

00381 2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**EFFECTOS MUTAGENICOS Y ALTERACIONES DEL CICLO  
REPRODUCTIVO DEL RATON PRODUCIDOS POR  
PENTOXIDO DE VANADIO**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS  
(BIOLOGIA)**

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

**M. EN C. MARIO AGUSTIN ALTAMIRANO LOZANO**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DR. JOSE MIGUEL BETANCOURT RULE**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

---

## INDICE

---

RESUMEN.....	I
INTRODUCCION.....	1
LOS METALES.....	2
COMUESTOS ORGANOMETALICOS.....	5
SOLUBILIDAD DE LOS METALES.....	5
METALES DE TRANSICION.....	6
EMISION E INCORPORACION DE LOS METALES AL AMBIENTE.....	7
PAPEL DE LOS METALES EN EL ORGANISMO.....	9
EXPOSICION A METALES.....	10
CINEMATICA DE DISTRIBUCION DE LOS METALES.....	12
EFFECTOS GENOTOXICOS DE LOS METALES.....	14
EFFECTOS REPROTOXICOS DE LOS METALES.....	22
EFFECTO EN MACHOS.....	24
EFFECTO EN HEMBRAS.....	26
VARADIO.....	27
JUSTIFICACION.....	36
HIPOTESIS.....	37
OBJETIVOS.....	38
PROTOCOLOS.....	41
DISCUSION Y CONCLUSIONES FINALES.....	64
REFERENCIAS.....	69
PUBLICACIONES.....	85

---

## RESUMEN

---

Se estudió los efectos mutagénicos del pentóxido de vanadio en linfocitos humanos en cultivo y en las células de la médula ósea de ratón.

Cuando los cultivos fueron tratados con 2, 4 o 6 ug de pentóxido de vanadio/ml de cultivo se encontró que este compuesto no modifica la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales ni la de intercambio de cromátidas hermanas, sin embargo este metal si eleva de manera significativa la frecuencia de células poliploides, disminuye el índice mitótico y alarga la duración promedio del ciclo celular.

Al ser aplicado por vía intraperitoneal (ip) a ratones macho el vanadio solamente disminuyó el índice mitótico de las células de la médula ósea.

Por otro lado empleando ratones hembra preñadas se estudió el efecto del pentóxido de vanadio sobre el desarrollo normal del feto. Al aplicar el compuesto por vía ip. durante la gestación se encontró que el vanadio disminuye el peso fetal y modifica la proporción de sexos dentro de las camadas tratadas. Al analizar la frecuencia de anomalías externas en el grupo tratado se incrementó el número de camadas con fetos anormales, el número de fetos con hematomas y con acortamiento de miembros.

Al estudiar las modificaciones esqueléticas se observó que el vanadio redujo de manera significativa el proceso de osificación en miembros superiores e inferiores en los fetos de las hembras tratadas.

La administración del pentóxido de vanadio por vía ip. a ratas prepúberes desde el nacimiento y hasta el

día 21 ó desde el día 21 y hasta la edad del primer estro vaginal (para las hembras) y hasta los 55 días (para los machos) mostró que el peso de las ratas tratadas desde el día 21 fué mayor que las del grupo testigo, sin que se observaran diferencias en la edad de apertura vaginal o en la edad de aparición del primer estro vaginal.

En las ratas hembra de los grupos tratados se encontró que la tasa de animales ovulantes fué menor que la presentada por el grupo testigo, sin que se observaran diferencias en el número de ovocitos liberados por animal ovulante.

En el caso de las hembras tratadas con vanadio desde el nacimiento, los pesos del timo, riñones y glándulas submandibulares fueron similares a los del grupo testigo, sin embargo en las hembras tratadas a partir del día 21 se hubo un aumento en el peso del timo, glándulas submandibulares y del hígado.

Para las ratas macho, el tratamiento con V2O5 resultó en un incremento en el peso de las vesículas seminales, del timo y de las glándulas submandibulares.

Los resultados obtenidos muestran que el pentóxido de vanadio no es un agente clastógeno, sin embargo aumenta la frecuencia de poliploidías, altera el ciclo celular, es citotóxico, fetotóxico y puede ser considerado como un agente teratógeno.

---

## INTRODUCCION

---

De todos los elementos presentes en la tierra, en la atmósfera se pueden localizar más de 2800 especies químicas diferentes (Tabla 1) , lo que origina, de alguna manera, una de las exposiciones más complejas y constantes a la que el hombre se enfrenta, ya que todos los días nos encontramos en contacto con estos elementos (Graedel et al., 1986; Houge, 1984) .

TABLA 1.- TOTAL DE ESPECIES QUIMICAS DIFERENTES PRESENTES EN LA ATMOSFERA DE LAS CIUDADES MAS CONTAMINADAS	
GRUPO QUIMICO	TOTAL DE ESPECIES
INORGANICOS	268
HIDROCARBUROS	729
ETERES	44
ALCOHOLES	233
CETONAS	227
ALDEHIDOS	188
DERIVADOS ACIDOS	219
ACIDOS CARBOXILICOS	174
COMP. HETEROCICLICOS-O	93
COMP. ORGANICOS-N	384
COMP. ORGANICOS-S	99
HALOGENADOS	216
ORGANOMETALICOS	41

GRAEDEL ET AL., 1986

Dentro de los elementos considerados como muy peligrosos por la Agencia de Protección ambiental de los Estados Unidos, por la Organización Mundial de la Salud y por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, los metales ocupan un lugar importante, ya que ha sido ampliamente demostrada su toxicidad y efectos adversos sobre los organismos (Ortiz-Monasterio et al., 1987), ya que la mayoría de ellos muestran poca adaptabilidad a elevadas concentraciones de estos elementos (Deknudt y Deminatti, 1978; Deknudt y Gerber, 1979; Duffus, 1983).

## LOS METALES \*

\*Para tener una idea mas clara de la química de los metales se pueden consultar las siguientes referencias: Bell (1977), Hughes, (1972), Morral *et al.*, (1982), Slater *et al.*, (1980), Stoker (1989), Stoker y Walker (1988), Vouk, (1986) y Zundahl (1989), ya que a continuación se dan algunas de las características mas importantes de la química general de los metales.)

De los 109 elementos químicos, 80 son clasificados como metales, con lo cual éstos vienen a formar la mayor parte de la química inorgánica (Figura 1).

Desde el punto de vista práctico, los metales son definidos con base en las propiedades físicas que presentan en estado sólido, como son la reflexión, conductividad eléctrica y térmica, sus propiedades mecánicas, magnéticas y su estructura cristalina.

La distinción entre metales y no metales depende de las propiedades químicas y físicas en conjunto, ya que algunos de estos elementos pueden presentar algunas características típicas de metales, además de poseer otras de elementos no-metálicos. Algunos de estos con ambos tipos de características son llamados metaloides, como el caso del arsénico, del germanio, el selenio, el telurio y el antimonio.

En general, las propiedades químicas de los elementos dependen de su configuración electrónica, la

FIGURA 1.- TABLA PERIODICA DE LOS ELEMENTOS

G R U P O																	
Ia	IIa	IIIB	IVb	Vb	VIb	VIIb	VIII			IB	IIb	IIIA	IVA	VA	VIa	VIIa	0
1 H																2 He	
2 3# Li	4# Be											5 B#	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
3 11# Na	12# Mg											13# Al	14# Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
4 19# K	20# Ca	21# Sc	22# Ti	23# V	24# Cr	25# Mn	26# Fe	27# Co	28# Ni	29# Cu	30# Zn	31# Ga	32# Ge	33# As	34# Se	35 Br	36 Ar
5 37# Rb	38# Sr	39# Y	40# Zr	41# Nb	42# Mo	43# Tc	44# Ru	45# Rh	46# Pd	47# Ag	48# Cd	49# In	50# Sn	51# Sb	52# Te	53 I	54 Xe
6 55# Cs	56# Ba	57# La	72# Hf	73# Ta	74# W	75# Re	76# Os	77# Ir	78# Pt	79# Au	80# Hg	81# Tl	82# Pb	83# Bi	84# Po	85 At	86 Rn
7 87# Fr	88# Ra	89# Ac															

Serie Lantanidos	58 Ce#	59 Pr#	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd#	65 Tb#	66 Dy	67 Ho#	68 Er#	69 Tm	70 Yb#	71 Lu#
Serie Actinidos	90# Th	91# Pa	91# U	93 Np	94# Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr



cual varía con el número atómico, razón por la cual muchos son capaces de formar una gran variedad de compuestos. En el caso específico de los metales, estos forman compuestos con un amplio rango de estados de oxidación, como los inorgánicos (algunas sales), los complejos metálicos o coordinados y los compuestos de tipo organometálico o combinados con otros metales. En todos los casos los átomos forman entre ellos enlaces covalentes, iónicos o intermedios entre estos dos.

Cuando se disuelven en agua, muchos metales son capaces de disociarse en iones, elementos de tipo metálico, siendo el más común el catión, aunque en ocasiones puede incluir al oxanión (p.e. el permanganato,  $MnO_4^-$ ).

Para poder definir un estado de oxidación se utiliza el número de oxidación. Los átomos no ligados o unidos tienen un estado de oxidación = 0. El número de oxidación de un ión o una molécula es la carga del átomo, si el ión poliatómico o molécula esta formada totalmente por iones, asumiendo en estos casos que los aniones tienen una estructura de gas noble (p.e. en el caso del  $MnO_4^-$ , el manganeso tiene un estado de oxidación +7 (MnVII) ó manganeso (VII), mientras que el oxígeno se encuentra como el ión  $O_2$  (estructura tipo neón).

Una de las propiedades más sobresaliente de los elementos metálicos es que son capaces de formar una amplia gama de compuestos inorgánicos, los cuales a pesar de su gran variabilidad, están clasificados en dos grandes grupos: los binarios y los multielementales. De los dos grupos antes mencionados los binarios son los que presentan interés desde el punto de vista toxicológico y tecnológico, ya que dentro de estos se encuentran los óxidos y los sulfitos, formas químicas en las cuales la mayoría de los metales aparecen en la naturaleza, ya sea en forma de minerales o como producto de los desechos industriales.

## COMPUESTOS ORGANOMETALICOS

Los compuestos organometálicos se caracterizan por tener un átomo de carbono de un grupo orgánico unido a los átomos del metal. Por su estructura y composición podemos encontrar tres tipos de compuestos organometálicos:

- 1.- Compuestos iónicos de metales electropositivos.
- 2.- Compuestos Sigma-unidos, con los residuos orgánicos unidos al átomo de carbono metálico por dos enlaces covalentes de 2 electrones.
- 3.- Compuestos ligados no clásicamente. p.e. álcalis de litio y berilio ó los metales de transición con algunos alquinos, bencenos y otros sistemas con anillo.

En este grupo de metales los de interés toxicológico son los alquil- o aril- mercuriales, los compuestos de germanio, estaño y plomo, ya que tienen un estado de oxidación +4, y aunque todos son peligrosos, sólo los de estaño y plomo tienen amplios usos industriales.

## SOLUBILIDAD DE LOS METALES

Desde el punto de vista toxicológico, la solubilidad de los metales en agua y en otros líquidos es un punto importante que tomar en cuenta, ya que éste es uno de los factores que favorecen la absorción de estos elementos por los tejidos biológicos.

La solubilidad de los metales depende de la presencia de determinados grupos químicos, particularmente los iones  $H^+$  (pH), y de si el disolvente es agua o algún otro fluido biológico.

En el caso de los mamíferos, los fluidos biológicos son generalmente alcalinos (pH 7.4), aunque en el caso de los localizados en el tracto gastrointes-

tinal pueden ser ácidos (pH 2-6) como en el estómago y de 6.8 en el intestino.

Cuando se dice que un compuesto es soluble, generalmente se refiere a que es capaz de tener una solubilidad en el agua de más de un gramo por cada 100 ml, considerándose al compuesto como insoluble cuando se disuelve en menor proporción.

La solubilidad de un metal disminuye cuando aumenta el número atómico, lo que depende en gran medida del estado de oxidación del metal y de la tasa de oxido-reducción presente en el medio. De igual manera el tamaño de la partícula es un factor importante, ya que el material pulverizado es más fácilmente soluble que el material que presenta partículas grandes.

## **METALES DE TRANSICION**

La definición más común para los elementos de transición es que son elementos con sus órbitas  $d$  o  $f$  parcialmente llenas en cualquiera de sus estados de oxidación en los cuales forman compuestos. Dentro de estos elementos de transición se incluyen 56, y todos ellos tienen algunas características comunes:

- a) Todos son metales.
- b) Con pocas excepciones muestran estados de oxidación variable.
- c) Debido a sus órbitas parcialmente llenas, forman compuestos paramagnéticos.
- d) Sus iones y compuestos presentan coloración en uno o todos los estados de oxidación.

De estas propiedades, las incluidas en el inciso b y en el c son de mucha importancia biológica, ya que su principal función es la catálisis y el transporte de electrones.

Los elementos de transición están clasificados en tres grandes grupos:

- 1) Los primarios o del grupo-d
- 2) Los lantánidos
- 3) Los actínidos

La química de estos elementos es muy compleja y su estudio y discusión casi siempre se limita al grupo principal, ya que en éste se presentan aquellos metales con funciones biológicas y características toxicológicas de interés, siendo los elementos de la primera columna los más importantes (Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, y Cu). En la segunda columna el de mayor interés toxicológico es el Mo, siguiéndole el Ru, Rh, y el Pd. En la tercera columna y con iguales características se mencionan al Os, Ir y al Pt (Figura 1).

La química de este grupo y en particular de sus cationes, se basa en su habilidad para actuar como ácidos de Lewis, formando complejos con las bases de Lewis.

Las reacciones de los metales de transición incluyen sustitución de ligandos, los procesos redox y las reacciones de ligandos coordinados.

## **EMISION E INCORPORACION DE LOS METALES AL AMBIENTE**

Se reconoce que existen dos tipos de fuentes de emisión de metales al ambiente, las fuentes naturales y las antropogénicas. De las fuentes naturales más importantes se encuentran las superficies de los cuerpos de agua, principalmente el mar, los suelos, la vegetación, la actividad volcánica y los incendios forestales (Beijer y Jernelov, 1986; Falahi-Ardakani, 1984; Urone, 1986).

A partir de la actividad del hombre, la descarga de metales se debe en gran medida a la combustión de

petróleo y sus derivados, así como al funcionamiento de las industrias, principalmente las que realizan refinación, esmaltado, galvanizado, reacciones catalíticas etc., procesos de transformación que dan como resultado que se generen desechos que son emitidos al medio por vía aérea o del agua (Urone, 1986; Beijer y Jernelov, 1986).

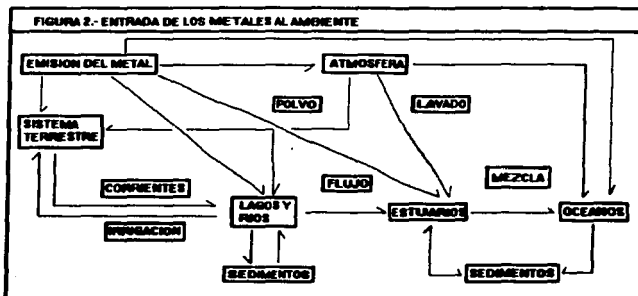
En igual grado las actividades domésticas, agrícolas y forestales son fuentes de contaminación, ya que se utilizan insecticidas y fertilizantes con altas concentraciones de metales los que son lanzados al suelo directamente (Beijer y Jernelov, 1986; Manning y Feder, 1980).

Anualmente se incrementa la extracción e industrialización de los metales, ya que éstos siguen siendo parte vital de la vida humana (Tabla 2) y del ciclo general de contaminación.

**TABLA 2.- ALGUNOS USOS DE METALES\***

Ag	FOTOGRAFIA, CONDUCTORES ELECTRICOS, SOLDADURA, CATALISIS.
Al	CONSTRUCCION, TRANSPORTE, EMPAQUE, MAQUINARIA, VIDRIO.
As	PESTICIDAS, VIDRIOS, ALEACIONES, ELECTRONICA.
Cd	PIGMENTOS, ESTABILIZADORES TERMOPLASTICOS, BATERIAS.
Co	CATALISIS, PIGMENTOS, ESMALTADO, GALVANIZADO.
Cr	METALURGIA, GALVANIZADO, PINTURAS, CONSERVADORES DE MADERA.
Cu	INDUSTRIA ELECTRICA, ALEACIONES, CATALISIS QUIMICA, ALUCIDIAS.
Fe	ALEACIONES EN LA INDUSTRIA DEL ACERO.
Hg	PRODUCCION DE CLORO-ALUMINOS, PESTICIDAS, MEDICAMENTOS.
Mn	METALURGIA, ALEACIONES DE ACERO, BATERIAS, VIDRIO, CERAMICA.
Mo	METALURGIA, ALEACIONES DE ACERO, PIGMENTOS, LUBRICANTES.
Ni	METALURGIA, CATALISIS, GALVANIZADO.
Pb	BATERIAS, GASOLINAS, PIGMENTOS, SOLDADURAS, CABLES.
Sb	PLASTICOS, CERAMICA, VIDRIO, PIGMENTOS.
Se	VIDRIO INDUSTRIAL, FOTOCELDAS, PINTURAS, GOMAS.
Sr	SOLDADURAS, FUNGICIDAS, PINTURAS, AGENTES REDUCTORES.
V	METALURGIA, CERAMICA, PIGMENTOS, CATALISIS.
Zn	ALEACIONES, GALVANIZADO, PINTURAS, BATERIAS, PEGAMENTOS.

Una vez presentes en el ambiente, la incorporación y circulación de los metales en la biósfera, litósfera, hidrósfera y atmósfera se da de una manera natural, siguiendo rutas de flujo (Figura 2). Dependiendo de las características de los metales y de las fuentes de emisión estos elementos van a ser transportados preferentemente



por vía aérea o acuática. Todos aquellos metales que son transportados por la atmósfera se denominan atmosféricos (p.e. Cu, Cd, Zn, As, Sb, Mo, Se, Hg, Pb), mientras que aquellos que se mueven a través del agua se llaman litofílicos (p.e. Al, Ti, Sm, Fe, Mn, Co, Cr, V, Ni) (Beijer y Jernelov, 1986; Graedel et al., 1986; Turner, 1986).

## PAPEL DE LOS METALES EN EL ORGANISMO

Muchos de los metales tienen funciones biológicas importantes, formando en la mayoría de los casos complejos con otras moléculas, por ejemplo, las metaloporfirinas (Clorofila y Hemo). La capacidad de la molécula de clorofila para absorber la luz se relaciona con la estructura tipo polieno del anillo de la porfirina. El

magnesio, metal asociado al átomo de nitrógeno de los 4 anillos pirrólicos da rigidez a la estructura molecular e incrementa la tasa de conversión del estado latente-excitado, lo cual resulta de la absorción de fotones en la molécula para ser posteriormente transferidos a la cadena respiratoria (REDOX) (Vouk, 1986; Lenhinger, 1982).

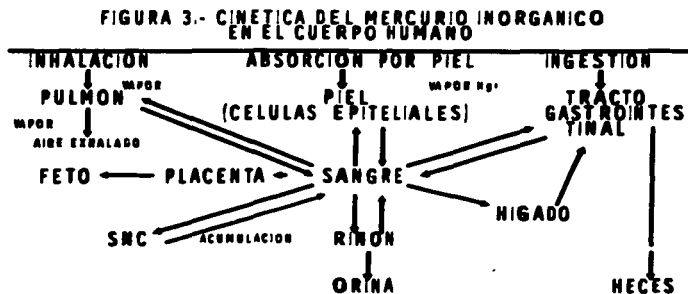
De igual manera podemos mencionar el caso de las proteínas férricas no hémicas como las ferredoxinas, a moléculas biológicas que contienen cobalto o cobalaminas, como la vitamina B12 y a muchas enzimas activadas por estos elementos (p.e.  $Mg^{2+}$ ), o a las llamadas metaloenzimas, de los que hay 50 diferentes (20 con zinc, 15 con cobre, etc..) (Vouk, 1986; Lenhinger, 1982).

Los metales, se clasifican en pesados y ligeros. Los metales pesados se definen como elementos cuya densidad es superior a  $5 \text{ g/cm}^{-3}$ , mientras que los ligeros presentan una densidad inferior a  $5 \text{ g/cm}^{-3}$  (Duffus, 1983). De estos algunos son elementos traza, o elementos que se encuentran presente en la corteza terrestre en una concentración de 100 ppm o menor. Dentro de la tabla periódica sólo hay doce de estos compuestos (Oxígeno, Silicio, Aluminio, Hierro, Calcio, Sodio, Potasio, Magnesio, Titanio, Hidrógeno, Fósforo y Manganeso) (Duffus, 1983; Lenhinger, 1982).

## **EXPOSICION A METALES**

Quando se realiza la evaluación del efecto adverso de los metales sobre el organismo, lo primero que se debe de tomar en cuenta es el mecanismo por el cual los metales y sus compuestos son incorporados al cuerpo y cual es su blanco de acción, como en el caso del mercurio (Elinder et al., 1988) (Figura 3).

Las características fisico-químicas de los metales presentes en los medios de exposición (aire, agua o alimentos) son fundamentales para poder conocer su



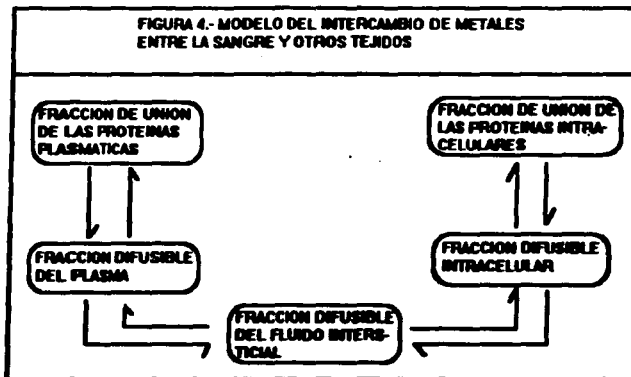
potencial de absorción y de retención dentro del organismo (Stokinger, 1981). En la mayoría de los casos la ruta de entrada más común de los metales es por inhalación, debido a que los metales en gran parte se encuentran en la atmósfera como aerosoles y en algunos casos como vapores (Clayton, 1978; Stokinger, 1981; Aito, 1988).

