se pueden evaluar en diferentes tipos celulares tales como mieloblastos, mielocitos, linfocitos de sangre periférica, EPC de médula ósea, células uroteliales, células exfoliadas de la mucosa nasal y bucal, células germinales y eritrocitos de sangre periférica y fetal (Schmid y Von Ledebur, 1973; Krishna y Hayashi, 2000; Fenech *et al.*, 2011).



**Figura 6.** Proceso de formación de MN en eritrocitos de ratón adulto. Tomado de Maistro 2014, con modificaciones.

### 2.3.3 Criterios para determinar micronúcleos

Los MN deben cumplir las siguientes características:

- Forma redonda u ovalada
- Con un diámetro aproximado de  $1/20$  a  $1/5$  de un eritrocito.
- Diámetro que varía desde 0.4 a 1.6  $\mu\text{m}$
- Contorno liso
- Estar completamente separados, poseer su propia membrana
- Teñirse uniforme
- Estar en el mismo plano que la célula, no refractarias (Schmid, 1975; Fenech, 2000).

La medición de MN en EPC en sangre periférica es igualmente aceptable en cualquier especie en la que se haya demostrado la incapacidad del bazo para eliminar los eritrocitos micronucleados, o que haya mostrado una sensibilidad adecuada para detectar agentes que causan aberraciones cromosómicas numéricas, estructurales o ambas (FDA, 2000).

La respuesta de la prueba se considerará positiva cuando hay aumento estadísticamente significativo de eritrocitos con MN y este es dependiente de la dosis. Si no se cumple ninguna de las condiciones anteriores, la respuesta de la prueba se clasificará como negativa. Si se cumplen, pero no ambas, de las condiciones anteriores, los resultados del ensayo se clasificarán como equívocos y, sólo en este caso, se requerirá una prueba repetida o confirmatoria (Hayashi *et al.*, 1994; FDA, 2000).

### 3.JUSTIFICACIÓN

Las mujeres embarazadas están en contacto por diversas fuentes con muchos compuestos químicos, entre ellos el TI y sus compuestos, representando riesgo para el organismo en desarrollo y la salud materna, ya que es capaz de atravesar la placenta y producir efectos en el desarrollo embrionario, como se demostró en estudios realizados en el laboratorio administrando ip  $\text{CH}_3\text{COOTI}$  a ratones hembra preñadas en el d 7 de gestación donde se encontró que el TI produce anomalías externas y esqueléticas en los fetos descendientes. Además, en ensayos *in vivo* en ratones macho adultos CD-1 e *in vitro* en linfocitos humanos tratados con diferentes compuestos de TI, se encontró incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas y de MN, así como reducción de la viabilidad celular y del índice mitótico; sin embargo, no se tienen datos del alcance de sus efectos genotóxicos y citotóxicos en modelos *in vivo* con hembras preñadas y sus fetos.

Por lo que en este trabajo se evaluó el posible efecto genotóxico con la prueba de MN, y citotóxico con la relación de EPC/ENC y viabilidad producida por la administración de  $\text{CH}_3\text{COOTI}$  durante la organogénesis a ratonas hembras preñadas y sus descendientes.

#### **4.HIPÓTESIS**

Se conoce que el TI produce efectos tóxicos en sistemas *in vivo* e *in vitro*, además de que cruza la barrera placentaria, por lo tanto, se espera que la administración de CH<sub>3</sub>COOTI a ratones hembra preñadas de la cepa CD-1 durante la organogénesis produzca daño en el material genético y daño celular en las hembras y sus descendientes.

#### **5.OBJETIVOS**

##### **5.1 General**

Evaluar la genotoxicidad y citotoxicidad en sangre periférica de ratones hembra y su descendencia tratados con CH<sub>3</sub>COOTI durante la organogénesis (DG6, 8, 10, 12, 14 y 16).

##### **5.2 Particulares**

- Evaluar viabilidad celular con la técnica de NA y BE en sangre periférica de ratón hembra y sus descendientes tratados con CH<sub>3</sub>COOTI.
- Evaluar la relación EPC/ENC en sangre periférica de ratón hembra y sus descendientes tratados con CH<sub>3</sub>COOTI.
- Evaluar la frecuencia de MN en sangre periférica de ratón hembra y sus descendientes tratados con CH<sub>3</sub>COOTI.
- Determinar la h de muestreo en la que se presenta el mayor número de MN (pico de máxima inducción de MN) en ratón hembra preñada tratada con CH<sub>3</sub>COOTI.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Reactivos

Para realizar este trabajo se emplearon los siguientes reactivos: acetato de talio ( $\text{CH}_3\text{COOTl}$ ; CAS no. 563-68-8; Munich, Germany; pureza del 98 %), cloruro de cadmio (II) ( $\text{CdCl}_2$ ; CAS no. 790-78-5; Munich, Germany; pureza 79.5–81 %), solución amortiguadora de fosfato salina (PBS por sus siglas en inglés) y naranja de acridina (CAS no. 10127-02-3) provenientes de Sigma-Aldrich; bromuro de etidio (Cat. No. 1585-011) de GIBCO; y agua inyectable adquirida de Pisa.

### 6.2 Animales

Se emplearon ratones de la cepa CD-1, hembras de 12 a 14 semanas de edad con un rango de peso de 31–35 g, y machos proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Los animales se mantuvieron en jaulas de plástico bajo condiciones controladas de temperatura, con un ciclo de luz-oscuridad 12:12 h, con libre acceso al alimento y agua. El manejo de los organismos se realizó de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999.

### 6.3 Cruza

La crusa se llevó a cabo colocando dos hembras con un macho por la tarde, a la mañana siguiente se revisó la presencia de tapón vaginal, el d que se observó el tapón se tomó como el d cero de gestación (DG0). Diariamente se realizó una revisión externa de las hembras registrando cualquier anomalía y su peso.

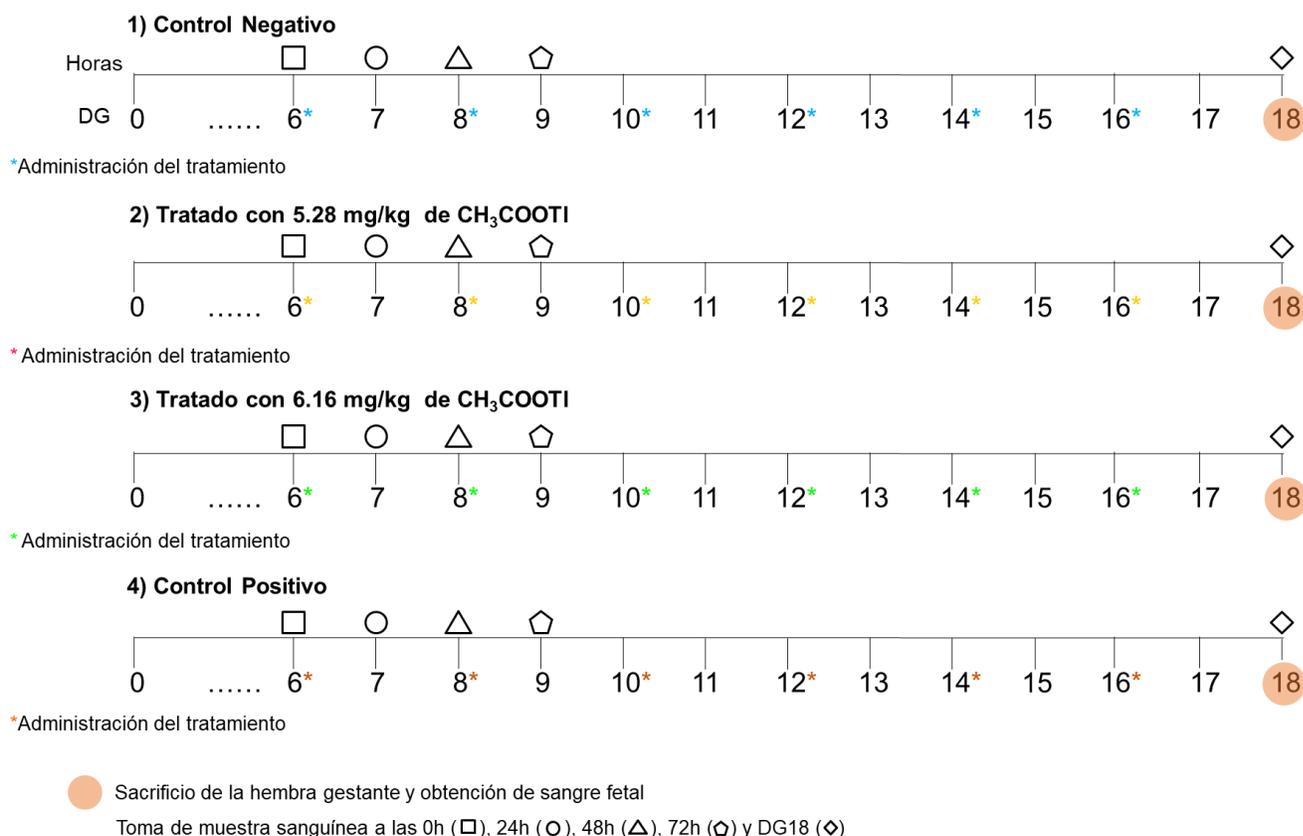
### 6.4 Diseño experimental

Se trabajó con cuatro grupos de seis hembras preñadas cada uno: i) control negativo, 0.1 mL/10 g de pc agua inyectable, ii) control positivo, tratado con 1 mg/kg de pc de  $\text{CdCl}_2$ , iii) grupo tratado con 5.28 mg/kg de pc de  $\text{CH}_3\text{COOTl}$  y vi) grupo tratado con 6.16 mg/kg de pc de  $\text{CH}_3\text{COOTl}$ . Las dosis fueron elegidas con base en trabajos realizados previamente en el laboratorio. El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de la FES-Zaragoza FESZ-CE/21-118-01.

Todos los tratamientos se administraron vía ip en los DG6, 8, 10, 12, 14 y 16 a las 8 a.m., **Figura 6**.

La toma de muestra sanguínea para la prueba de MN, relación de EPC/ENC y viabilidad celular en las hembras preñadas se realizó antes de la inyección ip de la primera dosis de cada tratamiento (0 h) y, a las 24, 48 y 72 h posterior a la administración y en el DG18. En el caso de los fetos, se realizó la toma de muestra sanguínea para las mismas pruebas en el DG18 después de su obtención, **Figura 7**.