En la industria, la exposición a los metales en forma de vapor se limita a unos cuantos ejemplos, como en el caso del mercurio o del níquel. La parte correspondiente a los aerosoles, tanto en ambientes laborales como cotidianos es la más numerosa, ya que existen muchas fuentes naturales que junto con las actividades humanas se encargan de formar y lanzar al ambiente estos aerosoles. Las plantas industriales donde se quema carbón y se libera Pb, Cd, Zn, As, V y Ni, (Coffin y Stokinger, 1977; Gerhardtsson, 1988) y el uso de gasolinas con plomo, cuyo consumo provoca que los automotores emitan grandes cantidades de aerosoles con plomo a la atmósfera son algunos ejemplos (Goldsmith 1986; Montgomery y Reinhalt, 1980; Elinder et al., 1988).



## CINETICA DE DISTRIBUCION DE LOS METALES

Una vez dentro del organismo, ya sea que haya sido introducido por inhalación o por ingestión, el metal se deposita en las paredes de las vías aéreas o en la mucosa del tracto gastrointestinal. La cantidad de material que puede acumularse varía dependiendo de las características físicas del aerosol o de la forma química del metal presente en el agua o el alimento. Posterior a su depósito, parte es transferido del tejido en el que se encuentra al torrente sanguíneo (Camner et al., 1986; Elinder et al., 1988) (Figura 4)



En la mayoría de los casos la linfa es una de las rutas de transporte de los metales. La distribución los metales depende de varios factores: La fracción difusible en el plasma y fluidos intersticiales e intracelulares; la tasa de perfusión del órgano vascular; la tasa de biotransformación; la permeabilidad de las membranas

celulares a los metales; la habilidad y tasa de movimiento de los enlaces intracelulares para el metal en particular (Camner et al., 1986).

La unión de los iones metálicos con las proteínas del plasma y con los órganos varía para cada uno de los metales. El germanio no se une a las proteínas del plasma, el berilio puede ser transportado en forma de fosfato coloidal y adsorbido al plasma, el uranio se une en parte al bicarbonato en el plasma y parcialmente a las proteínas, finalmente metales como el cadmio y el mercurio se unen a las proteínas en un 99% de los casos. Estos y muchos ejemplos permiten comprender la importancia toxicológica de los metales (Camner et al., 1986; Elinder et al., 1988; Stokinger, 1981).

Debido a la afinidad que tienen los metales por las proteínas, estos elementos son capaces de afectar al organismo, produciendo alteraciones que van desde los niveles moleculares, celulares, hasta el nivel de los tejidos y de los órganos (Sharma y Talukder, 1987; Elinder et al., 1988)

Desafortunadamente, a pesar de que la mayoría de los compuestos químicos orgánicos pueden ser desechados de los tejidos por degradación metabólica, los metales no pueden ser destruidos dentro del organismo, por lo que tienden a acumularse en el cuerpo ocasionando en muchos casos efectos crónicos. Para los metales la única vía que tiene el cuerpo para deshacerse de estos es por excreción, y dependiendo del metal pueden variar la ruta y el tiempo de eliminación. Por ejemplo el metilmercurio presenta una vida media en el organismo humano de 70 días contra la vida media del cadmio que se estima de entre 10 y 20 años (Clarkson, 1986).

A pesar de la tendencia de los metales a acumularse, no siempre significa que se produzcan efectos tóxicos, ya que hay metales que se almacenan en forma de complejos inactivos sin causar lesiones (Clarkson, 1986).

La toxicidad de los metales puede ser modificada por varios factores independientes de los anteriores. Los factores nutricionales, fisiológicos, constitucionales como el sexo y la edad de los organismos pueden jugar un papel importante, tanto en la relación dosis-respuesta como en la dosis-efecto. Por otro lado, algunos factores ambientales como el tabaquismo y el alcoholismo, también pueden alterar la respuesta del organismo a los metales (Nordberg et al., 1986).

## **EFFECTOS GENOTOXICOS DE LOS METALES**

Dependiendo del metal, sus acciones sobre el organismo se pueden manifestar como un simple efecto local en la piel, las membranas pulmonares o el tracto gastrointestinal, o manifestarse como un efecto sistémico que puede involucrar tejidos u órganos. Más aún, los metales pueden producir respuestas alérgicas o efectos mutagénicos, teratogénicos o carcinogénicos (Goldsmith, 1986; Montgomery y Reinhalt, 1980).

Aunque en muchos casos los tres eventos (mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis) pueden tener un factor en común, la mayoría de las investigaciones se enfocan hacia la relación entre la inducción de mutaciones y la carcinogénesis.

La teoría de la mutación somática en la etiología del cáncer fue propuesta en 1928 por Bauer (Brusick 1987), sin embargo, fue hasta la década de los años 70, en que en base a evidencias experimentales obtenidas con el uso de carcinógenos animales probados en sistemas bacterianos suplementados con la fracción S9, se obtuvo una idea de que la mayoría de estos compuestos también eran mutágenos (Ames et al., 1973). La correlación entre estos dos fenómenos parece ser un indicio entre la relación funcional y la probabilidad de que un evento genotóxico sea esencial para dar origen a una respuesta oncogénica (Brusick, 1978; Hart et al., 1977).

El daño producido al ADN por los agentes químicos se clasifica en dos categorías: alteraciones macroscópicas detectables por el análisis citogenético de los cromosomas (aberraciones cromosómicas), y cambios o alteraciones no visibles, los cuales ocurren a nivel de los nucleótidos (mutaciones). Malling y Wassom (1977) clasificaron a las sustancias químicas dependiendo de su acción en el ADN en seis grandes categorías (Tabla 3).

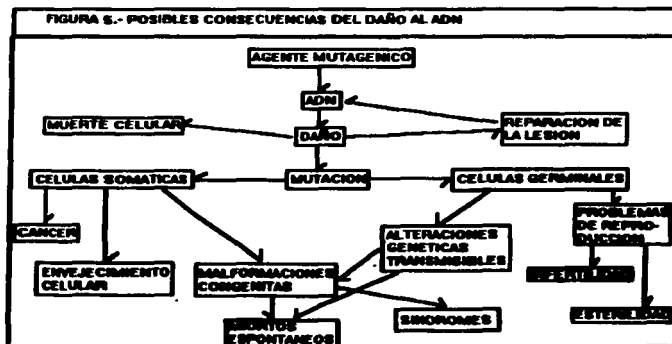
TABLA 3.- MECANISMOS DE ACCION DE LOS AGENTES MUTAGENICOS		
ACCION QUIMICA	MECANISMO DE ACCION	RESULTADO
ALQUILACION	ADICION DE GRUPOS ALQUILO A LOS NUCLEOTIDOS	SUBST. DE BASES ENLACES CRUZADOS DELECCIONES INTRAGENICAS.
ARILACION	ENLACES COVALENTES DE UN GRUPO ARILO	CORRIMIENTO DEL MENSAJE
INTERCALACION	UNION E INSERCIÓN DEL COMPUESTO DENTRO DEL ADN	CORRIMIENTO DEL MENSAJE
INCORPORACION DE ANALOGOS DE BASE	ERRORES DE APAREAMIENTO DE BASES DURANTE LA REPLICACION	SUBSTITUCION DE BASES.
VENENOS MITOTICOS	ALTERACION EN LA FORMACION DEL HUSO MITOTICO	ANEUPLOIDIAS Y EUPLOIDIAS.
DEAMINACIONES	REMOCION DE UN AMINO	SUSTIT. DE BASES.

Una vez que el ADN recibe un daño éste puede seguir tres vías posibles (Figura 5):

- 1) que los mecanismos inherentes de la célula reparen el daño
- 2) que el daño produzca muerte celular (citotoxicidad) o
- 3) que el daño se fije (mutación) y pueda ser transmitido de célula a célula o de organismo a organismo.

Si la mutación ocurre en las células que no pertenecen al sistema reproductivo (células somáticas), el resul-

tado de la alteración puede manifestarse solamente en el individuo expuesto como envejecimiento celular, cáncer o como malformaciones congénitas, las cuales pueden ser o no compatibles con la vida, caso en el cual ocurren abortos espontáneos. Si la alteración se origina en los gametos (óvulos o espermatozoides) o en las gónadas que originan a los gametos, el daño tiene la posibilidad de manifestarse en las siguientes generaciones en forma de: enfermedades genéticas transmisibles (mutaciones génicas), alteraciones cromosómicas no transmisibles (mutaciones letales dominantes), abortos espontáneos, malformaciones congénitas, infertilidades y esterilidades (Brusick, 1987).



Diversos estudios han mostrado que en el hombre una de las causas más importantes de la morbilidad y mortalidad están relacionadas con alteraciones en los cromosomas, las cuales son responsables en ocasiones de

gran parte de la muerte fetal temprana, de la muerte de los recién nacidos, de algunos casos de retraso mental, de malformaciones del neonato y cardiopatías congénitas y otras enfermedades (Hook, 1983; Brent, 1987) (Tabla 4).

TABLA 4.- CONTRIBUCION RELATIVA DE VARIAS CAUSAS EN LA FRECUENCIA DE MALFORMACIONES PRESENTES EN EL HUMANO.	
ETIOLOGIA	MALFORMADOS VIVOS (%)
GENETICAS	20-25
CITOGENETICAS	
HERENCIA MENDELIANA	
MUTACIONES ESPONTANEAS	
DESCONOCIDAS	65-70
POLIGENICAS	
MULTIFACTORIALES	
SINERGISMO	
ERRORES ESPONTANEOS DEL DESARROLLO	
AMBIENTALES	10
INFECCIONES Y ENFERMEDADES MATERNAS	
DROGAS, QUIMICOS, IRRADIACION ETC.	1

En el humano la incidencia de alteraciones genéticas es muy variable. Sin embargo se podría decir que el 0.5% de todos los nacimientos presentan alguna alteración cromosómica, el 1.6% muestran defectos poligénicos y el 1.5% muestran efectos de un gen simple, lo cual da como resultado que aproximadamente un 3.6% de todos los nacidos vivos tienen alguna alteración de tipo genético. Sin embargo, existe un cierto porcentaje de defectos de tipo poligénico que no pueden ser detectados y pasan desapercibidos hasta mucho tiempo después. Algunos que son reconocidos como ambientales también pueden tener un factor genético no detectado (Hook, 1985; Brent, 1987).

La eficacia de un agente químico como mutágeno depende de varios factores, como su estabilidad en condiciones naturales dentro de los organismos y en

solución, el pH óptimo de acción, su transformación metabólica y su posible interacción con otros compuestos, en la formación de complejos no covalentes asociados directamente a los ácidos nucleicos, inducidos por algunos metales y agentes intercalantes como el naranja de acridina (Perry y Evans, 1975; Sorsa et al., 1982; Kazantzis y Lilly, 1986).

En un análisis realizado por Sharma y Talukder (1987), así como las revisiones hechas por el IARC (1987), por Carson et al. (1987), por Kazantzis y Lilly (1986), por Graedel et al. (1986) y por Hansen y Stern (1983) los metales, según sus características dentro de la tabla periódica y sus propiedades químicas, muestran las siguientes actividades mutagénicas:

#### **Grupo I A:**

Este grupo incluye al litio (Li), sodio (Na), potasio (K), rubidio (Rb), y cesio (Cs), elementos que son capaces de formar sales solubles en el agua de manera estable. Existen como iones en fluidos biológicos y rara vez son capaces de formar enlaces con macromoléculas. En el organismo son rápidamente absorbidos en la sangre y distribuidos ampliamente en todo el cuerpo ya que son capaces de atravesar fácilmente las membranas. Algunos de estos metales como el sodio y el potasio han demostrado que al ser probados, en altas concentraciones en modelos animales y en condiciones experimentales son clastogénicos, e inducen ICH's, efecto que parece estar relacionado con el potencial osmótico de estos elementos. En el caso del rubidio y del litio no se tienen datos suficientes, aunque se reporta que estos dos metales inhiben la formación del huso mitótico.

#### **Grupo I B:**

Este grupo lo conforman tres metales: cobre (Cu); plata (Ag) y el oro (Au), los cuales muestran un comportamiento metabólico muy diferente a los metales del grupo I.

Del cobre es del único que se cuenta con información suficiente sobre su efecto mutagénico. Se une con el

fosfato de los nucleótidos y de los ácidos nucleicos, lo cual produce una infidelidad en la síntesis del ADN. Por su lado el sulfato de cobre induce desintegración de la cromatina y disminuye el índice mitótico. El único efecto conocido del oro es la inhibición en la formación del huso mitótico en plantas.

#### **Grupo II A:**

Este grupo esta conformado por el berilio (Be), magnesio (Mg), calcio (Ca) estroncio (St), bario (Ba) y el radio (Ra). De estos metales a pesar de que el magnesio y el calcio son esenciales, todos ellos presentan actividad genotóxica. El bario y el berilio al ser probados en sistemas vegetales impiden la formación del huso mitótico.

#### **Grupo II B:**

Por sus características este grupo de metales ha sido ampliamente estudiado desde el punto de vista genotóxico. El zinc (Zn), cadmio (Cd) y mercurio (Hg) presentan formas solubles, formas catiónicas y forman compuestos coordinados y quelación en fluidos biológicos con los enlaces tiol y con las albúminas. Su toxicidad se incrementa con su electropositividad. Desde el punto de vista genotóxico son capaces de provocar múltiples daños a los cromosomas.

#### **Grupo IIIA:**

Aquí se incluyen metales como el boro (B), aluminio (Al), galio (Ga), indio (In) y el talio (Th). La característica general de estos metales es que son capaces de formar complejos coordinados y compuestos de sales, aunque estos últimos tienden a hidrolizarse en soluciones acuosas o en los fluidos biológicos, lo cual evita que sean absorbidos completamente por las membranas biológicas. El aluminio y el talio son los únicos que muestran actividad citotóxica y mutagénica. El cloruro de aluminio es un potente inductor de aberraciones cromosómicas en sistemas vegetales y animales, aunque los resultados son negativos en pruebas bacterianas.



**Grupo IIIB:**

Los metales llamados lantánidos y actínidos se encuentran incluidos dentro del grupo IIIB, encontrándose al escandio (Sc), itrium (Y), lantano (La) y el cerio (Ce). Los dos primeros metales debido a su poca absorción son considerados como no genotóxicos, mientras que los dos últimos son considerados como citotóxicos.

**Grupo IV A:**

El germanio (Ge), estaño (Sn) y el plomo (Pb) pertenecen a este grupo de metales, siendo el plomo el más estudiado. Las sales de estaño y de plomo son altamente tóxicas, mientras que los compuestos organometálicos son mas tóxicos que las sales inorgánicas, debido a su solubilidad en lípidos, así como por su alta estabilidad en fluidos biológicos y su gran penetración a los tejidos.

**Grupo IV B:**

En este grupo se encuentran el titanio (Ti), circonio (Zr) y el Hafnio (Hf), sin que se tengan reportes de estudios de estos metales.

**Grupo V A:**

El antimonio (Sb), bismuto (Bi) y arsénico (As) son los metales que conforman a este grupo. De los tres el único que cuenta con datos suficientes para considerarlo mutagénico y carcinogénico es el arsénico. En personas envenenadas con arsénico se describe la presencia de fragmentos acéntricos, puentes cromosómicos, cromosomas dicéntricos, gaps y otras aberraciones de tipo cromosómico, aunque no se tiene información de una relación entre el nivel de exposición y la frecuencia de estas aberraciones. Estudios en animales muestran que este metal induce mutaciones letales dominantes, mientras que en bacterias se observan alteraciones de la reparación normal del ADN.

**Grupo V B:**

De los tres elementos que conforman el grupo VB (vanadio, tantalio y nobio) el vanadio es el que se ha estudiado más desde el punto de vista toxicológico, ya

que sus compuestos forman sales activas que son solubles en agua. Aunque existen algunas evidencias de su actividad citotóxica los datos son muy escasos y contradictorios. El tantalio (Ta) y el niobio (Nb) no han sido estudiados aún.

#### **Grupo VI A:**

En el grupo VIA se incluyen al selenio (Se), telurio (Te) y polonio (Po), siendo los dos últimos estables sólo en sus formas aniónicas. El selenio, a pesar de ser esencial en los animales, es el más tóxico de los metales de este grupo, aun a bajas dosis, siendo un antagonista con otros metales. Su toxicidad varía dependiendo de su forma química y de las especies en las que se pruebe. En el caso del telurio, a pesar de su baja actividad, es mutagénico en sistemas bacterianos.

#### **Grupo VI B:**

En este grupo se incluyen el cromo (Cr), molibdeno (Mo) y el tungsteno (W). El cromo se encuentra generalmente en formas catiónicas o aniónicas estables, las cuales tienen fácil penetración en los tejidos biológicos, mientras que el molibdeno y el tungsteno presentan sales poco estables. De los tres el cromo y el molibdeno son considerados como citotóxicos y clastogénicos. En el caso del cromo las sales hexavalentes inducen mutaciones puntuales en sistemas bacterianos. En células de mamífero se encontró que la transformación del cromo de trivalente a hexavalente le confiere actividad mutagénica. En linfocitos humanos el cromo y sus compuestos inducen aberraciones cromosómicas e incrementa la frecuencia de intercambios entre cromátidas hermanas. Existen pocos estudios del posible efecto del tungsteno, sin embargo se menciona que es un posible mutágeno en sistemas bacterianos.

#### **Grupo VII B:**

El manganeso (Mn) es un micronutriente esencial en los mamíferos, ya que participa en los sistemas metalenzimáticos. Este metal es capaz de sustituir al Mg, incrementando la incorporación no complementaria de desoxirribonucleótidos. El tecnecio (Tc) y el renio (Re)

no muestran actividad a este nivel. Los estudios de mutagénesis indican que el manganeso induce mutaciones tipo petit en levadura. En sistemas *in vitro*, el cloruro de manganeso origina aberraciones cromosómicas, aunque en sistemas *in vivo* da resultados negativos.

#### **Grupo VIII B:**

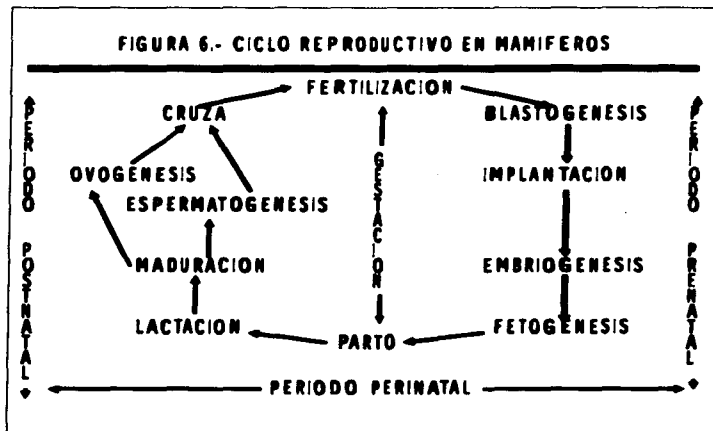
En este grupo se incluyen nueve elementos: el fierro (Fe), cobalto (Co), níquel (Ni), rutenio (Ru), rodio (Rh), paladio (Pd), osmio (Os), iridio (Ir) y el platino (Pt) forman tres grupos de tres metales con características semejantes. La estructura atómica de estos metales parece ser importante en su actividad biológica. De todos el paladio y el osmio no forman compuestos estables. A nivel mutagénico el fierro, cobalto, níquel y el platino son los únicos que muestran actividad comprobada.

Independientemente de lo anterior lo que si parece ser una regla general en la mayoría de los metales es que su toxicidad se incrementa cuando se forman compuestos covalentes y compuestos covalentes coordinados, razón por la cual los metales pesados pueden formar complejos estables con macromoléculas biológicas a las cuales les cambian su conformación y su función (Sharma y Talukder, 1987).

## **EFFECTOS REPROTOXICOS DE LOS METALES**

Dentro de los factores que juegan un papel preponderante en la etiología de las alteraciones reproductivas, incluyendo las malformaciones congénitas, los agentes de tipo químico ocupan un lugar importante, ya que se encuentran presentes en casi todos los medios en los cuales se desenvuelven las mujeres fértiles y las embarazadas, las cuales viven en contacto estrecho con estos agentes (Houge, 1984), sobre todo si tomamos en cuenta que el desarrollo de los organismos se debe a una serie de eventos biológicos que pueden ser blanco de estas sustancias (Figura 6), pudiendose involucrar muchos de los puntos de acción como la interacción con el ADN

y el ARN, con las membranas, enzimas, receptores, etc (WHO, 1984; ECETOC, 1983; Palmer, 1980).



En la mayoría de los casos las reacciones del organismo a la primera exposición no desaparecen antes de que ocurra la segunda. En primera instancia el proceso normal de detoxificación de los organismos los protege, sin embargo en estos casos la relación de las concentraciones de contaminantes en el ambiente y de la exposición es tan alta que estos mecanismos son rebasados, lo que puede originar acumulación de estos elementos en los tejidos de los individuos expuestos, en particular a nivel de las gonadas lo cual se traduce en las ya mencionadas alteraciones reproductivas, teratogénicas o ambas (Moutschen, 1985; ECETOC, 1983).

Los estudios realizados han mostrado que la acción de los agentes químicos sobre las células germinales pueden originar una disminución en la fertilidad, ya sea por una reducción en el número de espermatozoides, por cambios en la morfología, motilidad y maduración de los

mismos o por fallas en la ovulación o bien que se produzca esterilidad a consecuencia de alteraciones morfológicas, bioquímicas o fisiológicas en los tejidos germinales impidiendo que éstos funcionen (Francis, 1989; ECETOC, 1983; Manson, 1987).

Aunado a lo anterior, la inducción de mutaciones en esta etapa pueden originar que el organismo sea estéril o que el embrión que porta la mutación muera antes de empezar el periodo fetal o que el individuo nazca y manifieste alguna malformación congénita (WHO, 1984; Persaud, 1979; Brusick, 1987).

Por su etiología las malformaciones congénitas han sido ubicadas en 3 grupos:

1) Aquéllas que tienen un origen puramente genético y dentro de las cuales se incluyen las de transmisión hereditaria de tipo monogénico y todas las que son debidas a alguna alteración cromosómica,

2) Las malformaciones producidas por factores ambientales, y

3) Todas aquellas alteraciones que resultan de la interacción de múltiples factores (por ejemplo: predisposición genética y factores ambientales)

(Guzmán-Toledano, 1986; Mutchinick et al., 1988).

Si bien el estudio de las malformaciones muestra que la mayoría de ellas son de origen genético se debe de tomar en cuenta que los factores ambientales son la causa de estas alteraciones genéticas. Por ello los metales han sido estudiados ampliamente para conocer su potencial toxicológico y mutagénico. No obstante los efectos de estos elementos sobre la reproducción y el desarrollo de los organismos no se conocen lo suficiente.

## **EFFECTO EN MACHOS**

Algunos efectos de los metales sobre el sistema reproductivo de los machos se conoce desde mediados del

siglo XIX, cuando se asoció al plomo con problemas de esterilidad (Sager et al., 1986).

Algunos metales y sus iones como el cadmio, plata, cobre, estaño, níquel, plomo, cobalto, cromo, manganeso y boro, al ser aplicados a roedores, alteran la espermatogénesis, de los cuales el cadmio es el más efectivo. Una única dosis de cloruro de cadmio es suficiente para causar una necrosis total e irreversible del tejido testicular. Las células de Leydig se lesionan y se observa una disminución en las concentraciones plasmáticas de testosterona, cambios en las concentraciones de gonadotropinas y disminución del peso de las glándulas sexuales accesorias (Sager et al., 1986; Zandeveld y Waller, 1989).

Históricamente al plomo se le asocia con una disminución de la fertilidad en los hombres, así como con un incremento en la frecuencia de abortos espontáneos, nacimientos de niños muertos y muertes neonatales en mujeres expuestas a este metal (Rom, 1976; Saric et al., 1987; Sager et al., 1986). El plomo es un metal capaz de modificar las concentraciones plasmáticas de testosterona y de LH, además de provocar oligospermia, teratospérmia y astenospermia en trabajadores expuestos a este elemento (Wilson, 1979b; Sager et al., 1986). En algunos casos el plomo se acumula en las células endoteliales del testículo, produce hiperplasia prostática, altera la motilidad espermática y disminuye el peso testicular (Thomas y Brogan, 1973; Stowe y Goyer, 1971; Saric, 1984).

En el caso de metales como el mercurio, sólo se tienen reportes de estudios hechos en animales, donde se encontró que su principal mecanismo de acción es sobre las células de la línea germinal, las cuales parecen ser los tipos celulares más sensibles a este metal (Wilson, 1979a; Sager et al., 1986; Carson et al., 1987).

El arsénico es uno de los metales cuyos efectos toxicológicos y mutagénicos están bien documentados, sin embargo no se conocen los efectos de este metal sobre la

reproducción del macho (Sager et al., 1986; Carson et al., 1987).

El níquel, aunque no está bien estudiado, al ser aplicado a ratas produce degeneración de los espermatozoides y conduce a la infertilidad. En estudios multigeneracionales cuando sulfato de níquel es administrado por vía oral se observa reducción en la talla de las crías (Sager et al., 1986).

### **EFFECTO EN HEMBRAS**

Los efectos de los metales sobre la función reproductiva de las hembras involucran una amplia gama de tejidos, teniendo al eje hipotálamo-hipófisis-ovario como uno de los blancos preferidos, aunque los ovocitos también pueden ser susceptibles de ser dañados.

El efecto de los metales sobre la reproducción femenina es difícil de interpretar, ya que en el caso de la infertilidad o la inducción de abortos espontáneos éstos pueden resultar de alteraciones genéticas en los gametos, errores en el proceso de implantación, desbalances hormonales, o toxicidad directa del metal sobre el embrión. Por tales motivos y en relación con otros parámetros, a este nivel se tiene poca información para establecer una correlación directa entre la exposición a estos elementos y las fallas en la reproducción (Mattison, 1983; Sager et al., 1986).

De los metales que presentan algún efecto sobre la reproducción de las hembras, el plomo es de los más conocidos. Desde tiempo atrás se consideró la exposición al plomo como una causa de abortos espontáneos y de nacimientos de niños muertos (Rom, 1976; Sager et al., 1986; Saric, 1984; Saric et al., 1987). Algunos datos experimentales muestran que el plomo altera la maduración de los órganos sexuales, interfiere con la implantación del cigoto y produce la muerte temprana

del embrión (Mattison, 1983; Wilson, 1977a; Sager et al., 1986; Tsuchiya et al., 1987; Zajac y Abel, 1990).

En el caso del mercurio, no existen evidencias sólidas de efectos en los humanos, sin embargo en animales de laboratorio se describen un sinúmero de efectos, incluyendo alteraciones del ciclo estral y disfunciones en la ovulación. Se sabe que varios compuestos mercuriales alteran el proceso meiótico en ovocitos de ratón (Sager et al., 1986; Giavini et al., 1985; Fujita et al., 1978).

El aluminio, litio, telurio, cadmio, arsénico, cromo, níquel, zinc, cobalto, cobre, iterbio y cerio también muestran estos efectos (Sager et al., 1986; Carson et al., 1987; Pérez-D'Gregorio y Miller, 1988; Beaudoin, 1974; Jurand, 1988; Degraeve, 1981; Muller et al., 1990; Yu y Chan, 1988).

## VANADIO

El vanadio y sus compuestos han despertado interés debido a que en los últimos años han incrementado gradualmente su acumulación tanto en el ambiente como en los organismos, lo cual aumenta su ya elevado potencial toxicológico (Phillips et al., 1983; Waters, 1977).

El vanadio (V) es un metal grisáceo que se presenta en la naturaleza en dos isótopos naturales  $^{50}\text{V}$  y el  $^{51}\text{V}$ . El metal forma estados de oxidación de -1, 0, +2, +3, +4 y +5, de estos, los +3, +4 y +5 los más comunes, además de que el +4 es el de mayor estabilidad.

El vanadio se encuentra en varios estados de oxidación en la naturaleza, siendo muchos de sus compuestos ampliamente usados dióxido (IV) de vanadio; trióxido (III) de vanadio; pentóxido (V) de vanadio; metavanadato de sodio (V); tetracoloruro (IV) de vanadio y sulfito (II) de vanadio (WHO, 1988; Stokinger, 1981).



El vanadio en su forma metálica no se encuentra de manera natural en la tierra, sin embargo se conocen cerca de 70 minerales de vanadio, de los cuales 40 son vanadatos. De los elementos más importantes tenemos a la vanadinita (con un 19% de pentóxido de vanadio), la desclozita (220 g/kg), cuprodescloizita (170-220 g/kg) carnotita (200 g/kg), la titanoferrromagnetita (88 g de pentóxido de vanadio por kg) y la magnesioferrita (160 g/kg) etc. (Stokinger, 1981; WHO, 1988).

La producción del vanadio está ligada a la extracción de otros metales como el hierro, uranio, titanio y el aluminio. Por otro lado la extracción del vanadio se realiza de manera importante a partir de combustibles fósiles, incluyendo los aceites y carbones ricos en vanadio, grasa de alquitrán y los asfaltos (Stokinger, 1981; Baroch, 1983; WHO, 1988). En los primeros 5 años de la década de los 80 la producción de vanadio (en forma de pentóxido de vanadio) se calculó entre 34,000 y 45,000 toneladas (WHO, 1988)

Del total del vanadio extraído, entre el 75 y el 85% es utilizado en la industria metalúrgica, como aleación para el acero; el resto es empleado en la industria de la energía atómica, la construcción aeronáutica y aeroespacial y además es usado en la industria química como catalizador en la producción de ácido sulfúrico y de los plásticos. El vanadio en menor cantidad es empleado en otras industrias (Stokinger, 1981; WHO, 1988; Baroch, 1983; Rosenbaum, 1983).

La contaminación del ambiente por vanadio tiene sus principales fuentes en las plantas que emplean carbón y combustible de tipo fósil, cuya combustión provoca una gran descarga de este elemento a la atmósfera. La quema de desechos de carbón, así como las descargas de polvos de carbón son otras fuentes importantes de emisión de vanadio al ambiente. En el proceso de destilación y purificación del petróleo crudo mucho vanadio permanece en los residuos, por lo que el uso del petróleo destilado contamina menos (WHO, 1988; Stokinger, 1981).

Su presencia en el ambiente se debe a que se obtiene como un co-producto o como un producto de desecho en la extracción del uranio, fosfato, bauxita, titanio o alguno de los 70 minerales más conocidos que contienen vanadio en alguna de sus formas. De éstas la más común y comercial es la pentavalente en forma de pentóxido de vanadio (Baroch, 1983; Phillips et al., 1983; Rosenbaum, 1983).

Las fuentes naturales de vanadio en el aire son las partículas de polvo de los continentes y los aerosoles marinos que aportan bajas concentraciones de este metal (desde 0.001 a 0.002 ng/m<sup>3</sup> en el polo norte) (Zoller et al., 1974) hasta 1000 ng/m<sup>3</sup> encontrada en grandes ciudades (WHO, 1988). Esta última cifra indica claramente que la elevada concentración de vanadio se debe a fuentes diferentes a las anteriores.

Aunque no existen datos de alteraciones producidas por deficiencias de este metal en el hombre, el vanadio es esencial en la nutrición de algunos organismos como los pollos y las ratas (Simeon et al., 1982), y su carencia en la dieta produce alteraciones metabólicas importantes (Sabbioni et al., 1983).

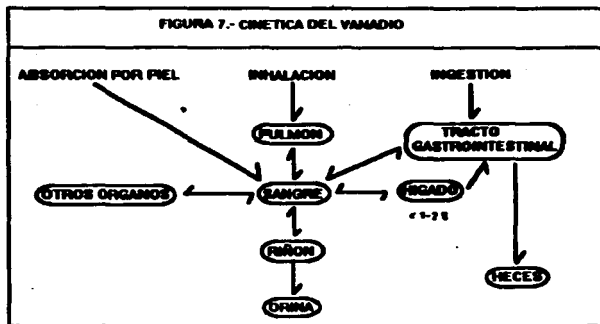
Se estima que para el hombre la fuente más importante de vanadio es el alimento, calculándose que la ingesta diaria de vanadio es aproximadamente de 10 a 60 g/día (Byrne y Kosta, 1978). Estos cálculos se lograron debido a que muchos de los alimentos presentan concentraciones detectables de vanadio. Los análisis realizados en tres estudios diferentes mostraron que los granos y cereales contienen entre 1 (arroz) y 93 (cereales) g de vanadio/kg. Las frutas mostraron rangos de 0.2 a 3 g/kg, los verduras de 0.03 g/kg (en el tomate) hasta 1800 g/kg (en el perejil seco) y 2000 g/kg (en los hongos secos). En el caso de las carnes y mariscos los rangos oscilaron de 0.5 g/kg (en la carne de cerdo) hasta 43 g/kg en la langosta. Algunos otros productos de consumo humano común también presentan altas concentraciones de vanadio: los

cacahuates (44 g/kg), la leche concentrada (25 g/kg) y la cerveza (11 g/kg) (WHO, 1988; Byrne y Kosta, 1978).

En personas expuestas al vanadio por razones ocupacionales, se encontró que éste se acumula en el pulmón, los intestinos y la piel (NAS, 1974; Stokinger, 1981), lo que se acompaña de aumento en la frecuencia de irritación bronquial, tos crónica, rinitis, faringitis, traqueobronquitis y anemias. Sus principales órganos blancos son el hígado y el riñón (Carson et al., 1987; Rosenbaum, 1983).

La toxicidad de este metal depende en gran medida de su estado químico, y sus acciones tóxicas aumentan con la valencia; su principal mecanismo de acción es el bloqueo de numerosos procesos metabólicos celulares por inhibición de enzimas como las ATPasas, fosfatasa, quinasa y otras enzimas (Jones y Basinger, 1983; Sabbioni et al., 1983; WHO, 1988).

El metabolismo del vanadio no está bien estudiado, sin embargo se sabe que tiempo después de la absorción se puede encontrar una distribución uniforme del metal en la mayoría de los tejidos blandos (Figura 7), sin



embargo, los sitios de mayor permanencia de vanadio en el cuerpo son los músculos y los huesos. El vanadio absorbido es transportado en el suero unido a la transferrina (Camner et al., 1986; Byrne y Kosta, 1978; Canalis, 1979).

Hopkins y Mohr (1974) describieron que en el caso de los pollos una baja en la ingestión de vanadio producía alteraciones del crecimiento, mientras que en ratas alimentadas con bajas concentraciones de vanadio (10 g/kg) por cuatro generaciones estas mostraron una disminución de la fertilidad (Schwarz y Milne, 1971; Strasia, 1971). Nielsen y Ollerich (1973) encontraron que la administración a pollos de una dieta conteniendo de 30 a 35 g de vanadio/kg retrasaba el crecimiento, además de incrementar el hematocrito, las concentraciones de colesterol en el plasma y bloquear el desarrollo normal del hueso.

Los resultados obtenidos *in vitro* sugieren que el vanadio tiene un papel importante en la regulación de la bomba de sodio y potasio (Macara, 1980). Otros estudios han mostrado que el vanadio inhibe la ATPasa para sodio y potasio en diversos tejidos y organismos (WHO, 1988).

Phillips y Col. (1983) describieron que en el riñón se encuentran altas concentraciones de este elemento, el cual parece ser su principal órgano blanco. Como micronutriente interviene en la regulación de la excreción del agua y sales, interactúa y modifica la bomba de sodio en el riñón, en forma de vanadato incrementa la eliminación de solutos y agua por vía urinaria, inhibe la posible acumulación de iones orgánicos en el riñón así como de sodio, potasio y la ATPasa renal (English et al., 1983).

En el caso del  $V^{5+}$ , además de inhibir a la ATPasa para sodio y potasio altera o bloquea el funcionamiento de enzimas como las ATP-fosfohidrolasas, ribonucleasas, adenilato quinasas, fosfofructoquinasas, escualeno sintetasa, gliceraldehido-3- fosfato deshidrogenasa, glu-

cosa-6- fosfatasa, etc., aunque existen muchas enzimas más que son afectadas por el vanadio (WHO, 1988).

Una problemática grave del vanadio es su acumulación en los tejidos animales (incluyendo al hombre). En la tabla 5 se presentan los resultados obtenidos de varios estudios en los cuales a partir de biopsias de tejidos humanos se determinó la concentración promedio de vanadio presente, observando que el hígado y el pulmón son los órganos blandos que más acumulan este metal, aunque también se sabe que el tejido óseo es uno de los sitios de depósito de este metal (WHO, 1988).

TABLA 5.- NIVELES DE VANADIO EN ORGANOS HUMANOS (ug/Kg)				
	1	2	3	4
RIÑÓN	3.3	3.2	2.6	7.0
HIGADO	7.5	4.5	---	19.0
CEREBRO	0.7	0.75	---	---
TIROIDES	3.2	3.0	---	---
MUSCULO	0.45	0.62	---	---
PULMON	19-40	----	---	13.0

1 Y 2 BYRNE Y KOSTA (1978)

3 Y 4 DAMSGARD (1972)

Estudios *in vitro* sobre los efectos del vanadio en la formación del hueso en calvaria de la rata de 21 días de edad, mostró que el vanadato de sodio (0.1-10 mmol) estimula la incorporación de timidina tritiada al ADN e incrementa el contenido de ADN en el hueso, así como eleva el índice mitótico, mientras que concentraciones de 100 mmol produce una inhibición irreversible de la síntesis de ADN y de proteínas (Canalis, 1985; Hori y Oka, 1980).

La toxicidad del vanadio en animales de experimentación varía con la especie y la ruta de administración. Los animales pequeños como la rata y el ratón son menos sensibles que especies como el conejo o el caballo (WHO, 1988). La toxicidad de este compuesto también está asociada a la naturaleza del compuesto, ya que el vanadio es tóxico tanto en su forma aniónica como catiónica, y se observa un incremento de su actividad con la valencia, siendo el Vanadio  $5^+$  el más tóxico. Entre los óxidos del vanadio, el pentóxido es el más soluble y el más tóxico que el trióxido y el dióxido (Alessio et al., 1988).

Son pocos los estudios realizados del efecto del vanadio a nivel de toxicología reproductiva. Aunque no hay este tipo de información para el humano, en animales de experimentación se sabe que la administración subcutánea de vanadio (metavanadato 0.85 mg/kg = 1/20 de la LD50) a ratas preñadas provoca acumulación de este elemento en la placenta. Aunque su acción sobre el feto no está bien determinada, este metal se localiza en la leche y en las glándulas mamarias (Roschin et al., 1980). Su administración a ratas macho altera la gemetogénesis, la motilidad y sobrevivencia de los espermatozoides (WHO, 1988).

Estudios *in vitro* mostraron que este metal en forma de ortovanadato inhibe la inducción de la hormona luteinizante por acción de la AMFc (Lahav et al., 1986), mientras que Carlton et al (1982) al inyectar vanadato de amonio en criceto dorado del día 5 al 10 de gestación encontraron un incremento en la frecuencia de anomalías esqueléticas. Resultados similares son descritos por Wide (1984) quien al inyectar pentóxido de vanadio por vía intravenosa (1 mmol) a ratones albinos encontró que su aplicación el día 3 o el día 8 de gestación no produce embrio- ni fetotoxicidad, además de que no modifica las implantaciones ni la viabilidad de los productos, aunque observó un incremento en las frecuencias de retraso en la osificación en los huesos del cráneo (región supraoccipital), esternón, metatarsos, y vértebras caudales.

El tratamiento de ratas macho con pentóxido de vanadio provocó infertilidad, hecho que fue explicado por los autores como un posible efecto gonadotóxico (Carlton et al., 1982), Además, la administración de metavanadato de amonio a hembras de criceto preñadas provocó aumento en la frecuencia de muerte embrionaria y en la aparición de anomalías esqueléticas en los fetos (WHO, 1988).

A nivel mutagénico el vanadio está poco estudiado. *In vitro* el vanadio  $V^{5+}$  muestra tener efectos estimulatorios e inhibitorios de la síntesis de ADN, dependiendo de la concentración presente en el medio (WHO, 1988; Sabbioni et al., 1983), mientras que en cultivo de linfocitos humanos se ha descrito que el pentóxido de vanadio no incrementa la frecuencia de ICH's (Sun, 1987). En los ensayos realizados para mutaciones letales dominantes los resultados obtenidos para el pentóxido de vanadio parecen ser negativos (Sun, 1987).

Diversos estudios han mostrado que concentraciones micromolares de este elemento estimulan la incorporación de timidina en el ADN, así como la proporción de la división celular en fibroblastos humanos, mientras que concentraciones superiores a  $40\mu M$  del ion vanadato son tóxicas para la célula (Sabbioni et al., 1983). Otros trabajos realizados por los mismos autores han revelado que el vanadato incrementa la velocidad inicial de digestión del ADN del timo de ternera.

En células vegetales como las de *Allium cepa*, el ion vanadato mostró tener efectos a nivel de la división celular, produciendo la aparición de células binucleadas e inhibiendo la formación de la pared celular (Navas et al., 1986), mientras que en ensayos bacterianos compuestos como el  $VOC12$ ,  $V2O5$ , y el  $NH4VO3$  dan resultados positivos moderados de daño directo al ADN (Kanematsu et al., 1980). Sin embargo el metavanadato de amonio es fuertemente mutagénico al ser probado en *S. thyphymurium* TA1535

(Arlauskas et al., 1985). En los ensayos con salmonela de la cepa TA1535, TA1537, TA98 o TA100 el pentóxido de vanadio da resultados negativos (WHO, 1988).

Aunque en ciertos estudios se demuestra que el pentóxido de vanadio aplicado por vía subcutánea o por inhalación incrementa la frecuencia de micronúcleos en ratones de la cepa 615, no se observan los mismos efectos en la cepa Kunming albina (Sun, 1987).



---

## JUSTIFICACION

---

El amplio uso de los metales en la industria y la generación de desechos que al ser lanzados al ambiente permiten que éstos se encuentren en constante contacto con los organismos vivos, favorece que estos elementos puedan alterar de manera temporal o permanente la salud, además de poner en peligro la integridad de las futuras generaciones.

El vanadio, al igual que muchos metales, es un elemento el cual en los últimos años se le ha puesto mucha atención, debido a que tiende a acumularse en el ambiente en concentraciones detectables y potencialmente peligrosas.

La información referente a su potencial toxicológico es abundante. Sin embargo los estudios para conocer su efecto mutagénico y teratogénico son escasos y poco concluyentes, por lo que en el presente trabajo se decidió estudiar el efecto del pentóxido de vanadio sobre los cromosomas de linfocitos humanos *in vitro* y sobre los cromosomas de la médula ósea de ratón en tratamientos *in vivo*, así como de tratar de establecer una relación entre estos efectos y las alteraciones del desarrollo que pudiera ocasionar este metal al ser aplicado a ratones hembra preñadas.

---

## HIPOTESIS

---

Debido a que el pentóxido de vanadio es un compuesto tóxico, capaz de alterar un amplio número de procesos metabólicos y biosintéticos, dentro de los cuales se encuentra la síntesis de ADN, ARN y de proteínas, además de afectar los mecanismos de reparación del ADN, podemos decir que:

1.- Al ser aplicado a cultivos de linfocitos humanos será capaz de alterar los cromosomas y la cinética normal de división celular.

2.- Al ser inyectado a ratones macho de la cepa CD-1 este metal será capaz de alterar los cromosomas y la cinética de división de las células de la médula ósea de ratón.

3.- El pentóxido de vanadio al ser administrado a ratones hembra preñadas durante los días 6-15 de gestación inducirá malformaciones macroscópicas y esqueléticas, además de alterar de manera importante el ciclo reproductivos de estos animales.

---

## OBJETIVOS

---

### **PRIMER OBJETIVO GENERAL:**

Estudiar el efecto del pentóxido de vanadio sobre las células y los cromosomas de linfocitos humanos en cultivo.