## Grupos formados por 6 hembras preñadas cada uno



**Figura 7.** Diseño experimental utilizado para evaluar el efecto genotóxico y citotóxico del CH<sub>3</sub>COOTI.

### 6.5 Prueba de viabilidad

La evaluación de viabilidad se realizó con la técnica de McGahon *et al.* (1995). Se realizó una solución 1:1 con NA (100 µg/mL) y BE (100 µg/mL).

#### 6.5.1 Tiempos de evaluación y toma de muestras

##### Hembras preñadas

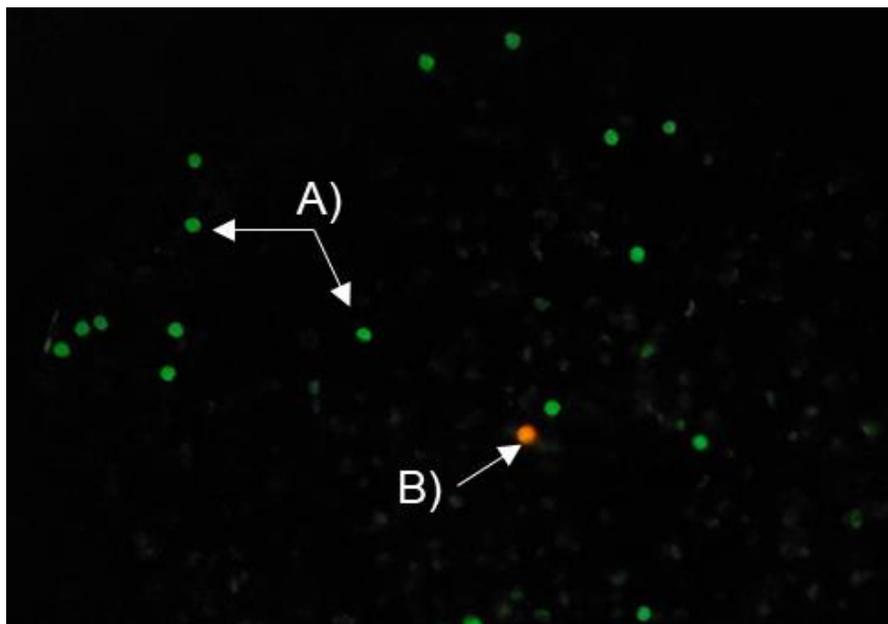
Los tiempos de evaluación son los mismos que para la prueba de MN, Figura 6. Las muestras se obtuvieron realizando un corte a la punta de la cola con ayuda de unas tijeras de punta fina. Con una micropipeta con la punta heparinizada (con 1 µL de heparina) se tomaron 10 µL de sangre y se colocaron en un tubo Eppendorf con 2 µL de la mezcla de los colorantes.

## Fetos

Las hembras de los cuatro grupos fueron eutanizadas por dislocación cervical en el DG18, se retiraron y pesaron los cuernos uterinos y se extrajeron los fetos. Se tomaron al azar dos fetos de cada cuerno uterino por hembra, se limpiaron con PBS para evitar contaminación, se realizó un corte en el cuello y se tomaron 10  $\mu$ l de sangre con una micropipeta con la punta heparinizada (con 1  $\mu$ L de heparina), se colocaron en un tubo eppendorf y se mezcló con 2  $\mu$ l de la mezcla de los fluorocromos.

### 6.5.2 Evaluación de muestras

Se colocó 10  $\mu$ L de la muestra teñida en portaobjetos y se evaluó bajo un microscopio de fluorescencia con un filtro de excitación azul (480 nm) y un filtro de emisión de luz amarilla (515–530 nm), se cuantificaron 100 células diferenciando entre viables (verdes) y no viables (rojas), **Figura 8**.



**Figura 8.** Viabilidad celular en sangre periférica de ratones, A) viables y B) no viables. De propia autoría.

## **6.6 Ensayo de MN**

### **6.6.1 Preparación de laminillas**

Los portaobjetos se colocaron en una mezcla de etanol-cloroformo 9:1 por al menos 2 h y se limpiaron con gasa. Después, los portaobjetos se calentaron (a 70 °C aproximadamente) y se colocó 10 µL de solución de NA (1 mg/mL), con ayuda de otro portaobjetos se realizó un barrido uniforme a lo largo de la laminilla. Se almacenaron en oscuridad hasta su uso.

### **6.6.2 Tiempos de evaluación y toma de muestras**

#### **Hembras preñadas**

Se tomaron las muestras sanguíneas en 5 momentos: antes de la primera administración de cada tratamiento que fue en el DG6 (0 h) y, en DG7 (24 h), DG 8 (48 h), DG9 (72 h) y en el DG18. Se extrajeron 10 µL de sangre periférica de las hembras preñadas realizando un corte a la punta de la cola con ayuda de unas tijeras de punta fina. A los portaobjetos previamente preparados se les colocó la muestra en el centro, se cubrió con un cubreobjetos y se sellaron con esmalte, se guardaron en refrigeración en ausencia de luz por al menos 24 h y hasta su lectura. Se realizaron dos laminillas por ratón.

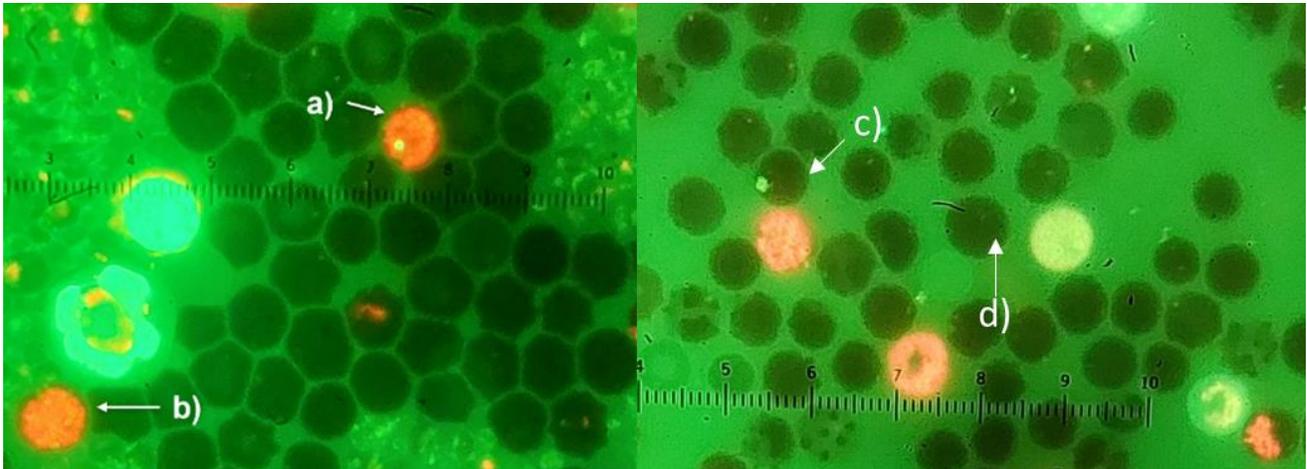
#### **Fetos**

Se emplearon los mismos fetos que para la prueba de viabilidad. Con tijeras de punta fina se realizó un corte en el cuello, se tomaron 10 µl de sangre por laminilla. Se prepararon dos laminillas por feto.

### **6.6.3 Evaluación de muestras**

La evaluación se realizó mediante la observación de las laminillas bajo un microscopio de fluorescencia con un filtro de excitación azul (480 nm) y un filtro de emisión de luz amarilla (515–530 nm).

Se cuantificaron 2000 eritrocitos entre policromáticos y normocromáticos, los eritrocitos policromáticos micronucleados (MN-PCE) que hay en 2000 eritrocitos policromáticos y los eritrocitos normocromáticos micronucleados (MN-NCE) que hay en 2000 eritrocitos normocromáticos, **Figura 9**.



**Figura 9.** Micrografía de eritrocitos de sangre teñidos con NA: a) MN en EPC, b) EPC c) MN en ENC y d) ENC. De propia autoría.

### 6.7 Análisis estadístico

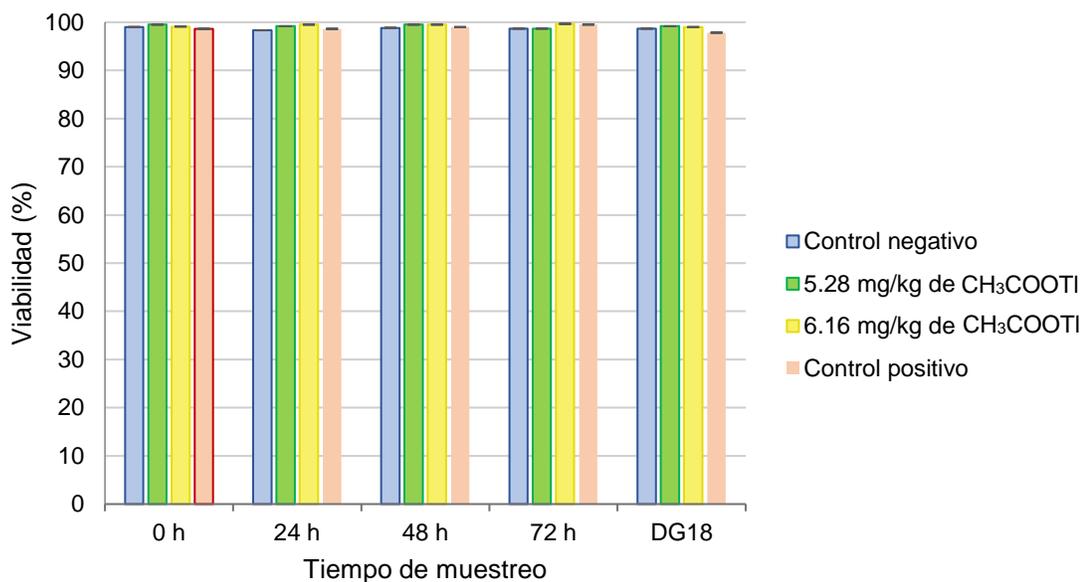
Los resultados obtenidos de cada grupo se presentan con la media  $\pm$  desviación estándar o la media  $\pm$  error estándar del grupo en total. A los datos de proliferación de EPC y MN se les aplicó el análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba *post hoc* de Dunnett para determinar la significancia entre las medias de cada grupo. Se utilizó el paquete estadístico SPSS® versión 15 IBM y las diferencias significativas se consideraron con  $p < 0.05$ .