### **OBJETIVOS PARTICULARES:**

Evaluar la frecuencia de aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas en los cromosomas de linfocitos humanos tratados *in vitro* con pentóxido de vanadio.

Evaluar el efecto del pentóxido de vanadio sobre la cinética de ciclo celular y la tasa de proliferación de los cultivos de linfocitos humanos tratados *in vitro*.

Estudiar el efecto del pentóxido de vanadio sobre la frecuencia de asociaciones de satélites en cultivos de linfocitos humanos tratados *in vitro*.

**SEGUNDO OBJETIVO GENERAL :**

Estudiar el efecto del pentóxido de vanadio sobre las células y los cromosomas de la médula ósea de ratón en tratamientos *in vivo*.

**OBJETIVOS PARTICULARES :**

Evaular la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas en los cromosomas de las células de la médula ósea de ratón.

Evaluar el efecto del pentóxido de vanadio sobre la cinética de ciclo celular y la tasa de proliferación de las células de la médula ósea de ratón.

**TERCER OBJETIVO GENERAL :**

Estudiar el efecto del pentóxido de vanadio sobre el ciclo reproductivo del ratón.

**OBJETIVOS PARTICULARES :**

Evaluar el efecto del pentóxido de vanadio sobre el desarrollo normal de los embriones y de los fetos de ratones hembra tratadas durante la gestación.

Evaluar el número y tipo de malformaciones macroscópicas inducidas en los fetos de hembras tratadas con pentóxido de vanadio durante la gestación.

Evaluar el número y tipo de malformaciones esqueléticas inducidas en los fetos de hembras tratadas con pentóxido de vanadio durante la gestación.

Evaluar el efecto de la administración de pentóxido de vanadio a ratas prepúberes sobre algunos órganos blanco y los órganos reproductivos.

Evaluar el efecto de la administración, a ratas prepúberes, de pentóxido de vanadio sobre el proceso de ovulación.

---

## PROTOSCOLOS

---

**ESTUDIO DE LAS ABERRACIONES CROMOSOMICAS,  
INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS, CINETICA  
DE CICLO CELULAR Y ASOCIACIONES DE SATELITES  
EN CULTIVOS DE LINFOCITOS HUMANOS EXPUESTOS A  
PENTOXIDO DE VANADIO.**

### **MATERIAL Y METODOS**

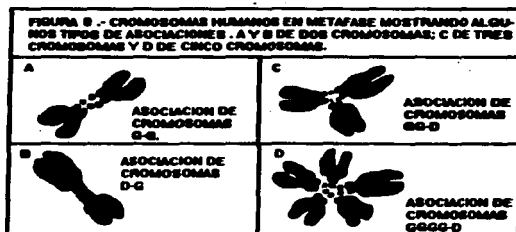
Se cultivaron linfocitos de sangre periférica de donadores sanos (no fumadores y de 28 a 31 años de edad) en la oscuridad en 4.75 ml de medio McCoy's 5A (Microlab, México) suplementado con 0.25 ml de fitohemaglutinina M (Microlab, México), durante 72 horas a 37°C.

A las 24 horas de iniciados los cultivos, se le adicionó a cada uno de los frascos, 0.1 ml de una solución de 5-Bromo-desoxiuridina (BrdU, Sigma Chem. St. Louis, USA) (200 ug/ml) y el pentóxido de vanadio (Aldrich, USA), en concentraciones de 2, 4 o 6 g/ml de cultivo. En todos los casos el vanadio fue disuelto en agua destilada y esterilizado por filtración empleando membranas Millipore de 0.45u. Los experimentos se realizaron por duplicado, con una repetición siendo adicionada de manera simultánea 0.1 ml de agua destilada a los cultivos testigo.

A las 70 horas a cada frasco se le adicionó colchicina (4ug/ml, Merck, México) y se incubaron hasta completar las 72 horas. Transcurrido este tiempo las células se centrifugaron y el paquete celular se sometió a un choque hipotónico con solución de cloruro de potasio (KCl 0.075 M) por 20 minutos a 37 C. Posteriormente las células se fijaron en solución de Metanol-ácido acético (3:1), se realizaron tres cambios y se dejaron reposar en cada uno de ellos 20, 15 y 10 minutos respectivamente. Por último las preparaciones se realizaron por goteo y se dejaron secar al aire, y la tinción diferencial de cromátidas hermanas se realizó siguiendo la metodología propuesta por Altamirano-Lozano (1987)

## EVALUACIONES

Para cuantificar las aberraciones cromosómicas, en cada concentración de vanadio estudiada y en cada experimento un mínimo de 100 metafases en primera división y bien extendidas fueron revisadas. Los tipos de aberraciones analizadas incluyeron a las de tipo cromatídico, como los gaps isocromatídicos y cromatídicos, los rompimientos y los intercambios, mientras que las aberraciones de tipo cromosómico fueron los rompimientos y anillos. Como aberraciones de tipo numérico sólo analizaron las poliploidías (Evans y O'Riordan, 1975). Además, en 90 metafases se analizó el número de asociaciones de satélites (Figura 8).



Para determinar el índice mitótico se contabilizaron al azar 1000 células, mientras que para determinar la cinética del ciclo celular se observaron 100 células en metafase por concentración y al azar cuantificando las células en primera división, segunda división y terceras o sucesivas divisiones.

La tasa de proliferación linfocítica fue calculada por el método propuesto por Ivett y Tice (1982), mediante la siguiente fórmula:

En donde I, II y III representan las proporciones de células en primera, segunda y tercera o sucesivas divisiones, mientras que T-horas es el tiempo de permanencia de la S-BrdU en el cultivo

$$TFL = \frac{T\text{-horas}}{1 \times (I) + 2 \times (II) + 3 \times (III)}$$

El análisis de la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) se realizó observando un mínimo de 50 metafases bien extendidas en el segundo ciclo de duplicación y se cuantificó el número y tipo de ICH, y se consideró a los terminales como el resultado de un intercambio, y a los intersticiales como el de dos intercambios (Figura 9).

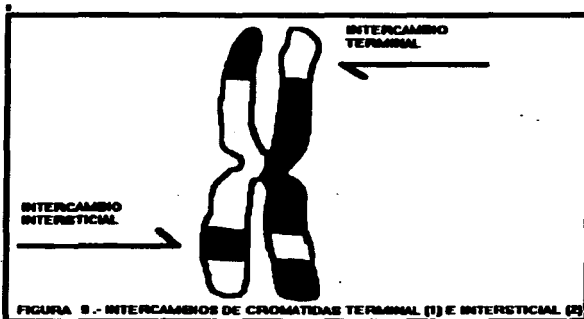


FIGURA 9.- INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS TERMINAL (I) E INTERSTICIAL (II)



## ANALISIS ESTADISTICO

El análisis estadístico se realizó aplicando la prueba de diferencia de proporciones para las aberraciones cromosómicas, índice mitótico y para la cinética de división celular, mientras que para la distribución de ICH por metafase en los distintos experimentos se aplicó la prueba de  $\chi^2$  para proporciones, y la prueba de "t" de Student para la frecuencia de ICH por metafase.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en los cultivos de linfocitos tratados con pentóxido de vanadio mostraron que este compuesto no incrementa la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales. En el caso de los cultivos testigo la frecuencia fue de 1.3% (3/226), mientras que se observó un 2.2% (5/224) para la concentración de 2 ug/ml, 2.0% (4/200) para la concentración de 4 ug/ml y de 0.4% (1/218) para el tratamiento con 6 ug/ml.

Cuando se realizó el análisis de las alteraciones numéricas se encontró que el vanadio elevó la frecuencia de células poliploides. Para los cultivos testigo la frecuencia fue de 1.7% (4/226), mientras que para 2 ug/ml fue de 4.4% (10/224), para 4 ug/ml fue de 4.0% (8/200) y para 6 ug/ml fue de 4.6% (10/218). En todos los casos las diferencias fueron significativas con  $P < 0.05$  (prueba de  $\chi^2$ ).

Estos resultados muestran que el vanadio no es un inductor de aberraciones cromosómicas estructurales, lo que confirma observaciones previas de Giri et al. (1979); Hansen y Stern (1984); Sharma y Talukder (1987); WHO (1988). La capacidad de este metal para inducir poliploidias es similar al comportamiento reportado por Singh (1979), quien encontró que el pentóxido de vanadio altera el huso mitótico de *Allium cepa*.

La mayoría de los metales pueden producir alteraciones en el huso mitótico, efecto que puede conducir a que las células se detengan en metafase, se produzca un periodo estático en la división celular ("Stathmokinesis"), se induzca la formación de diplocromosomas y de poliploidías, lo que resulta en la detención de la división celular, lo cual se refleja en una disminución del índice mitótico (Sharma y Talukder, 1987). Algunas de estas respuestas pueden ser atribuidas en gran medida a que los metales poseen una gran afinidad por los enlaces disulfuro, lo cual explica porque uno de los blancos principales dentro de la célula son las proteínas del huso mitótico (Cherian, 1985).

Los tratamientos realizados con pentóxido de vanadio mostraron una disminución del índice mitótico en los cultivos tratados con las dos concentraciones más altas, mientras que en las mismas concentraciones la tasa de proliferación linfocítica aumentó (Tabla 6).

TABLA 6.- INDICE MITOTICO, INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS Y TASA DE PROLIFERACION EN LINFOCITOS HUMANOS TRATADOS CON PENTOXIDO DE VANADIO.

TRATAMIENTO (µg/ml)	I.M. (%)	ICH/CELULA (K+es)	T.P.L. (#tr)
TESTIGO	2.7	4.97 ± 0.42	22.95 ± 0.212
2	2.0	5.99 ± 0.34	23.07 ± 0.050
4	1.12*	4.32 ± 0.47	29.53 ± 0.090**
8	1.14*	4.46 ± 0.47	27.60 ± 0.593**

\*-P<0.05 VS EL TESTIGO CON PRUEBA DE DIFERENCIA DE PROPORCIONES

\*\*-P<0.05 VS EL TESTIGO CON PRUEBA DE  $\chi^2$

Aunque la inducción de intercambios de cromátidas hermanas por metales está bien documentada (Gómez-Arroyo et al., 1981; Hansen y Stern, 1984; IARC, 1987; Ohno et al., 1982), el pentóxido de vanadio no modificó la frecuencia de ICH's en los tratamientos realizados (Tabla 6).

El total de células con una o más asociaciones de satélites (AS), el total de asociaciones presentes y el total de cromosomas involucrados por asociación se presentan en la tabla 7. Los tres parámetros analizados se incrementaron significativamente en los cultivos tratados con 4 o 6 ug/ml de pentóxido de vanadio

TABLA 7.- NUMERO DE CELULAS CON ASOCIACIONES DE SATELITES (AS), TOTAL DE ASOCIACIONES Y TOTAL DE CROMOSOMAS ASOCIADOS EN CULTIVOS DE LINFOCITOS TRATADOS CON PENTOXIDO DE VANADIO.

CONCENTRACION (ug/ml)	CELULAS CON ASOCIACION	TOTAL DE ASOCIACIONES	TOTAL DE CROMOSOMAS ASOCIADOS
TESTIGO	73/100	94	198
2	92/100	128	268
4	114/100*	144*	382**
6	127/100**	169*	378***

\*-P<0.05; \*\*-P<0.025; \*\*\*-P<0.01 VS EL TESTIGO CON PRUEBA DE CHI-CUADRADA

El fenómeno de las AS involucra la posición específica de los cromosomas satelitados uno con respecto al otro, los cuales permanecen así hasta la metafase (Figura 8). Aunque este fenómeno fue descrito en 1961 (Ferguson-Smith y Handmaker, 1961; Harden, 1961; Ohno et al., 1961), fué hasta la década de los años 70 cuando se empezaron a realizar estudios de las AS y a tratar de correlacionar los incrementos de éstas con algunas enfermedades como el hipertiroidismo (Nilsson et al., 1975) o el observado en casos de meningiomas o en los padres de individuos con síndrome de Down (Curtis, 1974; Zankl y Zang, 1978).

A la fecha existen pocos trabajos en los cuales se correlacione las alteraciones en las frecuencias de AS con tratamientos o exposiciones a agentes químicos o físicos. Un incremento en las frecuencias de AS se observó en las células de individuos expuestos *in vivo* a rayos X o en cultivos tratados con cloruro de cobalto (Nazaret, 1976; Farah, 1982), mientras que una disminución significativa se dió en tratamientos con acetato de

fenilmercurio, plomo inorgánico y acetato de depomedroxiprogesterona (Kirsch-Volders et al., 1978).

Algunos investigadores han considerado que una alta incidencia de AS puede ser la causa de un mayor riesgo de predisposición a la no disyunción de los cromosomas con satélites (cromosomas del grupo D y del grupo G), lo cual incrementa la probabilidad de trisomias (Houghton, 1979; Rosenkranz y Holzer, 1972). Existen trabajos en los cuales se reportan incrementos en las frecuencias de AS en familias con antecedentes de trisomias (Evans, 1967; Mattei et al., 1974; Moreira y Ferrari, 1977; Zellweger et al., 1966).

La mayoría de los estudios publicados indican que la tendencia de los cromosomas a asociarse resulta de la homología funcional, de la homología molecular, de la conexión de fibras intracromosómicas o del apareamiento somático de los cromosomas durante la interfase (Korf y Diacumakos, 1977), por lo que la posible acción de los agentes químicos, ya sea de manera directa o indirecta debe de ser considerada en la modificación de estos parámetros (Kirsch-Volders et al., 1978).

Los resultados obtenidos en cultivos de linfocitos humanos tratados con V2O5 muestran que este compuesto no produce aberraciones cromosómicas estructurales ni incrementa la frecuencia de ICHs, aunque al parecer fue capaz de alterar el huso mitótico, lo cual se refleja en el incremento en la frecuencia de poliploidias, disminución del IM y alargamiento en la duración del ciclo celular.

Aunque la mayoría de las interacciones del vanadio son aun desconocidas, estudios *in vitro* han demostrado que este metal produce cambios en las concentraciones de grupos sulfhidrilos y de cistinas, alteraciones en el metabolismo de formación de aminoácidos ricos en azufre, alteraciones en la síntesis de ADN y de ARN, así como en el metabolismo del colesterol. Esta gran gama de efectos demuestran que el vanadio posee un amplio espectro de acción a nivel celular (Roschin, 1967; WHO, 1988). Esto

impide establecer de manera clara y precisa su mecanismo de acción tanto a nivel de la división celular como del aparato mitótico.

**ESTUDIO DE LOS EFECTOS MUTAGENICOS Y TERA-  
TOGENICOS DEL PENTOXIDO DE VANADIO EN RATON in  
vivo.**

**ESTUDIOS CITOGENETICOS**

**MATERIAL Y METODOS**

**ANIMALES**

Ratones macho de la cepa CD-1 (de 2 a 3 meses de edad y un peso de 25 a 30 gr) fueron empleados para los experimentos (4 animales para los grupos testigo y los tratados, según el esquema propuesto por el Programa de Genética Toxicológica, Latt et al., 1981). Los animales fueron mantenidos en cajas de plástico en condiciones estándar del bioterio, con libre acceso al agua y a la comida (Purina).

Los animales fueron inyectados por vía intraperitoneal (i.p.) con una dosis de 1 mg/gr de peso de BrdU previamente adsorbida en carbón activado (Morales, 1980). Dos horas después de aplicada la BrdU a cada animal se le inyectó por vía i.p. el pentóxido de vanadio en concentraciones de 23, 11.5 y 5.75 mg/kg de peso (que corresponden a la LD50, 1/2 y 1/4 de la LD50 respectivamente). El grupo testigo fue inyectado con el vehículo. Veintidós horas después a cada animal se le aplicó una inyección i.p. de colchicina (1.5 ug/g de peso).

Dos horas más tarde los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical y la médula ósea fue extraída a partir de los fémures en 5 ml de solución hipotónica

de KCl precalentada a 37°C. Las células se dejaron reposar 30 minutos, después de los cuales se centrifugaron y se fijaron en una solución de metanol-ácido acético (3:1) cambiando el fijador en tres ocasiones. Las preparaciones se realizaron por goteo y se dejaron secar al aire.

Veinticuatro horas después de realizadas las preparaciones se siguió la metodología propuesta por Altamirano-Lozano (1987) para obtener la tinción diferencial de cromátidas hermanas.

## **EVALUACIONES**

Para determinar el índice mitótico se contabilizaron 1000 células al azar, mientras que para determinar la cinética del ciclo celular se observaron 100 células en metafase por concentración y al azar cuantificando las células en primera división, segunda división y terceras o sucesivas divisiones. La tasa de proliferación celular fue calculada por el método propuesto por Ivett y Tice (1982).

El análisis de la frecuencia de ICH se realizó observando un mínimo de 50 metafases bien extendidas en segundo ciclo de duplicación, cuantificándose el número y tipo de ICH de igual manera que en el caso de los cultivos de linfocitos.

## **ANALISIS ESTADISTICO**

El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de diferencia de proporciones para el índice mitótico y para la cinética de división celular, mientras que para la distribución de ICH por metafase en los distintos experimentos se aplicó la prueba de  $\chi^2$  para proporciones, y la prueba de "t" de Student para la frecuencia de ICH por metafase.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos al inyectar pentóxido de vanadio a ratones macho de la cepa CD-1, mostraron que este compuesto modificó de manera significativa el IM. En la dosis mas baja empleada (5.75 ug/g) no se observaron diferencias con respecto al grupo testigo, sin embargo en la dosis intermedia 11.5 ug/g el IM se incrementó significativamente ( $P < 0.05$ ), mientras que en la dosis más alta se observó disminución de este parámetro (Tabla 8).

TABLA 8.- INDICE MITOTICO IM, TIEMPO DE PROLIFERACION CELULAR (TPC) E INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS (ICH) EN CELULAS DE LA MEDULA OSEA DE RATON TRATADAS CON PENTOXIDO DE VANADIO.

CONCENTRACION (ug/g de peso)	IM ( $\bar{X} \pm es$ )	ICH ( $\bar{X} \pm es$ )	TPC ( $\bar{X} \pm es$ )
TESTIGO	2.47 $\pm$ 0.25	4.16 $\pm$ 0.24	13.61 $\pm$ 0.19
5.75	2.62 $\pm$ 0.33	3.82 $\pm$ 0.23	14.74 $\pm$ 0.12
11.50	2.83 $\pm$ 0.26*	3.62 $\pm$ 0.50	14.00 $\pm$ 0.30
23.00	2.05 $\pm$ 0.20*	4.31 $\pm$ 0.32	14.06 $\pm$ 0.47

\* $P < 0.05$  VS EL TESTIGO CON PRUEBA DE DIFERENCIA DE PROPORCIONES

Estos resultados concuerdan con lo reportado previamente por diversos autores, los cuales describen al vanadio como un metal con doble función. Carpenter (1981) encontró que fibroblastos humanos tratados con concentraciones menores a 40 M de vanadato aumentan la incorporación de timidina al ADN, evidencia de que este elemento estimula la división celular. Cuando las mismas células fueron tratadas con concentraciones mayores a 40 M el vanadato fué tóxico y se observó un bloqueo de la síntesis de ADN y de la división celular.

Datos similares fueron reportados por Sabbioni y col (1983), quienes encontraron que el vanadio muestra efectos opuestos sobre la función *in vitro* de la ADN

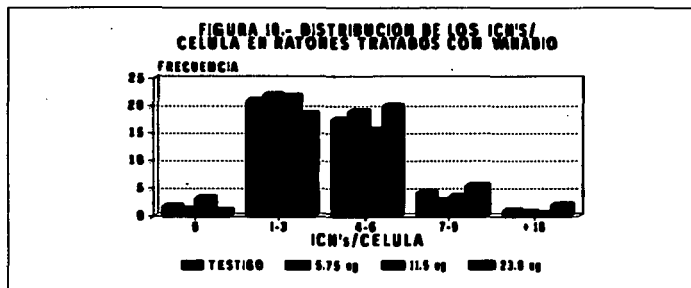


polimerasa de ternera, ya que al ser aplicado en bajas concentraciones ( $10^{-7}$  y  $10^{-6}$  M) se incrementa la incorporación de nucleótidos al ADN, mientras que en concentraciones mayores a  $10^{-5}$  se inhibe su actividad.

Por su naturaleza química los metales presentan una gran afinidad por los enlaces disulfuro, lo cual permite que ataquen con facilidad al huso mitótico, daño que conduce entre otras cosas a la disminución del índice mitótico, efecto que se ha observado en células de *Allium cepa* (Singh y Sharma, 1981; Navas et al., 1986).

La capacidad del vanadio para estimular e inhibir diversas enzimas, dentro de las cuales se encuentran algunas que participan en la síntesis de ADN (Carpenter, 1981; Smith, 1983), parece indicar que el vanadio tiene más de un mecanismo de acción sobre la división celular.

Aunque el análisis del intercambio de cromátidas hermanas es un indicador sumamente sensible del daño producido al ADN por compuestos químicos, los resultados en el sistema *in vivo* mostraron que tampoco existen modificaciones en las frecuencias basales de intercambios. Cuando la frecuencia, distribución de los ICH's y la cinética de proliferación celular se analizaron en los animales tratados se encontraron ligeras variaciones en las distribuciones (Figura 10) aunque estas no fueron estadísticamente significativas.



La cinética de distribución del vanadio en el organismo, implica que desde su entrada este metal es transportado por el flujo sanguíneo unido a una enzima, y aunque se ha reportado que en ratas después de 30 minutos de su administración, ya se puede localizar en hueso (WHO, 1988), tarda alrededor de 8 días en migrar hacia el interior de la fracción nuclear de las células (Stokinger, 1981), sitio en donde se encuentra el ADN. Debido a este fenómeno se puede sospechar que si el vanadio tiene un efecto directo sobre el ADN, este no puede ser observado en los ensayos utilizados, por lo que se requiere implementar el estudio de este compuesto con tratamientos a largo plazo.

## **ESTUDIOS TERATOGENICOS**

### **MATERIAL Y METODOS:**

#### **ANIMALES**

Ratones de la cepa CD-1 de 2 meses de edad, de 30-35 g de peso fueron mantenidos en cajas de plástico con ciclos constantes de luz/obscuridad (16/8), con libre acceso al agua y al alimento.

Una vez aclimatados, las hembras fueron cruzadas durante la noche (de 8:00 pm a 8:00 am), comprobando la cópula por la presencia de espermatozoides en el frotis vaginal o la presencia de tapón espermático. El día que se encontró cualquiera de estos elementos se consideró como el día 0, día a partir de del cual se marcó a los animales y se separaron en los diferentes lotes de trabajo.

El diseño experimental se realizó siguiendo el protocolo de tratamiento propuesto por la ECETOC (1983) y la EPA (1986), en el cual se sugiere que las hembras preñadas sean tratadas diariamente con el compuesto a probar desde el día 6 de gestación y hasta el 15o día, dejándolas continuar hasta el 18o día. Para los experimentos se contó con grupos de 13 animales como mínimo, contando con un testigo absoluto. La vía de tratamiento en todos los casos fue i.p., empleando una única dosis de pentóxido de vanadio (8.5 mg/kg de peso del animal).

En el día 18 de la gestación las hembras fueron sacrificadas por dislocación cervical y los fetos fueron extraídos por cesárea. En cada hembra se contó el número total de implantes, de reabsorciones, de fetos y de crías vivas y de crías muertas. Los fetos fueron pesados en conjunto y analizados para determinar el número y tipo de anomalías macroscópicas presentes.

Del conjunto de fetos obtenidos un tercio fue fijado en solución de Bouin. El resto fueron fijados en alcohol 96, desvicerados y aclarados con una solución de KOH 1% durante 24-48 horas para finalmente teñirlos con rojo de alizarina y almacenarlos definitivamente en glicerina pura.

Los animales fijados en Bouin se almacenaron para realizar estudios histopatológicos posteriores, mientras que los aclarados fueron revisados para determinar las anomalías esqueléticas presentes.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados del peso fetal, de la frecuencia de implantes y de las anomalías esqueléticas fueron analizadas empleando la prueba de "t" de Student, mientras que para las reabsorciones, el porcentaje de fetos vivos y muertos, número de camadas con fetos anormales y el porcentaje de anomalías fetales, se se empleó la

prueba de diferencia de proporciones "Z". La proporción de sexos en los fetos de las camadas se comparó mediante la prueba de  $\chi^2$ .

## RESULTADOS Y DISCUSION

Quando se compararon los resultados entre las hembras del grupo testigo y las del grupo tratado se encontró que no hubo diferencias en el número de fetos vivos y muertos y en el total de implantaciones y reabsorciones presentes. Sin embargo, el peso de los fetos fue significativamente menor en los productos de las hembras tratadas con vanadio (Tabla 9).

**TABLA 9.- EFECTOS DE LA ADMINISTRACION DEL PENTOXIDO DE VANADIO DURANTE LOS DIAS 8-16 DE GESTACION SOBRE LA FRECUENCIA DE IMPLANTACIONES, RE-ABSORCIONES, VIABILIDAD Y PESO FETAL.**

OBSERVACIONES	TRATAMIENTO (mg/d)	
	TESTIGO	0.5
NUMERO DE HEMBRAS PREÑADAS	13	15
TOTAL DE IMPLANTES	149	175
R DE IMPLANTES/CAMADA (M)	11.46 ± 0.75	11.75 ± 0.55
R DE FETOS VIVOS/CAMADA (M)	9.39 ± 0.71	9.73 ± 0.69
R DE REABSORCIONE/CAMADA (M)	1.92 ± 0.69	1.73 ± 0.51
R DE FETOS MUERTOS/CAMADA (M)	0.15 ± 0.10	0.29 ± 0.14
R DEL PESO FETAL/CAMADA (M)	1.39 ± 0.95	1.54 ± 0.95*
PROPORCION DE SEXOS EN FETOS VIVOS (M)	0.59/0.11	1.25/0.75**

(M) =  $\bar{X}$  ±  $\sigma$ ; (M) ±  $\sigma$ ; (M) = proporción esperada 1/1

\* = P < 0.01 VS EL TESTIGO CON PRUEBA DE "T" DE STUDENT

\*\* = P < 0.05 VS LO ESPERADO CON PRUEBA DE  $\chi^2$

La proporción de camadas con fetos anormales, y el número total de fetos con alguna anomalía fue mayor en las hembras tratadas que en las del grupo testigo. La proporción de sexos en los productos de las hembras testigo fue cercana a 50-50%, mientras que en las hembras tratadas con el vanadio se obtuvo un incremento en el número de fetos hembras con respecto al de fetos machos (Tabla 9), sin que existan diferencias sexuales con respecto a la proporción de fetos anormales.

La tabla 10 muestra la frecuencia de anomalías observadas. En los fetos de las hembras tratadas con vanadio, la alteración más frecuente fue el acortamiento de miembros, encontrándose además hematomas, polidactilias, ausencia de párpados y un caso de paladar hendido.

**TABLA 10.- FRECUENCIA DE ANOMALIAS EXTERNAS OBSERVADAS EN LA DESCENDENCIA DE RATONES HEMBRA TRATADAS CON PENTÓXIDO DE VANADIO DURANTE LOS DÍAS 6-15 DE GESTACION**

OBSERVACIONES	TRATAMIENTO (µg/ml)	
	TESTIGO	S.S
NÚMERO DE HEMBRAS PREÑADAS	13	15
NÚMERO DE FETOS EXAMINADOS	124	149
CAMADAS CON FETOS ANORMALES (%)	3/13 (23.07)	5/15 (33.33)**
NÚMERO DE FETOS ANORMALES (%)	3/124 (2.42)	15/149 (10.07)*
NÚMERO DE FETOS CON: (%)		
HEMATOMAS	0	4 (2.68)
OJOS ABIERTOS	3 (2.42)	2 (1.34)
ACORTAMIENTO DE MIEMBROS	0	8 (5.36)**
POLIDACTILIA	0	2 (1.34)
PALADAR HENDIDO	0	1 (0.67)

\*-P<0.05 VS TESTIGO; \*\*-P<0.01 VS TESTIGO CON PRUEBA DE DIFERENCIA DE PROPORCIONES

En los fetos de hembras tratadas con vanadio disminuyó significativamente el número de centros de osificación en miembros superiores e inferiores y en 4 casos se encontraron animales con costillas onduladas (Tabla 11).

**TABLA 11.- ALTERACIONES ESQUELÉTICAS OBSERVADAS EN LOS FETOS DE RATONES HEMBRA TRATADAS CON PENTÓXIDO DE VANADIO DURANTE LOS DÍAS 6-15 DE GESTACION.**

OBSERVACIONES	TRATAMIENTO (µg/ml)	
	TESTIGO	S.S
NÚMERO DE FETOS EXAMINADOS	88	101
PUNTOS DE OSIFICACION EN: (%)		
MIEMBROS SUPERIORES	13.65 ± 0.47	9.95 ± 0.33*
MIEMBROS INFERIORES	14.65 ± 0.52	9.25 ± 0.41*
ESTERSON	6.88 ± 0.97	5.98 ± 0.68
OTRAS ALTERACIONES		
Σ DEL N° DE COSTILLAS/FETO	13.26 ± 0.95	12.21 ± 0.84
FETOS CON COSTILLAS ONDULADAS (%)	0	4 (2.98)

(\*)-X ± ee; \*\*-P<0.001 VS TESTIGO CON PRUEBA DE T DE STUDENT

Los efectos de la aplicación de una sola dosis de pentóxido de vanadio a los ratones durante los días 6-15 de gestación no se asoció con efectos embriotóxicos, los cuales generalmente se pueden cuantificar como pérdidas embrionarias, incluyendo dentro de estas las pérdidas postimplantación, aunque se encontró que este compuesto induce un decremento del peso fetal y retraso de la osificación, parámetros que han sido asociados con fetotoxicidad (Black y Marks, 1986).

El vanadio y sus compuestos son capaces de inhibir las fosfohidrolasas del ATP, las ribonucleasas, las adenilato cinasas, las fosfofructuquinazas, la síntesis de ADN y proteínas y la actividad de las fosfatasa alcalinas (WHO, 1988; Canalis, 1985; Macara, 1980). Los efectos del vanadio sobre el ADN de la colagena del hueso, así como de la actividad de la fosfatasa alcalina se debe en gran medida a la toxicidad irreversible de este metal sobre estos efectos, los cuales repercuten de manera directa sobre la formación del hueso (Wuthier y Register, 1985).

Los resultados del estudio mostraron que al parecer existe una relación de la citotoxicidad (cuantificada como una reducción del índice mitótico) y tres de los parámetros evaluados: la baja del peso en los fetos de las hembras tratadas, el acortamiento de miembros y la reducción en la osificación.

El vanadio es un potente inhibidor de la síntesis de proteínas, de ADN y de ARN, y es muy posible que este efecto haya producido una reducción en la tasas de proliferación (disminución del IM) y que esto a su vez haya sido el responsable de las alteraciones macroscópicas, esqueléticas y del peso fetal observadas en los productos de las hembras tratadas con este metal.

**DIFERENCIAS SEXUALES EN LOS EFECTOS DEL  
PENTOXIDO DE VANADIO ADMINISTRADO A RATAS  
PREPUBERES**

**MATERIAL Y METODOS:**

**ANIMALES**

Ratas hembra y macho prepúberes de la cepa CIIZ-V fueron mantenidos en condiciones controladas de luz/obscuridad (luz de las 05:00 a las 19:00), con libre acceso a la madre para alimentación, hasta el día 21, después del cual tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

**TRATAMIENTO 1**

Animales recién nacidos de ambos sexos fueron inyectados i.p. con pentóxido de vanadio (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) (Aldrich Chemical Co.), 12.5 mg/kg de peso o con solución salina isotónica, cada tercer día desde el nacimiento hasta el día 21.

**TRATAMIENTO 2**

Ratas hembras de 21 días de edad fueron tratadas con V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> cada tercer día hasta la fecha del primer estro vaginal. Las hembras fueron revisadas diariamente para registrar el día de apertura vaginal, día a partir del cual se realizaron frotis vaginales diarios.

## ANALISIS

En todos los casos los animales fueron sacrificados por decapitación; las hembras al presentar el primer estro vaginal y los machos al día 55 de edad.

En las hembras se disecaron los oviductos y se contó el número de ovocitos liberados con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Se disecaron y pesaron en una balanza de precisión los ovarios, el útero, las adrenales, la hipófisis, el timo, hígado, riñones y las glándulas submandibulares.

En los machos se disecaron y pesaron los testículos, próstata, vesículas seminales, adrenales, hipófisis, timo, hígado, riñones y glándulas submandibulares.

## ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados del peso corporal, de los órganos y del número de ovocitos liberados fueron expresados como promedios + el error estándar, siendo analizados todos los datos por medio de la prueba de "t" de Student. El análisis de la tasa de animales ovulantes se realizó por medio de la prueba de  $\chi^2$ .

## RESULTADOS y DISCUSION

El peso de las ratas hembra tratadas desde el día 21 y hasta que presentaran el primer estro vaginal fue mayor que el del grupo testigo ( $120 + 3.7$  g vs  $105 + 2.2$ ,  $P < 0.05$ ), mientras que no se observaron diferencias entre los grupos testigo y tratado de las ratas tratadas desde el nacimiento hasta el día 21 ( $105 + 2.2$  vs  $106 + 5.6$ ). Hasta la fecha se sabe que el vanadio es un micronutriente esencial para la rata y los pollos, sin que se tengan datos confiables de su papel en el humano, por lo que el



incremento en el peso de los animales pudo ser debido a este fenómeno, ya que en el caso de la alimentación normal de los animales de laboratorio existe una deficiencia de este elemento, el cual si llega a faltar puede inducir un retraso del crecimiento (Sabbioni et al., 1983; Poland y Knutson, 1982).

No se observaron diferencias en la edad de apertura vaginal ( $40.5 \pm 0.9$  vs  $37.6 \pm 1.5$  del grupo tratado desde el nacimiento y  $2.5 \pm 0.7$  del grupo tratado a partir del día 21) o en la edad de aparición del primer estro vaginal ( $42.0 \pm 0.9$  vs  $39.6 \pm 1.4$  de las hembras tratadas desde el nacimiento y  $42.8 \pm 0.5$  del grupo tratado a partir del día 21).

La tasa de animales ovulantes fue menor en los grupos tratados con respecto al grupo testigo (8/15 vs 18/19,  $P < 0.02$ , con  $\chi^2$ ), mientras que no se observaron cambios entre los animales tratados desde el nacimiento y los tratados a partir del día 21 (4/9 vs 4/6).

El número de ovocitos liberados por animal ovulante fue similar en ambos grupos (testigo  $8.20 \pm 0.4$  vs  $7.30 \pm 1.9$  para tratadas desde el nacimiento y  $6.80.8$  para el grupo tratado a partir de los 21 días), sin que se observaran cambios en los pesos de los ovarios, del utero, de las adrenales o de la pituitaria (Tablas 12 y 13).

Tabla 12.- Pesar de Ovarios (Hembras y Testículos y Órganos Reproductivos (Útero, Prostata y Vesículas Seminales) en Ratas Hembra y Macho Tratadas con Solución Salina o Pentóxido de Vanadio desde el nacimiento (X ± SE).

	GRUPO	
	TESTIGO	TRATADO
<b>HEMBRAS</b>	<b>N = 8</b>	<b>N = 8</b>
<b>OVARIOS (mg)</b>	$33.3 \pm 2.1$	$33.9 \pm 2.1$
<b>UTERO (mg)</b>	$166.0 \pm 9.9$	$168.0 \pm 19.0$
<b>MACHOS</b>	<b>N = 9</b>	<b>N = 5</b>
<b>TESTÍCULOS (g)</b>	$2.4 \pm 0.1$	$2.2 \pm 0.14$
<b>PROSTATA (mg)</b>	$149.0 \pm 10.0$	$164.0 \pm 21.0$
<b>VESÍCULAS SEMINALES (mg)</b>	$240.0 \pm 11.0$	$230.0 \pm 15.0^*$

\*  $P < 0.05$  vs el grupo de machos testigo con prueba de t de Student.

TABLA 13.- PESO DE LAS ADRENALES, PITUITARIA, TIMO, GLÁNDULAS SUBMANDIBULARES, HIGADO Y RÍFON EN RATAS HEMBRA Y MACHO TRATADAS CON SOLUCIÓN SALINA O PENTÓXIDO DE VANADIO DESDE EL NACIMIENTO (R + DE)

	GRUPO			
	HEMBRAS TESTIGO	HEMBRAS TRATADAS	MACHOS TESTIGO	MACHOS TRATADOS
	N = 8	N = 9	N = 8	N = 8
ADRENALES (mg)	34.8 ± 1.8	38.8 ± 1.8	33.8 ± 1.8	29.8 ± 1.8
PITUITARIA (mg)	8.8 ± 0.4	8.2 ± 1.2	7.7 ± 0.6	8.7 ± 1.8
TIMO (mg)	322.8 ± 15.7	325.8 ± 18.8	383.8 ± 18.8	498.8 ± 48.4*
GLÁNDULAS SUBMANDIBULARES (mg)	253.8 ± 18.4	258.8 ± 12.2	363.8 ± 8.8	421.8 ± 17.8*
HIGADO (g)	5.5 ± 0.1	5.5 ± 0.4	18.8 ± 0.5	18.8 ± 0.5
RÍFONES (g)	1.3 ± 0.82	1.1 ± 0.83	2.1 ± 0.88	1.8 ± 0.88

\*P < 0.05 VS MACHOS TESTIGO CON MANEJA DE I DE STUDENT.

Los resultados indican que este compuesto sólo afecta la ovulación sin modificar las concentraciones de estrógenos. Puesto que tanto la ovulación como la secreción de estrógenos están estimuladas por las gonadotropinas secretadas por la pituitaria y una alteración en la concentración de los estrógenos puede conducir a una disminución en el peso del útero y a modificar la liberación de ovocitos, la disminución en la ovulación puede ser el resultado de la acción directa del pentóxido de vanadio sobre los gametos (Goodman, 1980; WHO, 1988).

En el caso de las hembras tratadas con vanadio desde el nacimiento, los pesos del timo, riñones y glándulas submandibulares fue similar a los presentados por el grupo testigo (Tabla 13). Cuando el tratamiento se realizó a partir de los 21 días de edad, se encontró un aumento en el peso del timo, de las glándulas submandibulares y del hígado (Tabla 14). Aunque no existe una explicación adecuada para estos resultados, se sabe que en el caso del aumento del peso en el hígado, puede ser debido a un reflejo de la adaptación bioquímica que sufre este órgano, el cual después de una agresión química activa los sistemas enzimáticos microsómicos, por lo que esta actividad provoca un aumento en el peso del mismo (Poland y Knutson, 1982).

En las ratas macho el tratamiento con V205 resultó en un incremento en el peso de las vesículas seminales, del timo y de las glándulas submandibulares (Tablas 12 y 13). No se tiene una explicación para estos incrementos.

**TABLA 14.- PESOS DE LOS OVARIOS, UTERO, ADRENALES, PITUITARIA, TIMO, GLÁNDULAS SUBMANDIBULARES, HIGADO Y RÍÑONES DE HEMBRAS TRATADAS CON SOLUCIÓN SALINA O PENTÓXIDO DE VANADIO DESDE EL DÍA 21 (X ± DE)**

	GRUPO	
	TESTIGO	TRATADO
	N = 10	N = 6
OVARIOS (mg)	33.3 ± 2.1	40.3 ± 2.7
UTERO (mg)	188.0 ± 9.0	185.0 ± 16.0
ADRENALES (mg)	34.0 ± 1.0	40.5 ± 4.0
PITUITARIA (mg)	8.0 ± 0.4	8.5 ± 1.6
TIMO (mg)	322.0 ± 15.7	422.0 ± 21.5*
GLÁNDULAS SUBMANDIBULARES (mg)	253.0 ± 10.4	293.0 ± 15.2*
HIGADO (g)	6.5 ± 0.1	7.1 ± 0.3*
RÍÑONES (g)	1.3 ± 0.02	1.4 ± 0.07

\*P<0.05 VS EL TESTIGO CON PRUEBA DE T DE STUDENT.

Datos reportados previamente muestran que existen diferencias entre individuos y entre especies en las respuestas a sustancias tóxicas, aunque muchos de los datos son contradictorios. El acetato de plomo y el cloruro de cadmio son dos metales que tienen mayor toxicidad en machos al ser aplicados en tratamientos agudos en comparación con las hembras (Nordberg et al., 1986). Por otro lado en el caso de ratas hembra se demostró que éstas son capaces de absorber el doble de cadmio que los machos después de ser sometidas a una dosis única por vía oral, mientras que en el mismo caso cuando los machos son castrados, éstos son los que absorben más cadmio que las hembras, por lo que se concluye que las hormonas sexuales masculinas juegan un papel importante en el proceso de retención del cadmio en el organismo (Nordberg et al., 1986).

Los resultados mostrados en el caso del cadmio y del plomo indican que existen diferencias sexuales en la

toxicidad inducida por estos metales. En el caso del vanadio también se puede presentar el mismo fenómeno, siendo la toxicidad a la edad prepubertal más alta en machos que en hembras.

---

## DISCUSION Y CONCLUSIONES FINALES

---

Las alteraciones en la reproducción humana es un problema grave. Cada año en países como Estados Unidos hay alrededor de 4 millones de nacimientos, 600,000 abortos espontáneos y 240,000 nacimientos de productos muertos. De los niños nacidos 10% son prematuros, 13% tienen bajo peso al nacimiento y de un 3 a un 7% presentan alguna anomalía visible al nacimiento. Adicionalmente 30,000 de los niños mueren en los primeros meses y 26,000 no sobreviven después del segundo año de vida (Fabro y Scialli, 1985).

Desafortunadamente en países como México, en los que el problema de contaminación ambiental y las alteraciones de reproducción son altos no se cuenta con estadísticas ni estudios confiables.

Las causas que afectan el ciclo reproductivo, y en particular la preñez, no son bien conocidas, sin embargo se sabe que del 100% de recién nacidos con alguna anomalía, el 7.5% se debe a condiciones monogénicas, el 6% a anomalías cromosómicas, un 2% se relaciona con fenómenos como infecciones por virus, un 20% tiene orígenes multifactoriales, de un 2 a un 3% son atribuidos directamente al efecto de contaminantes ambientales y el resto a causas no determinadas totalmente (Fabro y Scialli, 1985).

Las tendencias dentro de los estudios epidemiológicos de las alteraciones del ciclo reproductivo siempre

llevan a separar la acción directa de los agentes químicos sobre el desarrollo y todas aquellas modificaciones que son ocasionadas por genes o cromosomas, o más aún tratar de explicar muchas de ellas por la acción de varios factores al mismo tiempo (multifactoriales), sin reparar en el hecho de que un determinado porcentaje de estas alteraciones genéticas pueden ser ocasionadas por los mismos contaminantes ambientales.

El desarrollo de disciplinas como la Genética Toxicológica y la Toxicología Reproductiva muestran la necesidad de realizar investigaciones encaminadas a estudiar el papel de los agentes químicos y físicos sobre la herencia y reproducción de los organismos, particularmente del hombre.

De los compuestos químicos ambientales, los metales son centro de atención para este tipo de estudios, por un lado por su amplia distribución y múltiples usos, y por el otro debido a su elevada presencia en los ambientes ocupacionales y generales (Carlson et al., 1987; Clarkson et al., 1988), sobre todo porque la toxicología de los metales está ampliamente demostrada (Carlson et al., 1987; Clarkson et al., 1988; Friberg et al., 1986),

Las alteraciones primarias de los metales a nivel celular incluyen efectos a nivel de membranas (cambios en la permeabilidad, etc) o alteraciones en el sistema energético, mientras que a nivel molecular estos elementos son capaces de alterar las proteínas, enzimas, los ácidos nucleicos y la conformación de las nucleoproteínas. De una u otra manera estas alteraciones simple y sencillamente demuestran que los metales alteran el aparato genético de la célula (Sharma y Talukder, 1987).

Los efectos, de la mayoría de los metales sobre la división celular y sobre los cromosomas de lo organismos superiores muestran ciertas características generales compartidas.