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Evaluación de viabilidad celular

#### 7.1.1 Hembras preñadas

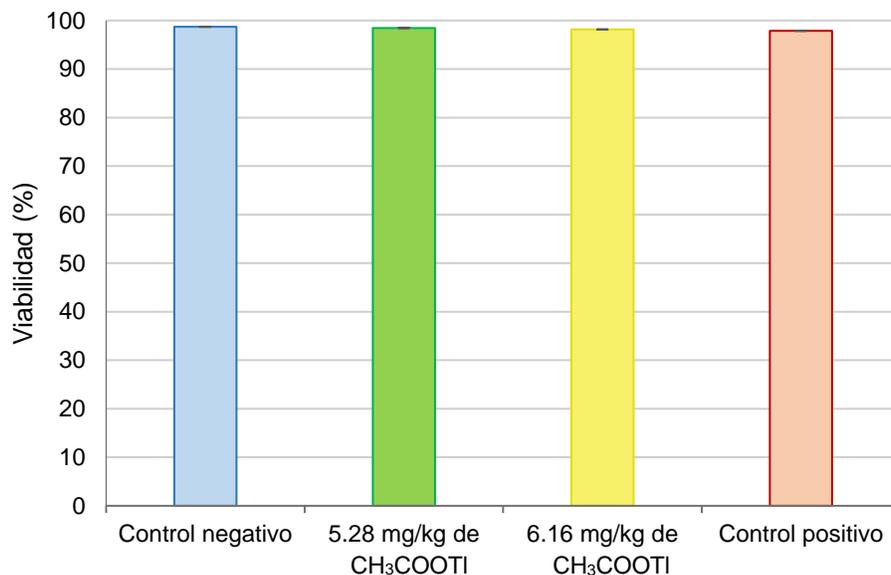
Los resultados obtenidos con la prueba de viabilidad celular evaluada por la técnica dual de fluorocromos NA-BE de las hembras tratadas con 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI durante la organogénesis, no mostraron cambios comparado con el testigo negativo y comparados también con la 0 h, la viabilidad en todos los grupos fue superior al 98 %, **Figura 10**.



**Figura 10.** Viabilidad celular en sangre periférica de hembras preñadas CD-1 teñidos con NA-BE a las 0, 24, 48, 72 h y DG18 después de la administración de CH<sub>3</sub>COOTI. Los valores se expresan con la media  $\pm$  desviación estándar, de 6 animales por grupo.

### 7.1.2 Fetos

Con la prueba de NA-BE, en los fetos se evaluó la viabilidad celular en sangre periférica. En todos los grupos la viabilidad fue superior al 98 %, los resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos, **Figura 11**.

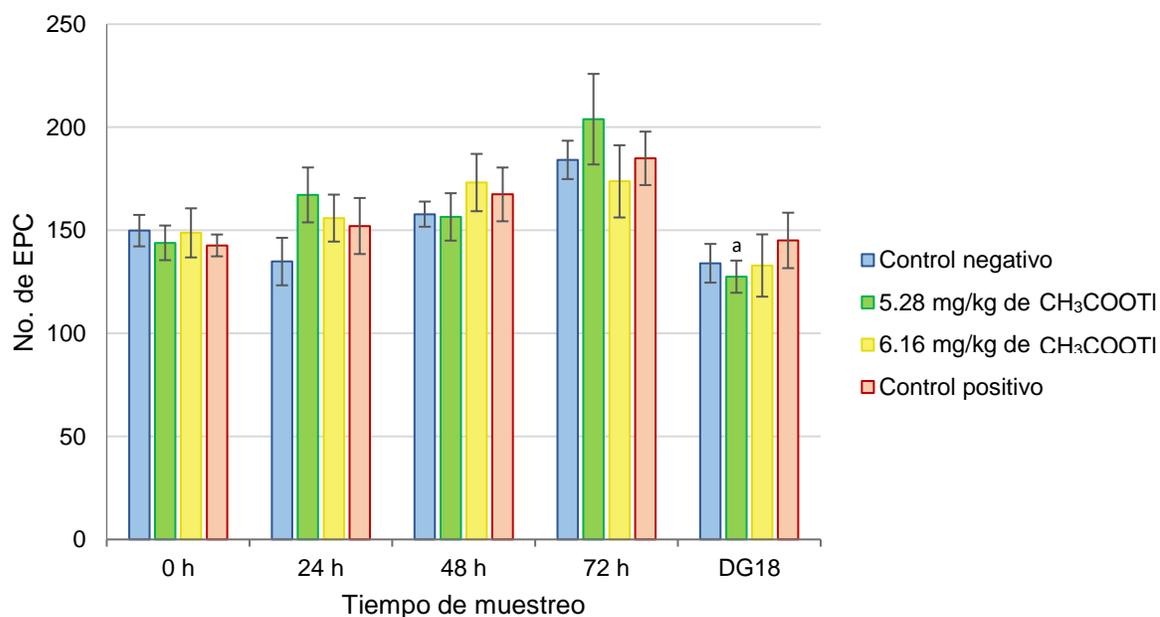


**Figura 11.** Viabilidad celular en sangre periférica de fetos de DG18 obtenidos de ratones hembra tratados con 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI durante la organogénesis. Los valores se expresan se expresan con la media  $\pm$  desviación estándar, de 24 animales por grupo.

## 7.2 Conteo de EPC

### 7.2.1 Hembras preñadas

Los resultados obtenidos en el conteo de EPC en sangre periférica con respecto a 2000 eritrocitos totales (EPC + ENC), no mostraron diferencias en ambos grupos tratados con CH<sub>3</sub>COOTI al compararse entre grupos y entre h de muestreo, Figura 12.

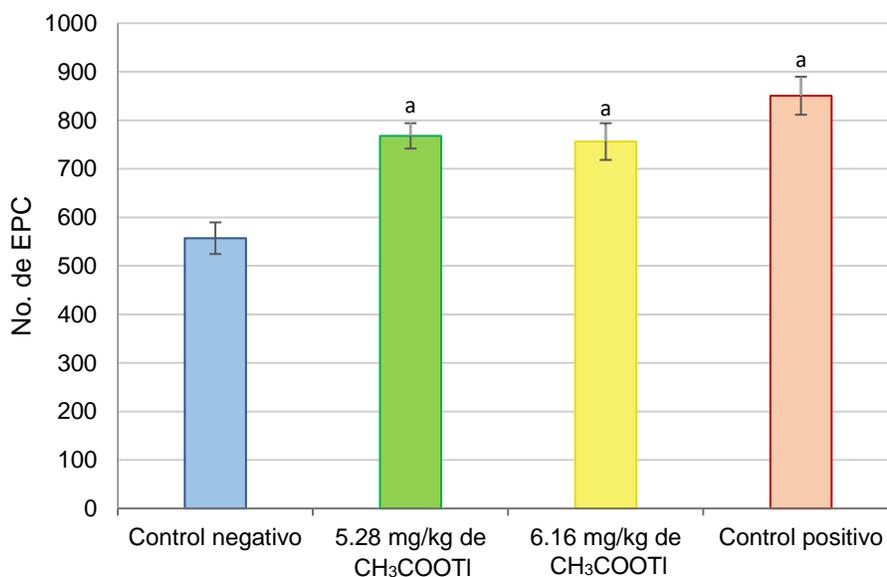


**Figura 12.** Número de EPC presentes en 2000 eritrocitos totales de ratones hembra CD-1 preñadas tratadas con CH<sub>3</sub>COOTI a diferentes tiempos. Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, de 6 animales por grupo.

<sup>a</sup>  $p < 0.05$ , comparado con la 72 h de su respectivo grupo (ANOVA-Dunnet).

### 7.2.2 Fetos

En el conteo de EPC respecto al total de eritrocitos de sangre periférica de fetos de DG18 obtenidos de hembras tratadas durante la organogénesis con CH<sub>3</sub>COOTI, se observó que el número de EPC es mayor respecto al control negativo en los grupos tratados con 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI, Figura 13.



**Figura 13.** Número de EPC presentes en sangre periférica de fetos de ratonas tratadas con CH<sub>3</sub>COOTI. Conteo de EPC presentes en 2000 eritrocitos totales de fetos del DG18, de hembras tratadas con 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI en el DG 6, 8, 10, 12, 14 y 16. Los valores se expresan como la media ± error estándar, de 24 animales por grupo.

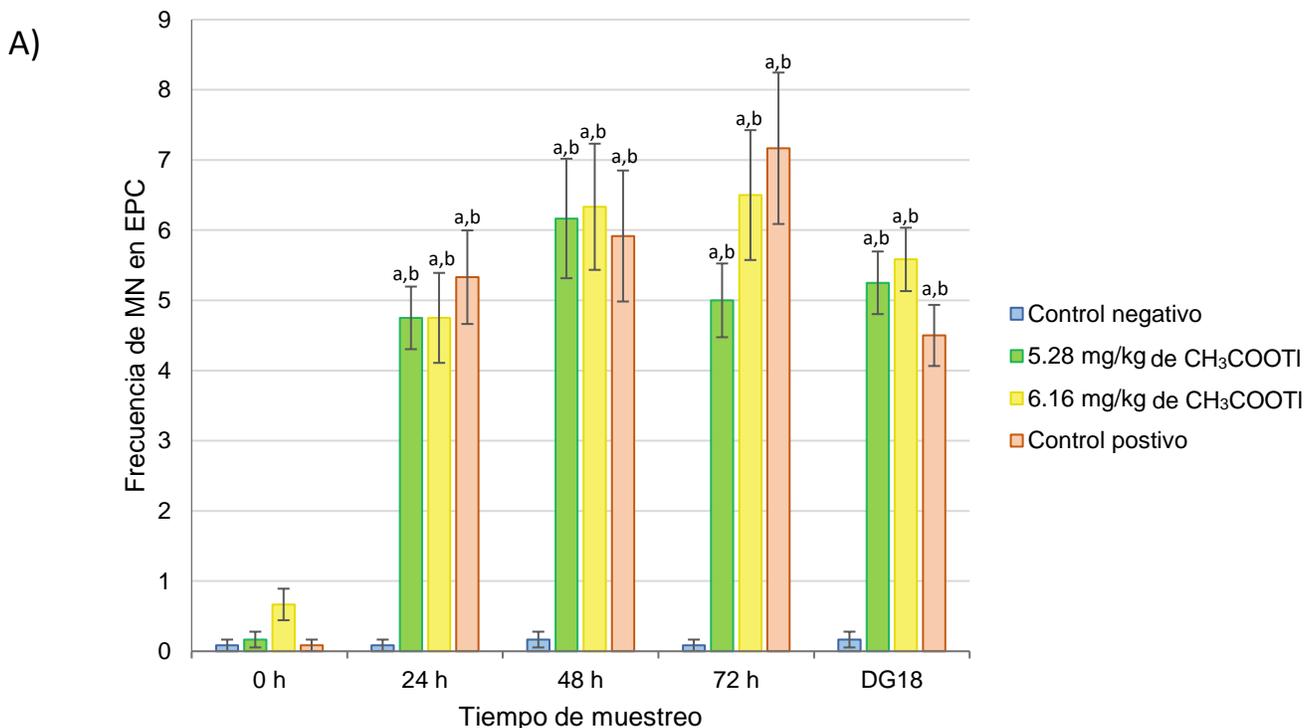
<sup>a</sup>  $p < 0.05$  comparado con el grupo testigo (ANOVA-Dunnet).