Se sabe que a bajas concentraciones, algunos iones metálicos divalentes son capaces de inducir la proli-

feración celular, sin embargo estos mismos metales pueden inducir que el índice mitótico disminuya cuando se incrementa la dosis o el periodo de tratamiento (Skilleter, 1988), mientras que los efectos observados sobre la división celular incluyen alteraciones del huso, lo cual lleva a un arresto en metafase de las células, una detención de la división celular, formación de diplocromosomas, cromosomas pegajosos y poliploidías (Sharma y Talukder, 1987; Cherian, 1985; Kihlman, 1976).

El pentóxido de vanadio es un compuesto metálico que en los últimos 5 años ha despertado el interés de varios grupos de investigación en Genética Toxicológica y Toxicología Reproductiva, debido a su elevado potencial toxicológico (WHO, 1988) y a su gradual acumulación en el ambiente.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que el pentóxido de vanadio no se comporta como muchos de los compuestos metálicos ya estudiados:

1.- No es clastógeno ni modifica la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas, pero si es capaz de incrementar las aberraciones cromosómicas de tipo numérico (poliploidías), efecto que indica la acción del vanadio a nivel del huso mitótico.

2.- Altera el proceso normal de división celular, modifica las frecuencias de asociación de satélites y la tasa de proliferación celular, efectos que puede ser debido a su acción a nivel de bloqueo enzimático o de la síntesis de ADN, ARN o de proteínas.

3.- Es citotóxico, fenómeno evidenciado por la disminución del índice mitótico tanto *in vitro* como *in vivo*.

4.- La frecuencia de reabsorciones similares en el grupo tratado y en el testigo, así como la inducción de retraso en el desarrollo general de los fetos de los grupos tratados indican que el vanadio no es embriotóxico, pero si fetotóxico.

5.- La elevación en las frecuencias de malformaciones fetales en las camadas de hembras tratadas con pentóxido de vanadio muestran que este compuesto puede ser considerado como teratógeno.

Los resultados obtenidos al evaluar el bajo peso de los fetos, el acortamiento de miembros y la reducción en la osificación muestran una posible relación entre los efectos que tiene vanadio sobre el desarrollo y las alteraciones observadas a nivel citogenético.

De acuerdo con Wilson (1977b) la patogénesis de las malformaciones puede reducirse a 5 posibilidades:

- 1) muerte celular (moderada o excesiva)
- 2) fallas en las interacciones celulares
- 3) reducción en la biosíntesis
- 4) alteraciones en los movimientos morfogénicos
- 5) alteración mecánica del tejido

Durante mucho tiempo los agentes citotóxicos se han considerado como un grupo de químicos "Toxicos del Desarrollo" (Palmer y Kaulock, 1987). Estos compuestos alteran al embrión produciendo necrosis ya sea por muerte celular o por alteraciones en el ciclo proliferativo celular. Esto último, sin matar a la célula, puede conducir a la aparición de manifestaciones teratogénicas o alteraciones del desarrollo (Hood, 1989; Bernfield, 1983; Wise y Scott, 1982). De una u otra manera los citotóxicos generalmente producen una disminución del peso fetal, en la talla de los fetos y un retraso en la osificación (Hart et al., 1988)

Aunque los resultados obtenidos no permiten catalogar totalmente al pentóxido de vanadio como agente mutagénico, otros resultados obtenidos dan idea de que puede ser también un inductor de mutaciones puntuales, ya que el pentóxido de vanadio induce mutaciones letales



dominantes. Para poder comprobar esto se requiere realizar algún ensayo específico para mutación.

La integración de los resultado obtenidos en modelos para Geno-toxicidad con los de Repro-toxicidad pueden aportar datos valiosos de la acción de los compuestos químicos sobre los organismos. Sin embargo, el siguiente paso requiere necesariamente del desarrollo modelos o sistemas que permitan evaluar al mismo tiempo ambos efectos, sobre todo porque los existentes evalúan cada uno de los parámetros de manera independiente, sin que se intente realizar una correlación entre los dos.

---

## REFERENCIAS

---

**Aito, A.** (1988) Biological monitoring. En: Biological Monitoring of Toxic Metals. Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G. y Sager, P.R. eds., Plenum Press, New York.

**Alessio, L., Moroni, M. y Dell'Orto, A.** (1988) Biological monitoring of vanadium. En: Biological Monitoring of Toxic Metals. Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G. y Sager, P.R. eds., Plenum Press, New York.

**Altamirano-Losano, M.** (1987) Tinción diferencial de cromátidas hermanas (TDCH) sin Hoechst-33258. IV Reunión Anual de la Sociedad Mexicana de Genética, México, memorias pp. 23-26

**Ames, B.N., Durston, W.E., Yamasaki, E. y Lee, F.D.** (1973) Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 70:2281-2286.

**Andersen, O., Ronne, M. y Nordberg, G.F.** (1983) Effects of inorganic metals salts on chromosome length in human lymphocytes. Hereditas 90:65-70.

**Baroch, E.F.** (1983) Vanadium and vanadium alloys. En: Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley and Sons, New York.

**Beaudoin, A.R.** (1974) Teratogenicity of sodium arsenate in rats. *Teratology* 10:153-158.

**Beijer, R. y Jernelov, A.** (1986) Sources, transport and transformation of metals in the environment. En: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Cap. 4. Friberg, L., Nordberg, G.F. y Vouk, B.V. eds. Elsevier Science Pub. New York.

**Bell, C.F.** (1977) *Quelación de Metales: Principios y Aplicaciones*. El Manual Modeno, México.

**Bernfield, M.** (1983) Mechanisms of congenital malformations. En: *The Biological Basis of Reproductive and Developmental Medicine*. Warshaw, J.B. ed. Elsevier Biomedical, New York.

**Black, D.L. y Marks, T.A.** (1986) Inconsistent use of terminology in animal developmental toxicology studies: A discussion. *Teratology* 33:333-338.

**Brent, R.L.** (1987) Etiology of human birth defects: What are the causes of the large group of birth defects of unknown etiology? En: *Developmental Toxicology: Mechanisms and Risk*. McLachlan, J.A., Pratt, R.M. y Market, C.L. eds. *Brandbury Report No. 26*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York.

**Brusick, D.J.** (1978) The role of short-term testing in carcinogen detection. *Chemosphere* 8:403-417.

**Brusick, D.** (1987) *Principles of Genetic Toxicology*. Plenum Press, New York.

**Byrne, A.R. y Kosta, L.** (1978) Vanadium in foods and in human body fluids and tissues. *Sci. Total Environ.* 10:17-30.

**Canner, P., Clarkson, T.W. y Nordberg, G.F.** (1986) Routes of exposure, dose and metabolism of metals. En: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Cap. 5. Friberg,

L., Nordberg, G.F. y Vouk, B.V. eds. Elsevier Science Pub. New York.

**Canalis, E.** (1979) On the vanadium and tin contents of diet and human blood. *Sci. Total Environ.* **11**:87-90.

**Canalis, E.** (1985) Effect of sodium vanadate on deoxyribonucleic acid and protein synthesis in cultured rat calvariae. *Endocrinol.* **116**:855-862.

**Carpenter, G.** (1981) Vanadate, epidermal growth factor and the stimulation of DNA synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **102**: 1115-1121.

**Carlson, B.L., Ellis, H.V. y McCann, J.L.** (1987) Toxicology and Biological Monitoring of Metals in Humans, Including Feasibility and Need. Lewis Publishers, Inc. Michigan.

**Carlton, B.D., Benke, M.B. y Fisher, G.L.** (1982) Assessment on the teratogenicity of ammonium vanadate using syriam golden hamsters. *Environ. Res.* **29**:256-262.

**Cherian, G.** (1985) Metallothionein and Metal Toxicity, CRC Press, Boca Raton, FL.

**Clarkson, T.W.** (1986) Effects-general principles underlying the toxic action of metals. En: Handbook on the Toxicology of Metals. Cap. 6. Friberg, L., Nordberg, G.F. y Vouk, B.V. eds. Elsevier Science Pub. New York.

**Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G.F. y Sager, P.R.** eds. (1986) Biological Monitoring of Toxic Metals. Plenum Press, New York.

**Clayton, G.D.** (1978) Air pollution. En: Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, Vol. I: General Principles. Clayton, G.D. y Clayton, F.E. eds. John Wiley and Sons, New York.

**Coffin, D.L. y Stokinger, H.E.** (1977) Air pollution. Vol. II. Stern, A.C. ed. Academic Press, New York.

Curtis, D.J. (1974) Acrocentric associations in mongol population, *Humangenetik* 22:17-22

Degraeve, W. (1981) Carcinogenic, teratogenic, and mutagenic effects of cadmium. *Mutation. Res.* 86:115-135.

Deknudt, G.H. y Deminatti, M. (1978) Chromosome studies in human lymphocytes after *in vitro* exposure to metal salts. *Toxicology* 10:67-75.

Deknudt, G.H. y Gerber, G.B. (1979) Chromosomal aberrations in bone marrow cells on mice given a normal o a calcium deficient diet supplemented with various heavy metals. *Mutation. Res.* 68:163- 168.

Duffus, J.M. (1983) *Toxicología Ambiental*. Omega, Barcelona España.

ECSTOC (1983) Identification and Assessment of the Effects of Chemicals on Reproduction and Development (Reproductive Toxicology) Monograph No. 5. Belgium.

Elinder, C.G., Gerhardsson, L. y Oberdoerster, G. (1988) Biological monitoring of toxic metals-overview. En: *Biological Monitoring of Toxic Metals*. Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G. y Sager, P.P. eds. Plenum Press, New York.

English, L.H., Macara, I.G. y Cantley, L.C. (1983) Vanadium stimulates the (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) pump in friend erythroleukemia cells and blocks erythropoiesis. *J. Cell Biol.* 97:1299-1302.

EPA (1986) Guidelines for Exposure Assessment. Fed-Regist., 51 pp. 34042-34054.

Evans, H.J. (1967) The nucleolus, virus infection and trisomy in man. *Nature (London)* 214:361-363.

Evans, H.J. y O'Riordan, M.L. (1975) Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. *Mutation. Res.* 31:135-148.

**Fabro, S. Y Scialli, A.R.** (1985) The role of the obstetrician in the prevention and tratment of birth defects. En: Issues and Reviews in Teratology, Vol. 3. Kalter, H. ed. Plenum Press, New York.

**Falahi-Ardakani, A.** (1984) Contamination of environment with heavy metals emitted from automobiles. Ecotox. Environ. Safety 8: 152-161.

**Farah, S.B.** (1982) Organizadores e alteracoes cromosomicas na especie humana. Ci. Cult. 34:474-479.

**Ferguson-Smith, M.A. y Handmarker, S.D.** (1961) Observations on the satellited human chromosomes. Lancet 25:638-640.

**Francis, E.E.** (1989) U.S. Environmental Protection Agency procedures and policies to estimate risk of injury to the male reproductive system. En: Sperm Measures and Reproductive Success. Institute for Health Policy Analysis. Forum on Science, Health, and Environmental Risk Assessment. Burger, E.J., Tardiff, R.G., Scialli, A.R. y Zenick, H. eds. Alan R. Liss Inc. New York.

**Friberg, L., Nordberg, G.F. y Vouk, V. eds.** (1986) Handbook on the Toxicology of Metals, Vol. I. Elsevier Publishers New York.

**Fujita, M., Fujimoto, T. y Hirata, S.** (1978) Embryotoxic effects of methylmercuric chloride administered to mice and rats during organogenesis. Teratology 18:353-366.

**Gerhardsson, G.** (1988) The need and feasibility of environmental and biological monitoring in occupational health. En: Biological Monitoring of Toxic Metals. Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G. y Sager, P.P. eds. Plenum Press, New York.

**Giavini, E., Vismara, C. y Broccia, M.L.** (1985) Effects of methylmercuric chloride administered to

pregnant rats during the preimplantation period. *Ecotox. Environ. Safety* 9:198-195.

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

Goldsmith, J.R. (1986) Effects on human health. En: *Air Pollution. Vol. VI. Supplement to Air Pollutant, their Transformation, Transport, and Effects.* Academic Press, New York.

Gómez-Arroyo, S., Altamirano, M. y Villalobos-Pietrini, R. (1981) Sister chromatid exchanges induced by some chromium compounds in human lymphocytes *in vitro*. *Mutation. Res.* 90:425-431.

Goodman, E.M. (1980) Reproduction. En: *Medical Physiology, Vol. 2 Cap. 65.* Mountcastle, V.B. ed. The C.V. Mosby Company, St. Louis, USA.

Grædel, T.E., Hawkins, D.T. y Claxton, L.D. (1986) *Atmospheric Chemical Compounds, Sources, Occurrence, and Bioassay.* Academic Press, New York.

Gusmán-Toledano, R. (1986) Defectos Congénitos en el Recién Nacido. Trillas, México.

Hansen, R. y Stern, M.R. (1983) A survey of metal-induced mutagenicity *in vitro*. *Toxicol. Environ. Chem.* 9:87-91.

Harden, D.G. (1961) The chromosomes. En: *Recent Advances in Human Genetics.* Penrose, L.S. ed. Little Brown, Boston, MA.

Hart, R.W., Setlow, R.B. y Woodhead, A.D. (1977) Evidence that pyrimidine dimers in DNA can give rise to tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:5574-5578.

Hart, W.L., Reynolds, R.C., Krasavage, W.J., Ely, T.S., Bell, R.E. y Raleigh, R.L. (1988) Evaluation of developmental toxicity data: A discussion of some pertinent factors and a proposal. Risk Anal. 8:59-69.

Hartman, D.E. (1989) Neuropsychological Toxicology: Identification and Assessment of Human Neurotoxic Syndromes. Pergamon Press, New York.

Hood, R.D. (1990) Mechanisms of developmental toxicity. En: Developmental Toxicology: Risk Assessment and the Future. Hood, R.D. ed. Van Nostrand Reinhold, New York.

Hook, E.B. (1983) Contribution of chromosomal abnormalities to human morbidity and mortality and some comments upon surveillance of chromosome mutation rates. Mutation. Res. 119:381-423.

Hook, E.B. (1985) The impact of aneuploidy upon public health: Mortality and morbidity associated with human chromosome abnormalities. En: Aneuploidy: Etiology and Mechanisms. Dellarco, V.L., Voytek, P.E. y Hollaender, A. eds. Plenum Press, New York.

Hopkins, L.L. y Mohr, H.E. (1974) Vanadium as an essential nutrient. Fed. Proc. 33:1173-1175.

Hori, C. y Oka, T. (1980) Vanadate enhances the stimulatory action of insulin on DNA synthesis in cultured mouse mammalian glands. Biochem. Biophys. Acta 610:235-240.

Houge, C.J.R. (1984) The effect of common exposures on reproductive outcomes. Teratog. Carcinog. Mutag. 4:45-57.

Houghton, J.A. (1979) Relationship between satellite association and the occurrence of non-disjunction in man. Mutation. Res. 61:103-114.



**Hughes, M.W.** (1972) *The Inorganic Chemistry of Biological Processes*. John Wiley and Sons, New York.

**IARC** (1987) *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans genetic related effects. An updating of selected IARC monographs from volumes 1 to 42, Supp. 6.*

**Ivett, J.L. y Tice, R.R.** (1982) Average generation time: A new method of analysis and quantitation of cellular proliferating kinetics. *Environ. Mutagen.* 4:358.

**Jones, M.M. y Basinger, M.A.** (1983) Chelate antidotes for sodium vanadate and vanadyl intoxication in mice. *J. Toxicol. Environm. Health* 12:749-756.

**Jurand, A.** (1988) Teratogenic activity of lithium carbonate: An experiment update. *Teratology* 38:101-111.

**Kanematsu, W., Hara, M. y Kada, T.** (1980) Rec-Assay and mutagenicity studies on metal compounds. *Mutation Res.* 77:109-116.

**Kasantis, G. y Lilly, L.J.** (1986) Mutagenic and teratogenic effects of metals. En: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Cap. 14. Friberg, L., Nordberg, G.F. y Vouk, B.V. eds. Elsevier Science Pub. New York.

**Kihlman, S.A.** (1976). *Actions of Chemicals on Dividing Cells*. Prentice-Hall, Inc. New York.

**Kirsch-Volders, M., Hans, L., Verschaeve, L., Alexander, A., Driessen, M., Poma, E. y Susanne, C.** (1978) Modification of human acrocentric associations after *in vivo* exposure to environmental mutagens. *Acta Antropogen.* 2:1-16.

**Korf, B.R. y Diacumakos, E.G.** (1977) Random arrangement of mitotic chromosomes in radial metaphase of the Indian muntjac. *Cytogenet. Cell Genet.* 18:335-343.

Lahav, M., Rennert, E. y Barsilai, D. (1986) Inhibition by vanadate of cyclic AMP production in rat corpora lutea incubated in vitro. *Life Sci.* **39**:2557-2564.

Latt, S.A., Allen, J., Bloom, S.E., Carrano, A., Falke, E., Kram, D., Schneider, E., Kram, D., Tice, R., Whitfield, B., y Wolff, S. (1981) Sister chromatid exchanges: A report of the gene-tox program. *Mutation Res.* **87**:17-62.

Lenhinger, A.L. (1982) *Bioquímica, Omega, Barcelona España.*

Macara, I.G. (1980) Vanadium-An element in search of a role. *Trends Biochem. Sci.* April, 92-94.

Malling, H.V. y Wasson, J.S. (1977) Action of mutagenic agents. En: *Handbook of Teratology*, Vol. 1. Wilson, J.G. y Fraser, F.C. eds. Plenum Press, New York.

Manning, W.J. y Feder, W.A. (1980) *Biomonitoring air pollutants with plants.* Applied Scientific Pub. LTD., London.

Manson, J.M. (1987) Biological considerations for risk assessment in developmental toxicology. En: *Developmental Toxicology: Mechanisms and Risk.* McLachlan, J.A., Pratt, R.M. y Market, C.L. eds. *Brandbury Report No. 26*, Cold Spring Harbour Laboratory, New York.

Mattai, J.F., Mattai, M.G., Ayme, S. y Giraud, F. (1974) Acrocentric associations in parents of mongol children. *Humangenetik* **25**:29-48.

Mattison, D. (1983) *Reproductive and Developmental Toxicity of Metals.* Clarkson, T.W., Nordberg, G.F. y Sager, P.R. eds. Plenum Press, New York.

Montgomery, R.R. y Reinhardt, Ch. T. (1980) *Industrial toxicology.* En: *Survey of Contemporary Toxicology*, Vol. 1. Tu, A.T. ed. John Wiley and Sons, New York.

**Morales, R.P.** (1980) Analysis *in vivo* of sister chromatid exchanges in mouse bone marrow and salivary gland cells. *Mutation. Res.* 74:61-69.

**Moreira, L.M.D. y Ferrari, I.** (1977) Satellite association in two trisomic cases of Down syndrome and in one healthy mother with acrocentric variants. *Rev. Bras.* 10:187-191.

**Morrall, F.R., Jimeno, E. y Molera, P.** (1982) *Metalurgia General. Tomo I. Reverté, S.A., México.*

**Moutschen, J.** (1985) *Introduction to Genetic Toxicology. John Wiley and Sons, New York.*

**Muller, G., Bernuzzi, V., Desor, D., Mutin, M.F., Burnel, D. y Lehr, P.R.** (1990) Developmental alterations in offspring of female rats orally intoxicated by aluminium lactate at different gestation periods. *Teratology* 42:253-261.

**Mitchinick, O., Lisker, R. y Babianski, V.** (1988) Programa Mexicano de "Registro y Vigilancia Epidemiológica de Malformaciones Congénitas Externas". *Salud Pública de México* 30:88-100.

**NAS** (1974) *Vanadium. National Academy of Sciences, US., Washington D.C.*

**Navas, P., Hidalgo, A. y García-Berduge, G.** (1986) Cytokinesis in onions roots: Inhibition by vanadate and caffeine. *Experientia* 42:437-439.

**Nazarat, E.R.S.** (1976) Efeito do cloreto de cobalto em nao-disjuncao. *Ci. Cult.* 28:1472-1475.

**Nielsen, F.H. y Ollerich, D.A.** (1973) Studies on a vanadium deficiency in chicks. *Fed. Proc.* 32:929-932.

**Milsson, C., Hansson, A. y Milsson, G.** (1975) Influence of thyroid hormones on satellite association

in man and the origin of chromosome abnormalities. *Hereditas* 80:157-166.

**Nordberg, G.F., Parisec, J., Parshagen, G. y Gerhardsson, L.** (1986) Factors influencing effects and dose-response relationships of metals. En: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Cap. 8. Friberg, L., Nordberg, G.F. y Vouk, B.V. eds. Elsevier Science Pub. New York.

**Ohno, H., Hanacka, F. y Yamada, M.** (1982) Inducibility of sister-chromatid exchanges by heavy-metal ions. *Mutation. Res.* 104: 141-145.

**Ohno, S., Trujillo, J.M., Kaplan, W.D. y Kinosita, R.** (1961) Nucleolus organizers in the causation of chromosomal anomalies in man. *Lancet*, 11, 123-125.

**Ortiz-Monasterio, F.F., Cortinas de Nava, C. y Maffey-García, L.** (1987) Manejo de los Desechos Industriales Peligrosos en México. *Universo Veintiuno, México*.

**Palmer, A.K.** (1980) Teratology and safety evaluation. En: *The Principles and Methods in Modern Toxicology*. Galli, C.L., Murphy, S.D. y Paoletti, R. eds. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, New York.

**Palmer, A.K. y Kaulock, R.J.** (1987) Consensus workshop on the evaluation of maternal and developmental toxicity. Work Group II. Report. *Study Design Considerations. Teratog. Carcinog. Mutag.* 7:311-319.

**Pérez-D'Gregorio, R.E. y Miller, R.K.** (1988) Teratogenicity of tellurium dioxide: Prenatal assessment. *Teratology* 37:307-316.

**Ferry, P. y Evans, H.J.** (1975) Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* 256:121-125.

**Persaud, T.V.W.** (1979) *Prenatal Pathology: Fetal Medicine*. Charles C. Thomas Pub. Springfield, USA.

**Phillips, J.M.** (1980) Chemical pollutants in water. En: Survey of Contemporary Toxicology. Tu, A.T. ed. John Wiley and Sons, New York.

**Phillips, T.D., Mechay, B.R. y Heidelbaugh, M.D.** (1983) Vanadium: Chemistry and the kidney. Fed. Proc. 42:2969-2973.

**Poland, A. y Knutson, J.C.** (1982) Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 22:517-554.

**Rom, W.W.** (1976) Effects of lead on the female and reproduction: A review. Mt. Sin. J. Med. 43:542-552.

**Roschin, A.V.** (1967) Toxicology of vanadium compounds used in modern industry. Water Res. 32:26-32.

**Roschin, A.V., Orshonikidse, E. y Shalganova, I.V.** (1980) Vanadium-toxicity, metabolism, carrier state. J.Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. 24:377-383.

**Rosenbaum, J.B.** (1983) Vanadium compounds: En: Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley and Sons, New York.

**Rosenkrans, W. y Holzer, S.** (1972) Satellite association. A possible cause of chromosomal aberrations. Humangenetik 16:147- 150.

**Sabbioni, E., Clerici, L. y Brasselli, A.** (1983) Different effects of vanadium ions on some DNA-metabolizing enzymes. J. Toxicol. Environ. Health 12:737-748.

**Sager, F.R., Clarkson, T.W. y Nordberg, G.F.** (1986) Reproductive and developmental toxicity of metals. En: Handbook on the Toxicology of Metals. Cap. 15. Friberg, L., Nordberg, G.F. y Vouk, B.V. eds. Elsevier Science Pub. New York.

**Sario, M.** (1984) Reproduction and exposure to lead. Ann. Acad. Med. 13:383-388.

**Saric, M., Prpic-Majic, D., Kostial, K. y Piasek, M.** (1987) Exposure to lead and reproduction. En: Selected Aspects of Exposure to Heavy Metals in the Environment Monitors, Indicators, and High Risk Groups. National Academic Press, Washington, D.C.

**Schwartz, K. y Milne, D.B.** (1971) Growth effects of vanadium in the rat. *Science* 174:426-428.

**Sharma, A. y Talukder, G.** (1987) Effects of metals on chromosomes of higher organisms. *Environ. Mutagen.* 9:191-226.

**Simson, E., Schneider, E. y Fuhrmann, G.F.** (1982) Vanadium increased selective K<sup>+</sup> permeability in human erythrocytes. *Toxicology* 22:272-278.

**Singh, O.P.** (1979) Effects of certain chemical pollutants on plant chromosomes, PhD thesis, University of Calcutta.

**Singh, O.P. y Sharma, A.** (1981) Effects of certain metallic pollutants in plants genetic system: A review. *Nucleus* 23:15-29.

**Sisler, H.H., Dresdner, R.D. y Mooney, W.T.** (1980) *Chemistry: A Systematic Approach.* Oxford University Press, Oxford.

**Skilleter, D.W.** (1988) Selective cellular and molecular effects of beryllium on lymphocytes. En: *Carcinogenic and Mutagenic Metal Compounds 2.* Merian, E., Frei, R.W., Hardi, W. y Schlatter, Ch. Eds. Gordon and Breach Science Publishers, New York.

**Smith, J.B.** (1983) Vanadium ions stimulate DNA synthesis in Swiss mouse 3T3 and 3T6 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80:6162- 6166.

**Sorsa, M., Mamminki, K. y Vainio, H.** (1982) Biological monitoring of exposure to chemical mutagens

in the occupational environment. Teratog. Carcinog. Mutag. 2:137-150.

**Stoker, H.S.** (1989) Chemistry: A Science for Today. MacMillan Pub. Co. New York.

**Stoker, H.S. y Walker, E.B.** (1988) Fundaments of Chemistry: General, Organic, and Biological. Allyn and Cacon Inc., Boston.

**Stokinger, H.E.** (1981) The metals. En: Pattys Industrial Hygiene and Toxicology, Vol. 2A. Clayton, G.D. y Clayton, F.E. eds. John Wiley and Sons, New York.

**Stowe, H.D. y Goyer, F.A.** (1971) The reproductive ability and progeny of F1 lead toxic rats. Fertil. Steril. 22:755-760.

**Strasia, C.A.** (1971) Vanadium: Essentiality and toxicity in the laboratory rat. Michigan Purdue, University., Ann Arbor.

**Sun, M.** (1987) Toxicity of Vanadium and its Environmetal Health Standar. University of medical Sciences, China.

**Thomas, J.A. y Brogan, C.W.** (1983) Some actions of lead on the sperm and on the male reproductive system. Am. J. Ind. Med. 4: 127-134.

**Tsuchiya, N., Shima, S. Furita, H., Ito, T., Kato, Y. y Tachikawa, S.** (1987) Effects of maternal exposure to six heavy metals on fetal development. Bull. Environ. Conatn. Toxicol. 38:580-587.

**Turner, D.B.** (1986) The transport of pollutants. En: Air Pollution, Vol. VI. Stern, A.C. ed. Academic Press. New York.

**Ureos, P.** (1986) The pollutants. En: Air Pollution, Vol. VI. Stern, A.C. ed. Academic Press. New York.

**Vouk, V.** (1986) General chemistry of metals. En: Handbook on the Toxicology of Metals. Cap. . Friberg, L., Nordberg, G.F. y Vouk, B.V. eds. Elsevier Science Pub. New York.

**Waters, M.D.** (1977) Toxicology of vanadium. Adv. Mod. Toxicol. 2:19-31.

**WHO** (1984) Principles for Evaluating Health Risks to Progeny Associated with Exposure to Chemicals During Pregnancy. Environmental Health Criteria No. 30, Geneva.

**WHO** (1988) Vanadium. Environmental Health Criteria No. 80, Geneva.

**Wide, M.** (1984) Effect of short-term exposure to five industrial metals on embryonic and fetal development of the mouse. Environ. Res. 33:47-53.

**Wilson, J.G.** (1977a) Environmental chemicals. En: Handbook of Teratology, Vol. 1. General Principles and Etiology. Wilson, J.G. y Fraser, F.C. eds. Plenum Press, New York.

**Wilson, J.G.** (1977b) Current status of teratology. En: Handbook of Teratology, Vol. 1. General Principles and Etiology. Wilson, J.G. y Fraser, F.C. eds. Plenum Press, New York.

**Wise, L.D. y Scott, W.J.** (1982) Incorporation of 5-Bromo-2-deoxyuridine into mesenchymal limb-bud cells destined to die: Relationship to polydactyly introduction in rats. J. Embryol. Exp. Morph. 72:125-141.

**Wuthier, R.E. y Register, T.C.** (1985) Role of alkaline phosphatase, a polyfunctional enzyme, in mineralizing tissues. En: The Chemistry and Biology of Mineralizing Tissues. Butler, W.T. Ed. Ebsco Media, Birmingham.



**Yu, H.S. y Chan, S.T.H.** (1988) Zinc amelioration of cadmium toxicity on preimplantation mouse zygotes *in vitro*. *Teratology* **37**:13-19.

**Sajac, C.S. y Abel, E.L.** (1990) Lack of lead effects on fetal development and offspring learning when combined with alcohol in the long-evans rat. *Teratology* **41**:33-41.

**Sansveld, L.J.D. y Waller, D.P.** (1989) Nonhormonal mediation of male reproductive tract damage: Data from contraceptive drug research. En: *Sperm Measures and Reproductive Success*. Institute for Health Policy Analysis. Forum on Science, Health, and Environmental Risk Assessment. Burger, E.J., Tardiff, R.G., Scialli, A.R. y Zenick, H. eds. Alan R. Liss Inc. New York.

**Sankl, H. y Sang, K.D.** (1978) Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes. V. The association pattern of acrocentric chromosomes in human meningiomas after loss of G and D chromosomes. *Hum. Genet.* **40**:149-155.

**Sellweger, H., Abbo, G. y Cuany, R.** (1966) Satellite association and translocation mongolism. *J. Med. Genet.* **3**:186-189.

**Keller, W.E., Gladney, E.S. y Duce, R.A.** (1974) Atmospheric concentration and sources of trace metals at the south pole. *Science* **183**:198-200.

**Sundahl, S.S.** (1989) *Chemistry*. D.C. Health and Company, Lexington.

MUTLET 0392

## Chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges, cell-cycle kinetics and satellite associations in human lymphocyte cultures exposed to vanadium pentoxide

R.E. Roldán and L.M.A. Altamirano

*Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, Campo II, Escuela Nacional de Estudios Profesionales-Zaragoza, UNAM, Mexico 15000 D.F. (Mexico)*

(Accepted 3 May 1990)

**Keywords:** Sister-chromatid exchange; Chromosomal aberration; Cell-cycle kinetics; Satellite associations; Vanadium pentoxide

### Summary

Treatment of human lymphocytes with vanadium pentoxide ( $V_2O_5$ ) was not found to increase the frequency of structural chromosomal aberrations (CA) and sister-chromatid exchanges (SCE). However,  $V_2O_5$  significantly increased polyploid cell frequency; also, the mitotic index (MI) was significantly decreased, and the average generation time (AGT) was significantly increased. Finally, the frequency of cells with satellite associations (SA), the frequency of SA per cell, and the frequency of chromosomes associated increased in treated cultures.

Vanadium is widely distributed in the earth's crust, and has been considered as a possible essential trace element (Hopkins and Mohr, 1974). The lithosphere contains 0.07 wt % vanadium and a few deposits contain more than 1-2 wt %. Vanadium occurs in uranium-bearing minerals, in copper, lead, and zinc vanadates and is a constituent of titaniferous magnetites (Baroch, 1983; Rosenbaum, 1983). Most of the vanadium reserves are in deposits in which the vanadium is a by-

product or co-product with other minerals, including iron, titanium, and phosphate (Baroch, 1983; WHO, 1988). However, vanadium is the major trace element in fossil fuels (Baroch, 1983; Holdway et al., 1983; NAS, 1974; Rosenbaum, 1983), and combustion of these materials provides an appreciable source of vanadium in the environment. Increased concentrations of this metal were observed in soil and plants near industrial operations (Gough and Severson, 1976; Parker et al., 1980). Occupational toxicity of vanadium is well documented (Carson et al., 1987; Stockinger, 1981; WHO, 1988). Intoxication in humans arises primarily from the inhalation of dust containing vanadium pentoxide ( $V_2O_5$ ), and causes disease

Correspondence: M.A.L. Altamirano, Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, Campo II, ENEP-Zaragoza, UNAM, A.P. 9-620, Mexico 15000 D.F. (Mexico).

such as rhinitis, pharyngitis, chronic cough, tracheobronchitis and bronchopneumonia (Carson et al., 1987; Faulkner-Hudson, 1964; Rosenbaum, 1983; Sharma et al., 1987; WHO, 1988).

The toxicity of vanadium compounds depends on their chemical form; toxicity increases with valence (Sharma et al., 1987). Thus, the most toxic form of vanadium for mammals is the pentavalent form (Roschin, 1967; Sharma et al., 1987). Vanadium affects several metabolic processes. It is a potent inhibitor of many enzymes, including ATPases, phosphatases, kinases, and ribonucleases (Jones and Basinger, 1983; Sabbioni et al., 1983). Destruction of cysteine and cystine is increased in the presence of elevated levels of vanadium (Carson et al., 1987).  $V^{5+}$  has been shown to inhibit or enhance DNA synthesis in vitro, depending on media concentration (Carpenter, 1981; Smith, 1983).

The data on the mutagenic potential of vanadium in bacterial systems are inconclusive. There are negative and positive results in *E. coli* and *Salmonella typhimurium* tests (Graedel et al., 1986; Hansen and Stern, 1984; WHO, 1988). In a study in human peripheral blood leukocytes using fluorescence analysis of DNA unwinding (FADU), vanadyl chloride at a concentration of  $5 \times 10^{-5}$  mole failed to induce DNA damage (strand breaks) (McLean et al., 1982). In *Allium cepa* exposed to vanadium in the pentavalent form, lower doses poisoned the spindle (Sing and Sharma, 1980) while higher doses induced pycnosis and loss of chromatin matter (Sing and Sharma, 1980), and binucleated cells (Navas et al., 1986). Few studies on the chromosome effects in vivo and in vitro mammalian systems have been conducted (Carson et al., 1987; Giri et al., 1979; Graedel et al., 1986; Hansen and Stern, 1984; NIOSH, 1977; WHO, 1988).

Because of the wide distribution of vanadium and the lack of mutagenic information in mammalian cells we evaluated its genotoxic effects in human lymphocytes in culture using structural chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges as endpoints.

## Material and methods

Lymphocyte cultures were prepared by adding 8 drops of heparinized blood from a non-smoking healthy male, 28 years old, to 4.25 ml of McCoy's 5A medium (Microlab, Mexico) and 0.25 ml of phytohemagglutinin M (Microlab, Mexico). The cultures were incubated for 72 h at 37°C. 24 h after initiation, 5-bromodeoxyuridine (BrdU) (Sigma) was added to the cultures at a final concentration of 5 µg/ml. Vanadium pentoxide (dissolved in distilled water) was added at concentrations of 2, 4, and 6 µg/ml (selected on the basis of preliminary experiments). At 70 h of incubation, 0.4 µg/ml of colchicine (Merck) was added. 2 h later the cells were harvested by centrifugation, treated with hypotonic shock, and fixed. The slides were made by dropping single drops of the cell suspension, air-drying, staining with Hoechst-33258, immersed in KCl (0.075 M) and irradiating with UV light. These slides were then incubated in 2 × SSC and stained with Giemsa. The same healthy blood donor was used in both the experiment and its replicate. All the slides were coded before analysis.

For each concentration and each experiment a minimum of 100 well-spread first-division metaphases were analyzed for structural and numerical aberrations, 90 metaphases were analyzed for satellite associations, 1000 cells were analyzed for mitotic index (MI). SCE was analyzed in 60 second-division mitoses. The types of aberrations scored included chromatid-type aberrations such as chromatid and isochromatid gaps, chromatid breaks, and chromatid interchanges, and chromosome-type aberrations such as breaks, and rings. Numerical aberrations scored included only polyploidy. The average generation time (AGT) was calculated by the method proposed by Ivett and Tice (1982).

## Results and discussion

The frequency of structural chromosomal aberrations was not increased in peripheral blood lymphocytes cultured in the presence of vanadium pentoxide. In the control the frequency of struc-

tural chromosomal aberrations was 1.3% (3/226), while 2.2% (5/224) were observed at 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 2.0% (4/200) at 4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , and 0.4% (1/218) at 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Nevertheless, the treatment with vanadium produced a significant increase in the frequency of polyploid cells. While in the control only 1.7% (4/226) of the cells were polyploid, in the presence of vanadium polyploidy frequencies were 4.4% (10/224) at 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 4.0% (8/200) at 4  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and 4.6% (10/218) at 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (in all cases  $P < 0.05$ , chi-square test). The negative observations on the ability of vanadium to induce chromosome aberrations confirm previous reports (Giri et al., 1979; Hansen and Stern, 1984; Sharma and Talukder, 1987; WHO, 1988). On the other hand, the data on polyploidy induction are in agreement with the observations of Singh (1979) that low doses of vanadium in the pentoxide form poison the spindle in *Allium cepa*.

The effect of metals on cell division include spindle disturbances, leading to metaphase arrest, stathmokinesis, diplochromatid formation, chromosome lagging, polyploidy, and ultimately a decrease in the mitotic index (Sharma and Talukder, 1987). Some of these responses may be attributed to the affinity of metals for sulfur ligands and consequently for the spindle proteins (Cherian, 1985).

TABLE 1  
MITOTIC INDEX, SISTER-CHROMATID EXCHANGES, AND AVERAGE GENERATION TIME IN HUMAN LYMPHOCYTES TREATED WITH VANADIUM PENTOXIDE

Concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MI <sup>a</sup> (%)	SCE/cell <sup>b</sup> X $\pm$ SE	AGT (h) <sup>c</sup> X $\pm$ SD
Control	2.70	4.97 $\pm$ 0.42	22.85 $\pm$ 0.212
2	2.80	5.89 $\pm$ 0.34	23.07 $\pm$ 0.838
4	1.12*	4.32 $\pm$ 0.47	29.53 $\pm$ 0.950**
6	1.14*	4.46 $\pm$ 0.47	27.60 $\pm$ 0.993**

Values are means of 2 independent experiments.

<sup>a</sup> Percent of mitoses in 1000 cells.

<sup>b</sup> Sixty cells were analyzed.

<sup>c</sup> One hundred metaphases were analyzed.

\*  $P < 0.05$  (Z test).

\*\*  $P < 0.05$  (chi-square test).

The means for the MI and AGT are given in Table 1. The MI is significantly decreased in cells treated with 4 or 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of  $\text{V}_2\text{O}_5$ , whereas the AGT is significantly increased at the same concentrations.

The induction of SCE by a number of different metals is well-documented (Gómez-Arroyo et al., 1981; Hansen and Stern, 1984; IARC, 1987; Ohno et al., 1982). Nevertheless, induction of SCE was not observed in human lymphocytes after treatment with vanadium pentoxide (Table 1).

The total numbers of cells with at least one SA complex, of SA complexes, and of chromosomes participating in the SA formation are presented in Table 2. Our results show that in lymphocyte cultures treated with  $\text{V}_2\text{O}_5$  (4 or 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), the 3 endpoints increased significantly. The chromosomes that are involved in the organization of the nucleolus during interphase and prophase can still remain associated with each other during metaphase after the disappearance of the nucleolus (Capoa et al., 1978). The phenomenon of SA involves a specific position of the satellite chromosomes with their satellites directed towards each other, and was first observed in mitotic human chromosomes (Ferguson-Smith and Handmaker, 1961; Harnden, 1961; Ohno et al., 1961). The literature reports an increase in satellite association in hyperthyroid patients (Nilsson et al., 1975), in meningioma cells, in parents of children with Down's syndrome (Curtis, 1974; Zankl and Zang, 1978), in cells from individuals exposed to X-rays

TABLE 2  
NUMBER OF CELLS WITH SATELLITE ASSOCIATIONS (AS), TOTAL ASSOCIATION AND TOTAL OF CHROMOSOMES ASSOCIATED IN CULTURES TREATED WITH VANADIUM PENTOXIDE

Concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Cells with AS	Total as complex	Total chromosomes associated
Control	79/100	94	198
2	99/100	120	260
4	114/100*	144*	362**
6	127/100**	160*	376***

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.025$ ; \*\*\*  $P < 0.01$  (chi-square test).

and after *in vitro*  $\text{CoCl}_2$  treatments (Nazaret, 1976; Farah, 1982). A decrease in satellite association was observed after *in vivo* exposure to low doses of phenylmercury acetate, inorganic lead, and depomedroxyprogesterone acetate (Kirsch-Volders et al., 1978).

A high incidence of satellite association has often been considered as predisposing to an increased tendency to non-disjunction in satellited chromosomes and thus the induction of D and G trisomies (Houghton, 1979; Rosenkranz and Holzer, 1972). Several investigators have reported cases of increased satellite association in families in which such trisomies occur (Evans, 1967; Mattei et al., 1974; Moreira and Ferrari, 1977; Zellweger et al., 1966).

Most of the published studies indicate that the association behavior of the acrocentric chromosomes results from either functional homology, molecular homology, intrachromosomal connecting fibers or somatic pairing (Korf and Diacumakos, 1977). Indeed, for chemical mutagens, either a direct mutagenic effect on the DNA or an indirect mutagenic effect via the spindle tubulin or/and via enzymatic modifications must be considered. These facts should be kept in mind in order to understand modifications in the association frequencies of acrocentric chromosomes (Kirsch-Volders et al., 1978).

Our data show that treatment of human lymphocytes with  $\text{V}_2\text{O}_5$  does not induce CA or SCE. However, the treatment did affect cell division and the structure and behavior of the spindle apparatus. The mechanism of interaction between vanadium and macromolecules is not known. Experimentally observed changes in the concentration of -SH groups and cystine, disturbances in the metabolism of sulfur-containing, glucogen-forming, and keto-forming amino acids, in RNA and DNA synthesis, and in cholesterol metabolism, indicate that vanadium possesses a broad spectrum of action (Rocchia, 1967; WHO, 1968).

The different *in vitro* and *in vivo* mutagenic activities of the metals emphasize the complexity of metal mutagenesis, in that no single mechanism can explain the variety of effects of different metal

compounds in cells (Zakour and Glickman, 1984).

#### Acknowledgements

We are grateful to Drs. P. Ostrosky and M. Betancourt for their valuable comments and critical reading.

#### References

- Baroch, E.F. (1983) Vanadium and vanadium alloys, in: *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 23, John Wiley and Sons, New York pp. 673-687.
- Capoa, A., M. Ferraro, F. Menendez, C. Mostacci, F. Polliccia and A. Rocchi (1978) Ag staining of the nucleolus organizer (NO) and its relationship to satellite association, *Hum. Genet.*, **44**, 71-77.
- Carpenter, G. (1981) Vanadate, epidermal growth factor and the stimulation of DNA synthesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **102**, 1115-1121.
- Carson, B.L., H.V. Ellis and J.L. McCann (1967) *Toxicology and Biological Monitoring of Metals in Humans, Including Feasibility and Need*, Lewis, pp. 276-282.
- Cherian, G. (1985) *Metallothionein and Metal Toxicity*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Curtis, D.J. (1974) Acrocentric associations in mongol populations, *Humangenetik*, **22**, 17-22.
- Evans, H.J. (1967) The nucleolus, virus infection and trisomy in man, *Nature (London)*, **214**, 361-363.
- Farah, S.B. (1982) *Organizadores e aferosomas cromossomiais em espécies humanas*, *Ci. Cult.*, **34**, 474-479.
- Faulkner-Hudson, T.G. (1964) *Vanadium: Toxicology and Biological Significance*, Elsevier, New York, p. 135.
- Ferguson-Smith, M.A., and S.D. Handmarsh (1961) Observations on the satellited human chromosome, *Lancet*, **23**, 638-640.
- Giri, A.K., R. Sanjay, A. Sharma and O. Tahshir (1979) Cytological and cytochemical changes induced through certain heavy metals on mammalian systems, *Natl. Acad. Sci. Lett.*, **2**, 291-294.
- Gómez-Arroyo, S., M. Alamirano and R. Villalobos-Pietrali (1981) Sister chromatid exchange induced by some chromium compounds in human lymphocytes *in vitro*, *Mutation Res.*, **98**, 425-431.
- Gough, L.P., and R.C. Severson (1976) Impact of polar source anions from phosphate processing on the element content of plants and soils, Soda Springs, Idaho, *Trace Subst. Env. Health*, **10**, 225-233.
- Orsted, T.E., D.T. Hawkins and D.L. Clanton (1980) *Atmospheric Chemical Compounds, Sources, Occurrence, and Metastay*, Academic Press, New York.