### 7.3 Evaluación de la frecuencia de MN en EPC y ENC

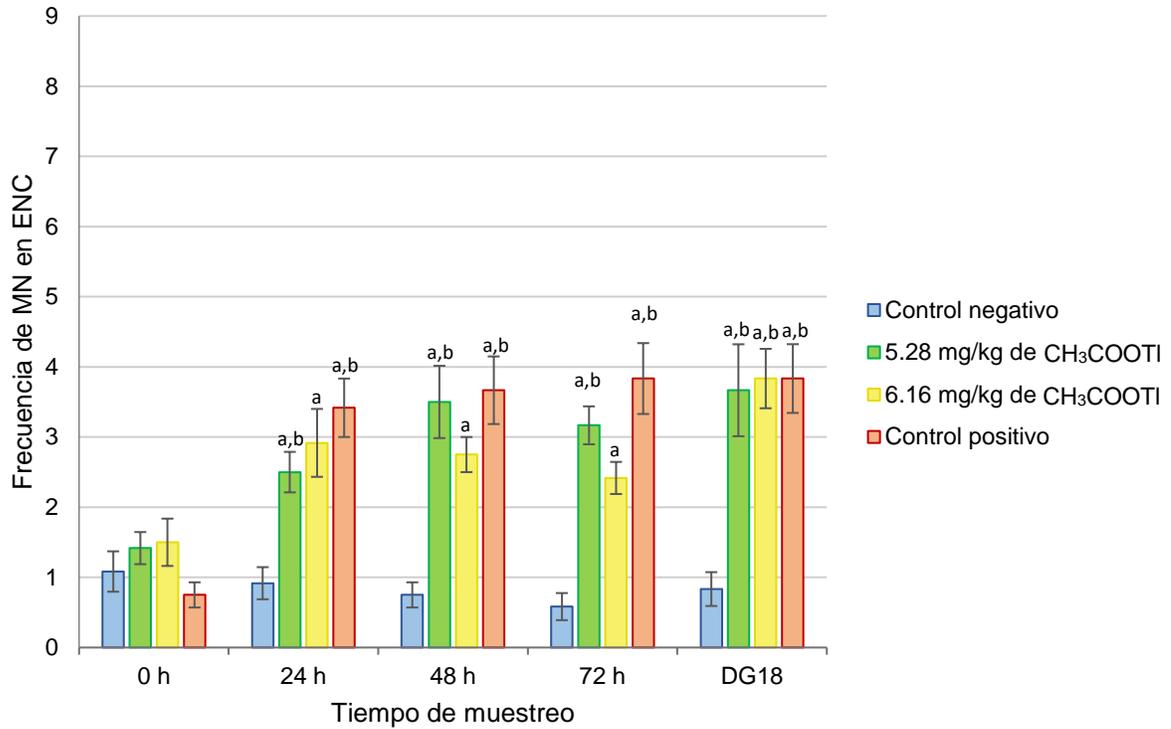
#### 7.3.1 Hembras preñadas

La evaluación de la frecuencia de MN en EPC de sangre periférica de ratonas preñadas tratadas con diferentes dosis de CH<sub>3</sub>COOTI mostraron que en ambos grupos hay incremento de MN en EPC en todas las h de muestreo respecto al grupo testigo y a la 0 h de su respectivo grupo, Figura 14A. Para el grupo de 5.28 mg/kg el mayor aumento se dio a las 48 h (6.1 MN en EPC) y para el grupo de 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI fue a las 72 h (6.5 MN en EPC) comparando con el testigo que fue de 0.16 en ambos casos.

Los MN en ENC también presentaron aumento respecto al control negativo y a la 0 h en el grupo tratado con 5.28 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI en todas las h de muestreo. En el caso del grupo tratado con 6.16 la diferencia solo fue significativa respecto al grupo control a las 24, 48 y 72 h, en el DG18 el aumento fue significativo respecto al grupo testigo y a la 0 h de su respectivo grupo, Figura 14B.



B)



**Figura 14.** Frecuencia de MN en eritrocitos de sangre periférica de ratonas CD-1 preñadas tratadas CH<sub>3</sub>COOTI durante la organogénesis. Conteo de MN presentes a las 0, 24, 48, 72 y DG18 después de la administración. A) MN presentes en 2000 EPC totales, B) MN presentes en 2000 ENC totales. Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, de 6 animales por grupo.

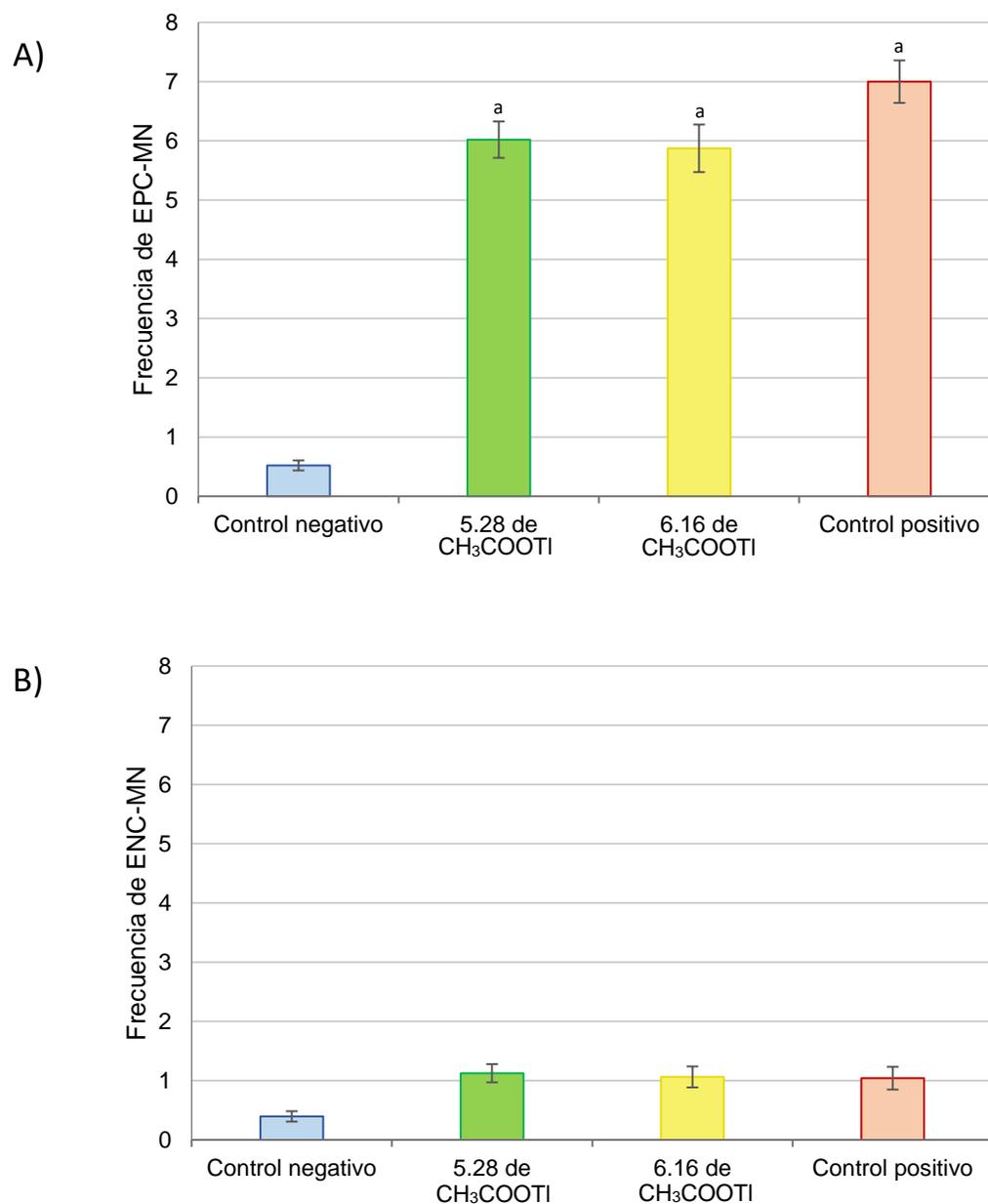
<sup>a</sup>  $p < 0.05$ , comparado con el grupo testigo (ANOVA-Dunnet).

<sup>b</sup>  $p < 0.05$ , comparado la 0 h de su respectivo grupo (ANOVA-Dunnet).

### 7.3.2 Fetos

La frecuencia de MN en EPC de sangre periférica de fetos de DG18 obtenidos de hembras tratadas con 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI mostraron incremento en ambos grupos respecto al testigo negativo, 6.02 y 6.16 MN, respectivamente, contra 0.5 MN del grupo control, Figura 15A.

La frecuencia de MN en ENC aumento ligeramente, sin mostrar significancia estadística contra el grupo control, Figura 15B.



**Figura 15.** Frecuencia de MN en eritrocitos de sangre periférica de fetos de DG18 de ratonas tratadas con 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI durante la organogénesis. A) MN presentes en 2000 EPC totales, B) MN presentes en

2000 ENC totales. Los valores se expresan como media  $\pm$  error estándar, de 24 animales por grupo.

<sup>a</sup>  $p < 0.05$ , comparado con el grupo testigo (ANOVA-Dunnet).

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Evaluación de citotoxicidad

La capacidad de una sustancia para causar citotoxicidad se mide por su efecto sobre la proliferación celular. En este trabajo, se evaluó con la viabilidad celular en leucocitos y de EPC de sangre periférica.

En diversos estudios se ha demostrado la capacidad del TI y sus compuestos de producir citotoxicidad, como la muerte celular por apoptosis o necrosis (García-Rodríguez *et al.*, 2014), cambios en la viabilidad celular y disminución de la proliferación celular por cambios en el índice mitótico (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2015, 2019).

#### 8.1.1 Hembras

El ensayo de NA-BE es rápido y fácil de realizar, el uso simultáneo de los dos colorantes permite diferenciar las células viables de las no viables. El NA es un colorante permeable a la membrana que se intercala en el ADN dando fluorescencia verde, el BE solo entra cuando la membrana de la célula está comprometida emitiendo fluorescencia color rojo.

La viabilidad en células de sangre periférica evaluada con NA-BE en las hembras preñadas no presentó cambios en ninguno de los tratamientos con CH<sub>3</sub>COOTI respecto al grupo control. Estos resultados no coinciden con los reportados por García-Rodríguez *et al.* (2014), empleando la misma técnica, encontraron en leucocitos de ratones macho tratados ip con 30 mg/kg de TI<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aumento en el número de células no viables. Las diferencias en lo reportado y los resultados en este trabajo, pueden explicarse por la dosis administrada de 30 mg/kg de TI<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> es mayor y equivale a 24.29 mg/kg de TI(I) en una sola administración y que es 5 veces mayor que las administradas en este trabajo, 4.1 mg/kg que se encuentran en la dosis de 5.28 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI y 4.78 mg/kg, presente en la dosis de 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI. Por otra parte, la administración oral de 5, 15 y 25 mg/kg/5d de CH<sub>3</sub>COOTI a ratones macho, disminuyó la viabilidad espermática (Rojas-Alonso *et al.*, 2022), en este caso las diferencias podrían deberse a las condiciones del modelo biológico empleado.

La información sobre citotoxicidad causada por TI(I) *in vivo* es escasa, sin embargo, en estudios *in vitro* realizados en linfocitos humanos tratados con 0.5, 1, 5, 10, 50 y 100 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI, con el uso de diacetato de carboxifluoresceína-BE, NA-BE y MTT observaron reducción de la viabilidad con el aumento de células apoptóticas y necróticas (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2019).

Diferentes estudios en líneas celulares tratadas con CH<sub>3</sub>COOTI, reportaron disminución en la viabilidad celular: Chia *et al.* (2005) en glioma C6 tratada 10, 30, 100, 300  $\mu$ M y de, 1, 3 y 10 mM; Rangel-López *et al.* (2022), en líneas celulares de glioblastoma C6 (rata) y U373 (humano) expuestas a 5, 10, 50, 100 o 200  $\mu$ M; Bragandi *et al.* (2003) y, en la línea celular Jurkat Clone E6-1 (linfocitos T de humano) tratada con concentraciones de 0.25–1  $\mu$ M.

Otra forma de evaluar la citotoxicidad de una sustancia es el conteo de EPC ya que, si hay alteración en el ciclo celular o en la función metabólica puede verse alterada la renovación celular. En este trabajo, la proliferación de EPC no se vio afectada en ninguno de los tratamientos con CH<sub>3</sub>COOTI. Sin embargo, García-Rodríguez *et al.* (2014), encontraron que en ratones tratados con 30 mg/kg de TI<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> disminuyó la cantidad de EPC en sangre periférica con relación a ENC, confirmando citotoxicidad del TI(I) *in vivo*. A diferencia de ellos, los resultados obtenidos en el presente trabajo no mostraron cambios, esto se puede por las dosis administradas, ya que ellos administraron una dosis aproximadamente seis veces mayor.

Por otra parte, se observó que en el grupo de hembras tratado con 5.28 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI en el DG18, disminuyó el número de EPC con respecto a las 72 h de su grupo. En el DG18 todos los grupos presentaron disminución de EPC, incluido el control, este comportamiento, puede deberse a los cambios metabólicos que se dan de manera normal durante la preñez (Parrettini *et al.*, 2020).

Los resultados obtenidos con la técnica de NA-BE y el conteo de EPC, demuestran que la administración durante la organogénesis de 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI no tiene efectos citotóxicos.

### **8.1.2 Fetos**

Las dosis empleadas de CH<sub>3</sub>COOTI en este trabajo no disminuyeron la viabilidad celular fetal. Estos resultados coinciden con los encontrados en las hembras preñadas (sus madres), en ambos casos la viabilidad fue superior al 97 %.

El conteo de EPC en ambas dosis de CH<sub>3</sub>COOTI incrementó respecto al grupo testigo, lo que significaría mayor tasa de proliferación de los eritrocitos inmaduros, lo que podría estar indicando que el metal está ejerciendo su efecto sobre el hígado, órgano eritropoyético en los fetos, modificando la tasa mitótica, pero datos de otro estudio dentro del mismo proyecto en nuestro laboratorio no muestra que el índice

mitótico se incrementa en las células hepáticas de estos fetos, por lo que podemos inferir que solo los reticulocitos están siendo afectados.

Los EPC son eritrocitos inmaduros; por lo tanto, el recuento de EPC se utiliza para evaluar la función del órgano eritropoyético en respuesta a estímulos internos o externos (Franco-Ramos *et al.*, 2020). Cuando existe daño al órgano hematopoyético, el número de EPC disminuye, pero esto puede desencadenar un aumento en la proliferación de eritrocitos para compensarla (Bessman, 1990). La eritropoyesis fetal en el DG18 se lleva a cabo en el hígado (Udroiu, 2016), órgano en el cual se ha observado que se acumula el TI (Li *et al.* 2022), esto puede estar causando daño a las células de hígado, como lo mostró Eskandari *et al.* (2015), que al incubar mitocondrias hepáticas de rata con 25–200  $\mu\text{M}$  de TI, observaron un incremento de parámetros de estrés oxidante, formación de especies reactivas de oxígeno mitocondrial, colapso del potencial de membrana mitocondrial, agotamiento de ATP, oxidación de GSH y liberación de citocromo c.

En los fetos de hembras tratadas con dos dosis de  $\text{CH}_3\text{COOTI}$ , la viabilidad celular no fue disminuida, pero la actividad del órgano eritropoyético se vio modificada incrementando el número de EPC en sangre periférica.

## **8.2 Evaluación de la genotoxicidad**

El ADN se daña tanto por procesos endógenos como exógenos. La exposición ambiental a metales proporciona una fuente de daño debido a la inducción de ERO y desequilibrio en los mecanismos de reparación (Morales *et al.*, 2016).

La genotoxicidad puede ser definida como la capacidad de un agente para dañar el material genético (ADN o ARN). Las pruebas de genotoxicidad, *in vivo* e *in vitro*, están diseñadas para detectar compuestos que inducen daño al material genético directa o indirectamente. El ensayo cometa y la prueba de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, y MN son utilizadas para detectar genotoxicidad (OCDE, 2016; Turkez *et al.*, 2017).

El TI tiene propiedades genotóxicas generando daño al ADN por ACE en linfocitos (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2017), que pueden ser originadas por eventos clastógenos causados por rupturas en los cromosomas, y pérdida cromosómica que pueden tener origen aneuploidógeno provocado por alteraciones durante el anclaje de los cromosomas. Si estas aberraciones no son reparadas, durante el proceso de división celular pueden dar lugar a la formación de MN.

### **8.2.1 Hembras preñadas**

De acuerdo con Hayashi *et al.* (2000), el efecto genotóxico ejercido por un agente químico generalmente suele observarse de las 24 a 48 h posteriores a la administración. Los resultados obtenidos concuerdan, en ambas dosis de  $\text{CH}_3\text{COOTI}$  administradas a los ratones gestantes se observó un incremento en la

frecuencia de MN en EPC con el pico a las 48 h, considerando solo la primera aplicación del tratamiento, después de la segunda aplicación (72 h) el daño se mantuvo. Lo anterior concuerda con lo reportado por García-Rodríguez *et al.* (2014), observaron el pico máximo de inducción de MN en EPC 48 h posteriores a la administración de 30 mg/kg de  $Tl_2SO_4$  a ratones macho CD-1.

Hantson *et al.*, (1997) reportaron que en linfocitos humanos de un paciente que ingirió 200 mg del  $Tl_2SO_4$ , incremento en el número de MN en células binucleadas, el promedio en controles históricos es de 10 y en este caso encontraron en promedio 35 MN, los autores concluyeron que el TI (I) es capaz de interferir con la distribución cromosómica, como sucede con otros compuestos metálicos (Migliore *et al.*, 1999). Por otra parte, en pacientes expuestos a TI en un estudio de perfusión miocárdica, se reportó efecto genotóxico por incremento en las aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos tres d después de la exposición (Yildirim *et al.* 2005).

Los efectos genotóxicos encontrados en este trabajo, tanto en la hembra como en los fetos, puede deberse a alguno de los mecanismos ya descritos para el TI, entre los que se encuentran, forma aductos con el ADN por su afinidad por las bases nitrogenadas guanina y timina (Ouameur *et al.*, 2003), llegando a producir rompimientos. También produce ERO y estas al reaccionar con las bases nitrogenadas pueden provocar problemas en la compactación y el enrollamiento del ADN dentro de los cromosomas, esto puede producir fragmentación del ADN y dar lugar a roturas de cadena sencilla y doble (Franco-Ramos *et al.*, 2020; Juan *et al.*, 2021) que pueden conducir a la formación de aberraciones cromosómicas estructurales (Varga y Aplan, 2005) y finalmente dar lugar a MN. Como lo reportó Rodríguez-Mercado *et al.* (2015) en linfocitos humanos expuestos  $CH_3COOTI$  que encontró rompimiento en la cadena del ADN.

Los MN en ENC también aumentaron en las hembras preñadas y sus fetos, sin embargo, la prueba no fue positiva ya solo administramos el tratamiento en un periodo de 12 d (6 administraciones), Mavournin *et al.* (1990) y Hayashi *et al.* (1994) establecen que la evaluación debe ser al menos con cuatro semanas de exposición al agente, además el aumento debe ser de al menos 4 veces el valor del testigo negativo y nuestros resultados fueron 3 veces mayores. No existen valores de referencia en ratones gestantes.

El  $CH_3COOTI$  produce efecto genotóxico, ya que el incremento de MN en EPC de sangre periférica en hembras tratadas durante la organogénesis y sus fetos, cumple con lo establecido por las normas, aumentó más de 3 veces el valor del testigo negativo.

### 8.2.2 Fetos

En este trabajo encontramos que la administración de CH<sub>3</sub>COOTI a ratonas preñadas produce genotoxicidad en las células sanguíneas de los fetos, esto es importante porque se sabe que la exposición a agentes ambientales durante la vida intrauterina puede tener efectos adversos en el feto y en el recién nacido (Morello-Frosch *et al.*, 2016).

El análisis de la frecuencia de MN permite detectar daños al ADN, en este trabajo se realizó en células sanguíneas y puede estar reflejando lo que está ocurriendo en otro tipo de células. Lo cual es relevante porque el daño genético causado a las células somáticas durante la gestación puede contribuir a incrementar el riesgo de efectos en el sistema inmune, alergias, asma, enfermedades cardíacas o pulmonares, así como leucemia y cáncer en años posteriores (Cole *et al.*, 1981; Neri *et al.*, 2006; Sordo *et al.*, 2019).

En estudios epidemiológicos se ha relacionado niveles altos de TI en sangre periférica de las madres, sangre de cordón umbilical y orina con bajo peso al nacer y parto prematuro (Xia *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2018), además, en niños de edad preescolar se observó efectos perjudiciales en el desarrollo cognitivo, y estos fueron mayores en niños que en las niñas (Tong *et al.*, 2022), deficiencia en el crecimiento en la primer infancia en niñas (Qi *et al.*, 2019), deterioro de funciones hepáticas, renales y miocárdicas en niños durante la primer infancia (Duan *et al.*, 2020), estos estudios son importantes pero no aseguran que los resultados encontrados sean causados solo por el TI. La relevancia de este estudio es que utilizando al ratón como modelo biológico podemos asegurar que los efectos encontrados son resultado de la administración de CH<sub>3</sub>COOTI durante la organogénesis.

En este trabajo los resultados muestran que además de los efectos ya descritos, el TI causa genotoxicidad transplacentaria que puede contribuir al deterioro de la salud durante la gestación o después del nacimiento.

## 9. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de la administración ip de 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI en el DG 6, 8, 10, 12, 14, 16 a ratones hembra CD-1 preñadas, nos permite concluir lo siguiente:

- No se encontraron cambios en la viabilidad celular en sangre periférica de hembras preñadas CD-1 tratadas con CH<sub>3</sub>COOTI, ni en sus descendientes.
- No se observaron cambios en el número de EPC en hembras CD-1 tratadas con CH<sub>3</sub>COOTI.
- Se observó incremento en el número de EPC en fetos de hembras CD-1 tratadas con el CH<sub>3</sub>COOTI.
- Se observó incremento en el número de MN en EPC en hembras CD-1 tratadas con CH<sub>3</sub>COOTI a las 24, 48, 72 h y DG18, así como en sus fetos.
- Incremento en el número de MN en ENC en hembras CD-1 tratadas con CH<sub>3</sub>COOTI a las 24, 48, 72 h y DG18.
- Incremento en el número de MN en ENC en fetos de hembras CD-1 tratadas con las dosis de CH<sub>3</sub>COOTI.

Con los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que las dosis de 5.28 y 6.16 mg/kg de CH<sub>3</sub>COOTI administradas a ratones preñadas durante la organogénesis induce MN en eritrocitos de sangre periférica, efecto que también se presenta en sus descendientes junto con aumento en el número de EPC. Por lo anterior, el CH<sub>3</sub>COOTI es genotóxico en dosis en las que no induce citotoxicidad.

## 10. REFERENCIAS

- Álvarez-Barrera, L., Rodríguez-Mercado, J. J., Mateos-Nava, R. A., Vázquez-Martínez, Y., y Altamirano-Lozano, M. A. (2019). Effect on the offspring of pregnant females CD-1 mice treated with a single thallium (I) application. *Reproductive Toxicology*, 90, 1–7.
- Aguilar-Carrillo, J., Herrera, L., Gutiérrez, E. J., y Reyes-Domínguez, I. A. (2018). Solid-phase distribution and mobility of thallium in mining-metallurgical residues: environmental hazard implications. *Environmental Pollution*, 243, 1833–1845.
- An, X., Schulz, V. P., Mohandas, N. y Gallagher, P. G. (2015). Human and murine erythropoiesis. *Current Opinion in Hematology*, 22(3), 206–211.
- Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades (ATSDR). (1992). Perfil toxicológico del talio. Atlanta, Georgia, EE. UU.: Servicio de salud pública, EE. UU. Departamento de Salud y Servicios Humanos.
- Balmus, G., Karp, N. A., Ng, B. L., Jackson, S. P., Adams, D. J. y McIntyre, R. E. (2015). A high-throughput in vivo micronucleus assay for genome instability screening in mice. *Nature Protocols*, 10(1), 205–215.
- Baron, M. H., Isern, J., y Fraser, S. T. (2012). The embryonic origins of erythropoiesis in mammals. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 119(21), 4828–4837.
- Barroso-Moguel, R., Mendez-Armenta, M., Villeda-Hernandez, J., Rios, C., y Galvan-Arzate, S. (1996). Experimental neuromyopathy induced by thallium in rats. *Journal of Applied Toxicology*, 16(5), 385–389.
- Belzile, N., y Chen, Y. W. (2017). Thallium in the environment: a critical review focused on natural waters, soils, sediments and airborne particles. *Applied Geochemistry*, 84, 218–243.
- Bessman, J. D. (1990). Reticulocytes. En *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition. Bostón, Butterworths.
- Blain, R., y Kazantzis, G. (2015). Thallium. En *Handbook on the Toxicology of Metals*. Academic Press. Londres.
- Bolon, B. (2015). The case for developmental pathology and developmental pathologist. En: Bolon, B. (Ed.). *Pathology of the Developing Mouse: A Systematic Approach* (pp. 27–38). CRC Press, Taylor y Francis Group, Boca Ratón FL.
- Briffa, J., Sinagra, E., y Blundell, R. (2020). Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 6(9), e04691.

- Buend-Valverde, M. L. L. (2013). Evaluación in vivo del efecto genotóxico inducido por exposición al acetato de talio (CH<sub>3</sub>COOTl) en ratón hembra CD-1 mediante la prueba de aberraciones cromosómicas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México.
- Caserta, D., Graziano, A., Monte, G. L., Bordi, G., y Moscarini, M. (2013). Heavy metals and placental fetal-maternal barrier: a mini-review on the major concerns. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 17(16), 2198–2206.
- Chen, X., Huang, L., Li, Q., Zhang, X., Wang, X., Sun, G., Yi, N., Xiong, G., Yang, X., Hao, L., Yang, H. y Yang, N. (2022). Effect of maternal thallium exposure in early pregnancy on the risk of preterm birth. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(33), 49966–49975.
- Chia, C. F., Chen, S. C., Chen, C. S., Shih, C. M., Lee, H. M., y Wu, C. H. (2005). Thallium acetate induces C6 glioma cell apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1042(1), 523–530.
- Consuegra-Obregón, S. A. (2022). Evaluación de la inducción de micronúcleos por talio (III) e indio (III) en ratones de la cepa CD-1. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México.
- Cole, R. J., Taylor, N., Cole, J., y Arlett, C. F. (1981). Short-term tests for transplacentally active carcinogens: I. Micronucleus formation in fetal and maternal mouse erythroblasts. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 80(1), 141–157.
- Covarrubias, S. A., y Cabriales, J. J. P. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 7–21.
- Cvjetko, P., Cvjetko, I., y Pavlica, M. (2010). Thallium toxicity in humans. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 61(1), 111–118.
- Dz, R. A., Álvarez, P., y López, J. M. (2001). Hematopoyesis. Eritropoyesis. Fisiopatología eritroide. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 8(50), 2613–2620.
- Duan, W., Wang, Y., Li, Z., Fu, G., Mao, L., Song, Y., Qu, Y., Ye, L., Zhou, Q., Yang, F., Hu, Z. y Xu, S. (2020). Thallium exposure at low concentration leads to early damage on multiple organs in children: a case study followed-up for four years. *Environmental Pollution*, 258, 113319.

- Dutta, S., Gorain, B., Choudhury, H., Roychoudhury, S., y Sengupta, P. (2021). Environmental and occupational exposure of metals and female reproductive health. *Environmental Science and Pollution Research*, 1–26.
- Dzierzak, E., y Philipsen, S. (2013). Erythropoiesis: development and differentiation. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 3(4), a011601.
- EPA, US Environmental Protection Agency. (2009). Toxicological review of thallium and compounds. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System. Whashington, D.C.
- Eskandari, M. R., Mashayekhi, V., Aslani, M., y Hosseini, M. J. (2015). Toxicity of thallium on isolated rat liver mitochondria: the role of oxidative stress and MPT pore opening. *Environmental Toxicology*, 30(2), 232–241.
- FDA. U.S. Food and Drug Administration. (2000). Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. Redbook. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/redbook-2000-ivc1d-mammalian-erythrocyte-micronucleus-test>
- Fenech, M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1–2), 81–95.
- Fenech, M. (2006). Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 600(1–2), 58–66.
- Fenech M, Kirsch-Volders M, Natarajan AT, Surralles J, Crott JW, Parry J, Norppa H, Eastmond DA, Tucker JD y Thomas P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*. 26(1), 125-132.
- Franco-Ramos, R. S., López-Romero, C. A., Torres-Ortega, H., Oseguera-Herrera, D., Lamoreaux-Aguayo, J. P., Molina-Noyola, D., Juárez-Vásquez, C. I. y Torres-Bugarín, O. (2020). Evaluation of anti-cytotoxic and anti-genotoxic effects of *Nigella sativa* through a micronucleus test in balb/c mice. *Nutrients*, 12(5), 1317.
- Formigli, L., Scelsi, R., Poggi, P., Gregotti, C., Di Nucci, A., Sabbioni, E., Gottardi, L. y Manzo, L. (1986). Thallium-induced testicular toxicity in the rat. *Environmental Research*, 40(2), 531–539.
- García-Rodríguez, M. C., Altamirano-Lozano, M. A., García-Cárdenas, G. P. y Montaña-Rodríguez, A. R. (2014). Efecto genotóxico y citotóxico de la exposición a metales pesados (cromo [VI] y talio [I]) en ratones de la cepa

- CD-1: micronúcleos, apoptosis y viabilidad celular. *Acta Universitaria*, 24(2), 91–96.
- Genchi, G., Carocci, A., Lauria, G., Sinicropi, M. S., y Catalano, A. (2021). Thallium use, toxicity, and detoxification therapy: An overview. *Applied Sciences*, 11(18), 8322.
- Grawé, J. (2005). Flow cytometric analysis of micronuclei in erythrocytes. *Molecular Toxicology Protocols*, 69–83.
- Gregotti, C., Di Nucci, A., Costa, L. G., Manzo, L., Scelsi, R., Bertè, F., y Faustman, E. M. (1992). Effects of thallium on primary cultures of testicular cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 36(1), 59–69.
- Govarts, E., Remy, S., Bruckers, L., Den Hond, E., Sioen, I., Nelen, V., Baeyens, W., Naerot, T. S., Loots, I., Van Larebeke, N. y Schoeters, G. (2016). Combined effects of prenatal exposures to environmental chemicals on birth weight. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(5), 495.
- Hantson, P., Desoir, R., Léonard, E.D., Crutzen-Fayt, M.C., Léonard, A., Mahieu, P. (1997). Cytogenetic observations following thallium poisoning. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 50(2), 97–100.
- Hayashi, M., Sofuni, T., y Ishidate Jr, M. (1983). An application of acridine orange fluorescent staining to the micronucleus test. *Mutation Research*, 120(4), 241–247.
- Hayashi, M., Tice, R. R., MacGregor, J. T., Anderson, D., Blakey, D. H., Kirsh-Volders, M., Oleson Jr., F. B., Pacchierotti, F., Romagna, F., Shimada, H., Sutou, S. y Vannier, B. (1994). In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 312(3), 293–304.
- Hayashi, M., MacGregor, J. T., Gatehouse, D. G., Adler, I. D., Blakey, D. H., Dertinger, S. D., Krishna, G., Morita, T., Russo, A. y Sutou, S. (2000). In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. II. Some aspects of protocol design including repeated treatments, integration with toxicity testing, and automated scoring. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35(3), 234–252.
- Hernández- de la Cruz, H. (2019). Evaluación del efecto genotóxico y reprotóxico del acetato de talio in vivo. Tesis de Maestría. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México.
- Huang, Y., Chen, D., Chen, S., Su, M., Chen, Y., y Yuvaraja, G. (2021). A green method for recovery of thallium and uranium from wastewater using polyethylene glycol and ammonium sulfate based on aqueous two-phase system. *Journal of Cleaner Production*, 297, 126452.

- International Programme on Chemical Safety (IPCS). (1996). Thallium. *Environmental Health Criteria*. 182 World Health Organization: Ginebra, Suiza.
- Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J. y Pérez-Lebeña, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4642.
- Jiang, Y., Xia, W., Zhang, B., Pan, X., Liu, W., Jin, S., Huo, W., Liu, H., Peng, Y., Sun, X., Zhang, H., Zhou, A., Xu, S. y Li, Y. (2018). Predictors of thallium exposure and its relation with preterm birth. *Environmental Pollution*, 233, 971–976.
- Jomova, K., Makova, M., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., Rhodes, C. y Valko, M. (2022). Essential metals in health and disease. *Chemico-Biological Interactions*, 110173.
- Keith, L., y Telliard, W. (1979). ES&T special report: priority pollutants: la perspective view. *Environmental Science & Technology*, 13(4), 416–423.
- Keller, G., Lacaud, G., y Robertson, S. (1999). Development of the hematopoietic system in the mouse. *Experimental Hematology*, 27(5), 777–787.
- Kemnic, T. R., y Coleman, M. (2018). Thallium toxicity. En Statpearls, StatPearls Publishing. Stat Pearls Publishing LLC, Treasure Island (FL) (PMID: 30020612)
- Kispert, A., y Gossler, A. (2004). Introduction to early mouse development. En: *The Laboratory Mouse* (pp. 175–191). Academic Press.
- Krishna, G., y Hayashi, M. (2000). In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1–2), 155–166.
- Lambert, L. J., Muzumdar, M. D., Rideout III, W. M., y Jacks, T. (2017). Basic Mouse Methods for Clinician Researchers: Harnessing the Mouse for Biomedical Research. En: *Basic Science Methods for Clinical Researchers* (pp. 291–312). Academic Press. Cambridge, MA.
- Lazorchak, J. M., Hill, B. T., Brown, B. B., McCormick, F., Engle, V. D., Lattier, D. L., Bagley, M. J., Griffith, M. B., Maciorowski, A. F. y Toth, G. P. (2003). Chapter 23 USEPA biomonitoring and bioindicator concepts needed to evaluate the biological integrity of aquatic systems. En *Trace Metals and other Contaminants in the Environment* 6, 831-874.

- Li, D., Yao, H., Du, L., Zeng, X. y Xiao, Q. (2022). Thallium (I and III) exposure leads to liver damage and disorders of fatty acid metabolism in mice. *Chemosphere*, 307, 135618.
- Liu, J., Luo, X., Sun, Y., Tsang, D. C., Qi, J., Zhang, W., Li, N., Yin, M., Wang, J., Lippold, H., Chen, Y. y Sheng, G. (2019). Thallium pollution in China and removal technologies for waters: A review. *Environment International*, 126, 771–790.
- Liu, J., Wei, X., Zhou, Y., Tsang, D. C., Yin, M., Lippold, H., Yuan, W., Wang, J., Feng, Y. y Chen, D. (2020). Thallium contamination, health risk assessment and source apportionment in common vegetables. *Science of the Total Environment*, 703, 135547.
- Ma, X., Pan, W., Zhu, Z., Ye, X., Li, C., Zhou, J., y Liu, J. (2022). A case-control study of thallium exposure with the risk of premature ovarian insufficiency in women. *Archives of Environmental y Occupational Health*, 77(6), 468–477.
- Maistro, E. L. (2014). The in vivo rodent micronucleus test. *Genotoxicity and DNA Repair: A Practical Approach*, 103–113.
- Mavournin, K. H., Blakey, D. H., Cimino, M. C., Salamone, M. F., y Heddle, J. A. (1990). The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the US Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 239(1), 29–80.
- McGahon, A. J., Martin, S. J., Bissonnette, R. P., Mahboubi, A., Shi, Y., Mogil, R. J., Nishioka, W. K., Green, D. R. (1995). The end of the (cell) line: methods for the study of apoptosis in vitro. *Methods in Cell Biology*, 46, 153–185.
- Migaszewski, Z. M., y Gałuszka, A. (2021). Abundance and fate of thallium and its stable isotopes in the environment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 20, 5-30.
- Migliore, M., Hoffman, D. A., Magee, J. C. y Johnston, D. (1999). Role of an A-type K<sup>+</sup> conductance in the back-propagation of action potentials in the dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Computational Neuroscience*, 7, 5–15.
- Morales, M. E., Derbes, R. S., Ade, C. M., Ortego, J. C., Stark, J., Deininger, P. L., y Roy-Engel, A. M. (2016). Heavy metal exposure influences double strand break DNA repair outcomes. *PLoS One*, 11(3), e0151367.
- Morello-Frosch, R., Cushing, L. J., Jesdale, B. M., Schwartz, J. M., Guo, W., Guo, T., Wang, M., Harwani, S., Petropoulou, S.-S., Duong, W., Park, J. S., Petreas, M., Gajek, R., Alvarán, J., She, J., Dobraca, D., Das, R. y Woodruff, T. J. (2016). Environmental chemicals in an urban population of pregnant women and their

- newborns from San Francisco. *Environmental Science y Technology*, 50(22), 12464–12472.
- Nava-Valencia, L. (2018). Evaluación del efecto genotóxico del talio (I) en células de médula ósea de ratón macho CD-1. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México.
- Neri, M., Bonassi, S., Knudsen, L. E., Sram, R. J., Holland, N., Ugolini, D., y Merlo, D. F. (2006). Children's exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage: I. Overview and critical issues. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 612(1), 1–13.
- Norma Oficial Mexicana NOM-010-STPS-2014, Agentes químicos contaminantes del ambiente laboral-Reconocimiento, evaluación y control. Diario Oficial, Secretaría de Trabajo y Previsión Social. México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México. SAGARPA.
- Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. Diario Oficial, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.
- Olsen, I., y Jonsen, J. (1982). Whole-body autoradiography of <sup>204</sup>Tl in embryos, fetuses and placentas of mice. *Toxicology*, 23(4), 353–358.
- OECD, Organisation de coopération et de développement économiques. (2016). *Test No. 487: In vitro mammalian cell micronucleus test*. Publishing.
- Osorio-Rico, L., Santamaria, A., y Galván-Arzate, S. (2017). Thallium toxicity: general issues, neurological symptoms, and neurotoxic mechanisms. En: Aschner, M., Costa, L. (eds) *Neurotoxicity of Metals. Advances in Neurobiology*, vol 18. Springer, Cham. pp, 345–353.
- Ouameur, A. A., Nafisi, S., Mohajerani, N., y Tajmir-Riahi, H. A. (2003). Thallium-DNA complexes in aqueous solution. Major or minor groove binding. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 20(4), 561–565.
- Pardo, J. Q. (2019). Z= 81, talio, Tl. Uno de los elementos más tóxicos <sup>81</sup>Tl. *Anales de Química de la RSEQ*, 115(2), 143–143.

- Parrettini, S., Caroli, A., y Torlone, E. (2020). Nutrition and metabolic adaptations in physiological and complicated pregnancy: focus on obesity and gestational diabetes. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 611929.
- Peter, A. J., y Viraraghavan, T. (2005). Thallium: a review of public health and environmental concerns. *Environment International*, 31(4), 493–501.
- Pierce, B. A. (2009). *Genética: Un enfoque conceptual* (3ª. Ed.). Madrid, España: Médica Panamericana.
- Qi, J., Lai, Y., Liang, C., Yan, S., Huang, K., Pan, W., Feng, L., Jiang, L., Zhu, P., Hao, J., Tong, S. y Tao, F. (2019). Prenatal thallium exposure and poor growth in early childhood: a prospective birth cohort study. *Environment International*, 123, 224–230.
- Rangel-López, E., Robles-Bañuelos, B., Guadiana-Ramírez, N., Alvarez-Garduño, V., Galván-Arzate, S., Zazueta, C., Karasu, C., Túnez, I., Tinkov, A., Aschner, M. y Santamaría, A. (2022). Thallium induces antiproliferative and cytotoxic activity in glioblastoma C6 and U373 cell cultures via apoptosis and changes in cell cycle. *Neurotoxicity Research*, 40(3), 814-824.
- Rodríguez-Mercado, J. J., y Altamirano-Lozano, M. A. (2013). Genetic toxicology of thallium: a review. *Drug and Chemical Toxicology*, 36(3), 369–383.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Álvarez-Barrera, L., Mateos-Nava, R. A., Rodríguez-Espitia, J. D., Altamirano-Lozano, M. A. (2019). Induction of cytotoxicity in human cells exposed to thallium(I) and thallium(III). *Current Topic in Toxicology*, 15, 17–27.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Hernández-de la Cruz, H., Felipe-Reyes, M., Jaramillo-Cruz, E., y Altamirano-Lozano, M. A. (2015). Evaluation of cytogenetic and DNA damage caused by thallium(I) acetate in human blood cells. *Environmental Toxicology*, 30(5), 572–580.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Mosqueda-Tapia, G., Altamirano-Lozano, M. A. (2017). Genotoxicity assessment of human peripheral Lymphocytes induced by thallium(I) and thallium(III). *Toxicological and Environmental Chemistry*, 99(5–6), 987–998.
- Rojas-Alonso, R., Núñez-Tapia, F. A., Rodríguez-Mercado, J. J., González-Calixto, C., Ortuño-Pineda, C. y Urióstegui-Acosta, M. (2022). Genotoxic and cytotoxic effect of exposure to thallium on mature spermatozoa of mice. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(6), 5538–5555.

- Rojas-Lemus, M., y Milán-Chávez, R. (2016). Los límites entre la histología y la bioquímica: observando al núcleo celular. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 59(1), 45–56.
- Roldán-Reyes, E. (2016). Introducción a la toxicología. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México.
- Rossi, F., Marrazzo, R., Berrino, L., De Santis, D., Lisa, M., Susanna, V., Montanaro, C., Fici, F. y Marmo, E. (1988). Prenatal and postnatal thallium exposure in rats: effect on development of vasomotor reactivity in pups. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 8(1), 13–23.
- Sankaran, V. G., y Gallagher, P. G. (2013). Applications of high-throughput DNA sequencing to benign hematology. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 122(22), 3575–3582.
- Santiago-Toledo, N. I. (2021). Efecto del acetato de talio (CH<sub>3</sub>COOTl) y el cloruro de cadmio (CdCl<sub>2</sub>) en los fetos de ratones hembra de la cepa CD-1 tratadas en el d 7 de gestación. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México
- Schmid, W. y Ledebur, V. (1973). The micronucleus test. *Methodological aspects. Mutation Research*, 19, 109–117.
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam-Printed in The Netherlands*. 31, 9–15.
- Slobodian, M. R., Petahtegoose, J. D., Wallis, A. L., Levesque, D. C., y Merritt, T. J. (2021). The effects of essential and non-essential metal toxicity in the *Drosophila melanogaster* insect model: A review. *Toxics*, 9(10), 269.
- Sordo, M., Maciel-Ruiz, J. A., Salazar, A. M., Robles-Morales, R., Veloz-Martínez, M. G., Pacheco-Limón, J. H., Nepomuceno-Hernández, A. E., Ayala-Yáñez, R., Gonsebatt, M. E. y Ostrosky-Wegman, P. (2019). Particulate matter-associated micronuclei frequencies in maternal and cord blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 60(5), 421–427.
- Suhail, M. (2010). Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase: ubiquitous multifunctional transmembrane protein and its relevance to various pathophysiological conditions. *Journal of Clinical Medicine Research*, (1), 1–17.
- Tabassum, H., Alrashed, M., Malik, A., Alanazi, S. T., Alenzi, N. D., Ali, M. N., Aljaser, F. S., Altoum, G. H., Hijazy, S. M., Alfadhli, R. A., Alrashoudi, R. y Akhtar, S. (2022). A unique investigation of thallium, tellurium, osmium, and other heavy metals in recurrent pregnancy loss: A novel approach. *International Journal of Gynecology y Obstetrics*, 160(3), 790–796.

- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., y Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, 133–164.
- Turkez, H., Arslan, M. E., y Ozdemir, O. (2017). Genotoxicity testing: progress and prospects for the next decade. *Expert Opinion on Drug Metabolism y Toxicology*, 13(10), 1089–1098.
- Tong, J., Liang, C., Wu, X., Huang, K., Zhu, B., Gao, H., Zhu, Y., Li, Z., Qi, J., Han, Y., Ding, P., Zhu, Y. y Tao, F. (2022). Prenatal serum thallium exposure and cognitive development among preschool-aged children: A prospective cohort study in China. *Environmental Pollution*, 293, 118545.
- Udroiu, I. (2016). Development of erythropoiesis in the mouse. *Russian Journal of Developmental Biology*, 47(5), 254–259.
- US EPA, Environmental Protection Agency. (2009). Toxicological review of thallium and compounds. En *Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System*. Washington, D.C.
- USGS, US Geological Survey. Thallium Statistics and Information. Available online: <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/thallium/> (accessed on 29 June 2022).
- Varga, T., y Aplan, P. D. (2005). Chromosomal aberrations induced by double strand DNA breaks. *DNA repair*, 4(9), 1038-1046.
- Vimalraj, S., Sumantran, V. N., y Chatterjee, S. (2017). MicroRNAs: impaired vasculogenesis in metal induced teratogenicity. *Reproductive Toxicology*, 70, 30–48.
- Vizcaya-Santillán, A. A. (2023). Evaluación del daño en el ADN por cloruro de talio(III) y cloruro de indio(III) en células de sangre periférica de ratón CD-1. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM México.
- Wu, M., Shu, Y., Song, L., Liu, B., Zhang, L., Wang, L., Liu, Y., Bi, J., Xiong, C., Cao, Z., Xu, S., Xia, W., Li, Y. y Wang, Y. (2019). Prenatal exposure to thallium is associated with decreased mitochondrial DNA copy number in newborns: Evidence from a birth cohort study. *Environment international*, 129, 470-477.
- Wu, M., Wang, L., Song, L., Liu, B., Liu, Y., Bi, J., Liu, Q., Chen, K., Li, Y., Xia, W., Xu, S., Cao, Z., Zhou, A., Tian, Y. y Wang, Y. (2021). The association between prenatal exposure to thallium and shortened telomere length of newborns. *Chemosphere*, 265, 129025.
- Xia, W., Du, X., Zheng, T., Zhang, B., Li, Y., Bassig, B. A., Zhou, Y. W., Xiong, C., Li, Z., Yao, Y., Hu, J., Zhou, Y., Liu, J., Xue, W., Ma, Y., Pan, X., Peng, Y. y

- Xu, S. (2016). A case–control study of prenatal thallium exposure and low birth weight in China. *Environmental health perspectives*, 124(1), 164–169.
- Xiao, T., Guha, J., Boyle, D., Liu, C. Q., y Chen, J. (2004a). Environmental concerns related to high thallium levels in soils and thallium uptake by plants in southwest Guizhou, China. *Science of the total environment*, 318(1–3), 223–244.
- Xiao, T., Guha, J., Boyle, D., Liu, C. Q., Zheng, B., Wilson, G. C., Rouleau, A. y Chen, J. (2004b). Naturally occurring thallium: a hidden geoenvironmental health hazard? *Environment International*, 30(4), 501–507.
- Xiao, T., Yang, F., Li, S., Zheng, B., y Ning, Z. (2012). Thallium pollution in China: A geo-environmental perspective. *Science of the Total Environment*, 421, 51–58.
- Yildirim, M., Ikbali, M., Tos, T., Seven, B., Pirim, I., y Varoglu, E. (2005). Genotoxicity of thallium-201 in patients with angina pectoris undergoing myocardial perfusion study. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 206(4), 299–304.
- Yumine, A., Fraser, S. T., y Sugiyama, D. (2017). Regulation of the embryonic erythropoietic niche: a future perspective. *Blood research*, 52(1), 10–17.
- Zalacain, M., Sierrasesúmaga, L. y Patiño, A. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *An. Sist. Sanit. Navar.* 28(2), 227–236.
- Ziskoven, R., Achenbach, C., Schulten, H. R., y Roll, R. (1983). Thallium determinations in fetal tissues and maternal brain and kidney. *Toxicology letters*, 19(3), 225–231.
- Zhong, Q., Qi, J., Liu, J., Wang, J., Lin, K., Zhang, X., Wei, X., Xiao, T., El-Naggar, A. y Rinklebe, J. (2022). Thallium isotopic compositions as tracers in environmental studies: A review. *Environment International*, 162, 107148.
- Zhou, H., Sun, X., Wang, Y., Ye, Y., Chen, H., Chen, Q., He, G., Wang, J., Liu, X., Dong, M., Chen, D., Chen, G., Yuan, L., Xiao, J., Hu, J., Zeng, W., Rong, Z., Zhang, Q., Zhou, M., Guo, L., Lv, Y., Fan, J., Pu, Y., Ma, W., Zhang, B. y Liu, T. (2021). The mediating role of placental weight change in the association between prenatal exposure to thallium and birth weight: a prospective birth cohort study. *Frontiers in Public Health*, 9, 679406.

## 11. ANEXO

Presentaciones en Eventos Académicos y Premios.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

# CONSTANCIA

Que otorga la  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**  
a través de la División de Estudios de Posgrado e Investigación

A **Keyla Nahomi Hernández Córdova, Rodrigo Aníbal Mateos Nava, Juan José Rodríguez Mercado y Lucila Álvarez Barrera**

Por su participación en la modalidad de **Cartel**, con el Tema: *“Evaluación de micronúcleos en fetos y ratonas tratadas con Talio (I)”*, en el marco del **18° Congreso de Investigación en la FES Zaragoza**; organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación, del 5 al 9 de septiembre del año en curso.

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Ciudad de México, 30 de noviembre del 2022

4648030756414059275450512

Dr. Vicente Jesús Hernández Abad  
Director





Sociedad Mexicana de Genética A.C.



# La Sociedad Mexicana de Genética A. C. e Instituciones Organizadoras

Otorgan la presente

## CONSTANCIA A:

**Hernández Córdova KN, Mateos Nava RA, Rodríguez Mercado JJ, Álvarez Barrera L.**

Por su participación como PONENCIA EN CARTEL "*Micronúcleos en sangre periférica de fetos y ratonas tratadas con talio (L).*" en el Congreso Nacional de Genética 2022 realizado del 25 al 28 de octubre de 2022.

M. EN C. MARÍA ISABEL BECERRA RODRÍGUEZ  
DIRECTORA DEL ITTJ.

M. EN C. IRMA ELENA DUEÑAS GARCÍA  
PRESIDENTE DE LA SMG AC 2022-2023.

DRA. GRACIELA GUDIÑO CABRERA  
RECTORA DEL CUCBA, UDEG.



## La Sociedad Mexicana de Genética A. C. e Instituciones Organizadoras

Otorgan el presente

*DIPLOMA*

**A: HERNÁNDEZ CÓRDOVA K. N., MATEOS NAVA R. A., RODRÍGUEZ MERCADO J. J., ÁLVAREZ BARRERA L.**

Por haber obtenido el TERCER LUGAR EN EL CONCURSO AL MEJOR CARTEL DR. LINO DÍAZ DE LEÓN en la modalidad (licenciatura), con el título "*Micronúcleos en sangre periférica de fetos y ratonas tratadas con Talio (I)*".

M. EN C. IRMA ELENA DUEÑAS GARCÍA  
PRESIDENTE DE LA SMG AC 2022-2023.

LUIS FELIPE SANTOS CRUZ  
SECRETARIO DE LA SMG AC 2022-2023.