- Hansen, K., and R. Stern (1984) A survey of metal-induced mutagenicity in vitro and in vivo. *Toxicol. Environ. Chem.*, 9, 87-91.
- Harden, D.G. (1961) The chromosomes, in: L.S. Penrose (Ed.), *Recent Advances in Human Genetics*, Little Brown, Boston, MA, pp. 19-38.
- Holdway, D.A., J.B. Sprague and J.G. Dick (1983) Bioconcentration of vanadium in American flagfish over one reproductive cycle. *Water Res.*, 17, 937-941.
- Hopkins, L.L., and H.E. Mohr (1974) Vanadium as an essential nutrient. *Fed. Proc.*, 33, 1173-1175.
- Houghton, J.A. (1979) Relationship between satellite association and the occurrence of non-disjunction in man. *Mutation Res.*, 61, 103-114.
- IARC (1987) Monograph on The Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Suppl. 6, IARC, Lyon.
- Ivan, J.L., and R.P. Tice (1962) Average generation time: a new method of analysis and quantitation of cellular proliferation kinetics. *Environ. Mutagen.*, 4, 358 (abstract).
- Jones, M.M., and M.A. Batinger (1963) Chelate antidotes for sodium vanadate and vanadyl sulfate intoxication in mice. *J. Toxicol. Environ. Health*, 12, 749-756.
- Kirsch-Volders, M., L. Hens, L. Verschaeve, A. Alexander, M. Driess, K. Poma and C. Susanne (1978) Modification of human acrocentric associations after in vivo exposure to environmental mutagens. *Acta Antropogen.*, 2, 1-16.
- Korf, B.R., and E.G. Diacumakos (1977) Random arrangement of mitotic chromosomes in radial metaphase of the Indian muntjac. *Cytogenet. Cell Genet.*, 19, 333-343.
- Manni, J.F., M.G. Mattei, S. Ayme and F. Giraud (1974) Acrocentric associations in parents of mongol children. *Humangenetik*, 25, 29-48.
- McLenn, J.R., R.S. McWilliams, J.G. Kaplan and H.C. Birnbaum (1982) Rapid detection of DNA strand breaks in human peripheral blood cells and animal organs following treatment with physical and chemical agents, in: K.C. Bora, G.R. Douglas and E.R. Neumann (Eds.), *Chemical Mutagenesis, Human Population Monitoring, and Genetic Risk Assessment*, Elsevier, New York, p. 137.
- Morava, L.M.D., and I. Ferrari (1977) Satellite association in two uterine cases of Down's syndrome and in one healthy mother with acrocentric variants. *Rev. Bras.*, 10, 187-191.
- NAS (1974) *Vanadium*, National Academy of Sciences, Washington DC.
- Nowa, P., A. Hladko and G. Garcia-Herdugo (1986) Cytokinesis in catkins roots: inhibition by vanadate and cadfate. *Experientia*, 42, 437-439.
- Nunes, H.R.S. (1976) Efeito do charuto de cobalto em neo-plasmas. *Cl. Cult.*, 26, 1472-1475.
- Nilsson, C., A. Hansson and G. Nilsson (1975) Influence of thyroid hormones on satellite association in man and the origin of chromosome abnormalities. *Hereditas*, 80, 157-166.
- NIOSH (1977) Criteria for a recommended standard: occupational exposure to vanadium, DHEW (NIOSH) Publ. No. 77-322, US Government Printing Office, Washington, DC.
- Ohno, H., F. Hanaoka and M. Yamada (1982) Inducibility of sister-chromatid exchanges by heavy metal ions. *Mutation Res.*, 104, 141-145.
- Ohno, S., J.M. Trujillo, W.D. Kaplan and R. Kinoshita (1961) Nucleolus organizers in the causation of chromosomal anomalies in man. *Lancet*, ii, 123-125.
- Parker, R.D.R., R.P. Sharma and S.G. Oberg (1980) Distribution and accumulation of vanadium in mice tissues. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 9, 393-403.
- Roschin, A.V. (1967) Toxicology of vanadium compounds used in modern industry. *Water Res.*, 32, 26-32.
- Rosenbaum, J.B. (1963) Vanadium Compounds, in: *Encyclopedia of Technology*, Vol. 23, John Wiley and Sons, New York, pp. 688-704.
- Rosenkranz, W., and S. Holzer (1972) Satellite association. A possible cause of chromosome aberrations. *Humangenetik*, 16, 147-150.
- Sabbioni, E., L. Clerici and A. Brazzelli (1963) Different effects of vanadium ions on some DNA-metabolizing enzymes. *J. Toxicol. Environ. Health*, 12, 737-748.
- Sharma, A., and G. Talukder (1967) Effects of metals on chromosomes of higher organisms. *Environ. Mutagen.*, 9, 191-226.
- Sharma, R.P., S.J.S. Flora, D.B. Drown and S.G. Oberg (1967) Persistence of vanadium compounds in lungs after intratracheal instillation in rats. *Toxicol. Ind. Health*, 3, 321-329.
- Singh, O.P. (1979) Effects of Certain Chemical Pollutants On Plant Chromosomes, PhD thesis, University of Calcutta.
- Singh, O.P., and A. Sharma (1980) Effects of certain metallic pollutants in plants genetic systems: a review. *Nucleus*, 23, 15-29.
- Smith, J.B. (1963) Vanadium ions stimulate DNA synthesis in Swiss mouse 3T3 and 3T6 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*, 80, 6162-6166.
- Stockinger, H.E. (1981) The metals, in: O.D. Clayton and F.E. Clayton (Eds.), *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*, Vol. 2A, Wiley-Interscience Publishers, New York, pp. 1493-2060.
- WHO (1986) *Vanadium*, Environmental Health Criteria No. 81.
- Zakour, R.A., and B.W. Olickman (1984) Metal-induced mutagenesis in the *lacI* gene of *Escherichia coli*. *Mutation Res.*, 126, 9-18.
- Zankl, H., and K.D. Zang (1978) Quantitative studies on the arrangement of human metaphase chromosomes, V. The association pattern of acrocentric chromosomes in human meningiomas after loss of G and D chromosomes. *Hum. Genet.*, 40, 149-155.
- Zellweger, H., G. Abbo and R. Canny (1966) Satellite association and translocation mongolism. *J. Med. Genet.*, 3, 186-189.

Communicated by J.M. Gentile

## Sex differences in the effects of vanadium pentoxide administration to prepubertal rats

M. Altamirano, M.E. Ayala<sup>1</sup>, A. Flores<sup>1</sup>, L. Morales<sup>1</sup> and R. Dominguez<sup>1</sup>

Biology of Reproduction Research Unit, Laboratories of Reproductive Toxicology and <sup>1</sup>Reproductive Physiology, ENEP-Zaragoza, UNAM, AP 9-020, CP 15000, México D.F., México

**Keywords:** Vanadium pentoxide, sex differences, prepubertal rats.

**Introduction:** Vanadium pentoxide ( $V_2O_5$ ) is the most toxic form of vanadium for mammals [1], presumably because of its inhibitory effects on several enzymes [2, 3]. We have previously demonstrated an increase in polyploid cell frequency and a decrease in the mitotic index of human lymphocytes treated *in vitro* with  $V_2O_5$  [4]. The administration of metavanadate to adult rats induced impairment of spermatogenesis, and a decrease in the mobility of spermatozoa, while its administration to pregnant rats increased the mortality rate of embryos [5]. *In vitro* orthovanadate inhibited luteinizing hormone-induced cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in isolated corpora lutea from pseudopregnant rats [6].

Since puberty is the result of several modifications in the mechanisms controlling gonadotrophin secretion and gonadal reactivity to them, we decided to compare the effects of  $V_2O_5$  administered to male and female prepubertal rats.

**Materials and methods:** We used prepubertal rats of the CIIZ-V strain from our own stock. They were maintained in lighting controlled conditions (lights on from 05:00 to 19:00), with free access to the mother until weaning (day 21) and then to food and tap water.

Newborn male and female animals were injected i.p. with  $V_2O_5$  (Aldrich Chemical Co., Chicago, USA), 12.5 mg  $kg^{-1}$  body weight or saline, every second day, from birth to 21 days. In another experiment, female rats were treated with  $V_2O_5$  from day 21 to the day of the first vaginal oestrus. The females were checked daily for vaginal opening, vaginal smears were taken after it was present, and the animals were killed by decapitation at the first vaginal oestrus. Male rats were killed by decapitation at 55 days of age.

In female animals the oviducts were dissected and ova counted with the aid of a stereoscopic microscope. The ovaries and uterus were dissected and weighed in a precision balance. In male rats, the testis, prostate, seminal vesicles, were dissected and weighed. In both male and female animals,

the weights of adrenals, pituitary, thymus, liver, kidneys and submandibular glands were also registered.

The results of the weight and number of ova shed were expressed as means  $\pm$  SEM and analysed by a paired Student's *t*-test. Ovulation rate was analysed by the chi square test.

**Results and discussion:** The weight of female rats treated from day 21 to first vaginal oestrus was higher than those of the control group (120  $\pm$  3.7 g vs 105  $\pm$  2.2,  $p < 0.05$ ), while no significant differences were observed between control and newborn treated rats (105  $\pm$  2.2 vs 106  $\pm$  5.6). Since vanadium has been found to be an essential nutritional element for rats, the increase in body weight of treated animals could explain these results, because its deficiency causes growth reduction [3, 7].

No significant differences in the age of vaginal opening

Table 1: Weights of gonads (ovaries and testis) and reproductive organs (uterus, prostate and seminal vesicles) of females and male rats treated with saline or vanadium pentoxide from birth (means  $\pm$  SEM).

	Control	Group	Treated
<b>Females</b>	(n = 9)		(n = 9)
Ovaries (mg)	33.3 $\pm$ 2.1		33.9 $\pm$ 2.1
Uterus (mg)	166.0 $\pm$ 9.9		158.0 $\pm$ 19.0
<b>Males</b>	(n = 9)		(n = 5)
Testis (g)	2.4 $\pm$ 0.1		2.2 $\pm$ 0.14
Prostate (mg)	149.0 $\pm$ 10.8		164.0 $\pm$ 21.4
Seminal vesicles (mg)	240.0 $\pm$ 11.0		290.0 $\pm$ 15.0*

\* As compared with control males,  $p < 0.05$ .

(control 40.5  $\pm$  0.9 vs 37.6  $\pm$  1.5 and 42.5  $\pm$  0.7) nor first vaginal oestrus (control 42.0  $\pm$  0.9 vs 39.6  $\pm$  1.4 and 42.8  $\pm$  0.5) were observed. Ovulation rate was lower in treated animals than in control ones (8/15 vs 18/19,  $p < 0.02$ , chi square test). No differences were observed in the ovulation rate of newborn or 21 days treated rats (4/9 vs 4/6 n.s.).

The number of ova shed by ovulating animals was similar in

Table 2: Weights of adrenals, pituitary, thymus, submandibular glands, liver and kidneys of males and female rats treated with saline or  $V_2O_5$  from birth (means  $\pm$  SEM).

	Group		Group	
	Control female	Treated female	Control male	Treated male
	(n = 9)	(n = 9)	(n = 9)	(n = 5)
Adrenals (mg)	34.0 $\pm$ 1.0	30.8 $\pm$ 1.6	33.0 $\pm$ 1.0	29.0 $\pm$ 1.8
Pituitary (mg)	8.0 $\pm$ 0.4	8.2 $\pm$ 1.2	7.7 $\pm$ 0.6	8.7 $\pm$ 1.0
Thymus (mg)	322.0 $\pm$ 15.7	325.0 $\pm$ 18.9	383.0 $\pm$ 18.8	496.0 $\pm$ 40.4*
Submandibular glands (mg)	253.0 $\pm$ 10.4	268.0 $\pm$ 12.2	353.0 $\pm$ 6.0	421.0 $\pm$ 17.0*
Liver (g)	5.5 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 0.4	10.9 $\pm$ 0.5	10.6 $\pm$ 0.5
Kidneys (g)	1.3 $\pm$ 0.02	1.1 $\pm$ 0.03	2.1 $\pm$ 0.08	1.8 $\pm$ 0.09

\* As compared with control males,  $p < 0.05$ .

control and treated animals (control  $8.2 \pm 0.4$  vs  $7.3 \pm 1.9$  and  $6.8 \pm 0.8$ ). No differences in the weight of ovaries, uterus, adrenals or pituitary were observed (Tables 1 and 2). Such results could indicate that vanadium pentoxide administration affected only ovulation and did not modify the secretion of oestrogen. Since both ovulation and oestrogen secretion are stimulated by pituitary gonadotrophins, the diminution in ovulation rate could result from the direct action of vanadium on gametes [5].

The weights of thymus, liver, kidneys and submandibular glands of newborn treated females were similar to those of control animals (Table 2). When the treatment began at 21 days of age, increases in the weights of thymus, submandibular glands and liver were observed (Table 3). At present we have no explanation for this increase. However, the increase in the weight of the liver is a reflection of the biochemical adaptation in the induction of microsomal enzyme systems, observed in response to chemical injury [8].

In male rats, an increase in the weight of seminal vesicles, thymus and submandibular glands in vanadium-treated animals was observed (Tables 1 and 2).

Data from previous animal experiments regarding gender differences in responses to toxic substances are to some extent conflicting. Lead acetate and cadmium chloride have been shown to have higher acute toxicity in male than in female animals [9]. On the other hand, female rats, compared to male rats, were shown to absorb twice as much cadmium after single oral dose. Since castrated males absorbed as much as the females, it was then concluded that male sex hormones were responsible for the decreased retention of cadmium in males [9]. The results presented here indicate that, as observed for Pb and Cd, sex differences in the toxicological effects of vanadium pentoxide exist, toxicity in prepubertal rats being higher in males than in females.

Table 3: Weights of ovaries, uterus, adrenals, pituitary, thymus, submandibular glands, liver and kidneys of female rats treated with saline or  $V_2O_5$  from day 21 (means  $\pm$  SEM).

	Group	
	Control (n = 10)	Treated (n = 6)
Ovaries (mg)	33.3 $\pm$ 2.1	40.3 $\pm$ 2.7
Uterus (mg)	166.0 $\pm$ 9.9	185.0 $\pm$ 16.8
Adrenals (mg)	34.0 $\pm$ 1.0	40.5 $\pm$ 4.8
Pituitary (mg)	8.0 $\pm$ 0.4	8.5 $\pm$ 1.6
Thymus (mg)	322.0 $\pm$ 15.7	422.0 $\pm$ 21.5*
Submandibular glands (mg)	253.0 $\pm$ 10.4	293.0 $\pm$ 15.2*
Liver (g)	5.53 $\pm$ 0.1	7.1 $\pm$ 0.3*
Kidneys (g)	1.3 $\pm$ 0.02	1.4 $\pm$ 0.07

\* As compared with control,  $p < 0.05$ .

- Roschin, I.V. 1967. *Gig. Sanit.*, **33**, 26-32
- Bond, G.Y. and Hudgins, P.M. 1980. *Biochem. Biophys. Acta*, **600**, 781-790
- Sabbioni, E., Clerici, L. and Brazzelli, A. 1963. *J. Toxicol. Environ. Health*, **12**, 737-748
- Roldan, R.E. and Altamirano, L.M.A. 1990. *Mutat. Res.*, **248**, 61-65
- WHO. 1986. *Environmental Health Criteria*, No 81
- Lahav, M., Rennett, H. and Barzilai, D. 1986. *Life Sci.*, **39**, 2557-2564
- Simon, H., Schneider, H. and Fuhrmann, G.F. 1982. *Toxicology*, **23**, 271-278
- Poland, A. and Knutson, J.C. 1982. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **23**, 517-554
- Nordberg, G.F., Parizek, J., Pershagen, G. and Geyhardsson, L. 1986. In: Friberg, L., Nordberg, G.F. and Vouk, V.B. (eds), *Handbook on the Toxicology of Metals*, Vol. 1, pp. 175-205. Elsevier, New York

This study was supported by DGPA-UNAM, grant IN-20089-ENZA, CONACYT, grant P220COR-491527 and Programa Universitario de Investigación en Salud.

Reprint requests to: Dr M. Altamirano, Laboratorio de Toxicología Reproductiva, Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, ENEP-Zaragoza, UNAM, AP 9-020, CP 15000, México, D.F.

Paper received: 5th September, 1991, amended 23rd October, 1991.



**Mutagenic and Teratogenic Effects of Vanadium Pentoxide on Mice in vivo.**

**Altamirano-Lozano Mario, Dr.  
Alvarez-Barrera Lucila, B.S.  
Roldán Reyes Elia, M.Sc.**

**Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción  
Laboratorio de Citogenética, Mutagénesis y Toxicología  
Reproductiva,  
ENEP-Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.  
México.**

## Abstract

Treatment of male CD-1 mice with vanadium pentoxide ( $V_2O_5$ ) was not found to increase the frequency of sister chromatid exchanges (SCE) and not differences in the average generation time (AGT) were observed. However,  $V_2O_5$  increase the mitotic index (MI) at 11.5 ug/g body weight and decrease the MI at 23 ug/g body weight.

Exposure of pregnant CD-1 mice to  $V_2O_5$  results in a decreased fetal weight and increase proportion of litters with abnormal fetuses and the number of altered fetuses; the relationship between male/female fetuses in vanadium treated dams was modified. On the other hand, the frequency of malformations were higher in  $V_2O_5$  treated animals and the number of ossification centers was lower.

The results suggest that vanadium pentoxide is citotoxic and may be responsible for the alterations and changes observed in the animals.

## **Introduction**

The concern about possible mutagenic and teratogenic effects of chemical agents in human populations associated with occupational accidental or casual exposure, is very high. Among the different contaminants, the interest in metals as potential hazards to human and animal health is increasing. The high concentration of metals in soil, plants, and in the atmosphere are often related to the proximity of industries, to heavy traffic, and to the use or dumping of waste materials, fertilizers, and metal-containing pesticides.<sup>1</sup>

The earth's crust contains an average of 150 ppm of vanadium in the form of relatively insoluble salts. Metallic vanadium does not occur in nature. The production of vanadium compounds is linked to that of other metals such as iron, uranium, titanium and aluminum, and occurs in relatively high concentrations in some crude oils. Therefore, vanadium contamination is the result of the fallout produced from refining operations, and the burning of residual oils and fuel oils with a high vanadium content.<sup>2-5</sup>

Vanadium is mainly used in ferrous metallurgy as an alloy, additive in various types of steel. Its use is also widespread in the atomic energy industry, aircraft construction, aerospace technology, and chemical industry.<sup>5</sup>

We have previously demonstrated that vanadium pentoxide ( $V_2O_5$ ) induces poliploidy and satellite associations, but not breaks or sister chromatid exchanges. On the other hand, it decreases the mitotic index in human lymphocytes treated in

vitro.<sup>6</sup> When female prepubertal rats received  $V_2O_5$ , a decrease in the ovulation rate as well as changes in the weight of thymus, submandibular glands and liver were observed. The same treatment to male rats induced an increase in the weight of the seminal vesicles, the thymus and the submandibular glands.<sup>7</sup>

Furthermore, the administration of metavanadate to adult rats led to an impairment of spermatogenesis, and to a decrease in the mobility of spermatozoa, while its administration to pregnant rats increased the embryo mortality rate.<sup>5</sup>

Since the toxicity of vanadium is well documented, but to our knowledge there is not information about its potential as a mutagenic and teratogenic agent, it was decided to evaluate its possible genotoxic and teratogenic effects in vivo.

#### **Material and methods**

##### **Cytogenetical studies**

Male CD-1 mice (30-45 days old, 25-30g) were housed in groups (experimental and control) of 4 in hanging plastic cages under controlled lighting conditions (lights on from 05.00 to 19.00). They were fed with a rat chow and water ad libitum.

Working solutions of vanadium pentoxide ( $V_2O_5$ , 99.6% pure, purchased from Aldrich Chemical Co.) were prepared in distilled water and immediately injected intraperitoneally (ip) in appropriate volumes containing either 5.75, 11.50 and 23.00 ug of  $V_2O_5$ /g body weight, or the vehicle. At the same time, animals received 1.5 mg/g of bromodeoxyuridine (BrdU, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.) adsorbed to activated charcoal.<sup>8</sup>

Twenty-two hours after treatment, the animals were injected with colchicine (Fisher Scientific Co. NJ., 1.5 ug/g body weight, ip), and killed two hours later by cervical dislocation; At autopsy, the bone marrow cells from the femurs were flushed with 5 ml of 0.075M KCl, prewarmed at 37°C and fixed in methanol-acetic acid (3:1). The cell suspension was dropped onto slides and stained for differential staining of sister chromatids following the methodology previously described.<sup>9</sup>

One hundred consecutive metaphases per animal were classified as either first-, second- or third-division cycles, according to the differential stain.<sup>10</sup> Twenty-five cells in second division were studied for evidence of SCE's and 1000 consecutive cells were counted to estimate the mitotic index (MI). Cell cycle data were analyzed by the method proposed by Ivett and Tice<sup>11</sup> for the estimation of the average generation time (AGT).

#### **Teratological studies**

Sexually mature virgin females CD-1 mice (30-35g) from our own stock were housed in hanging plastic cages under controlled conditions, fed with rat chow and water ad libitum. Females were paired (1:1) with mature males of the same strain overnight (6 p.m.-8 a.m.). Successful copulation was assumed to have occurred if a copulation plug and/or sperm was present at the end of the mating period (day 0 of gestation).

Fifteen pregnant females were injected ip with a single dose of V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (prepared in distilled water), 8.5 ug/g, from days 6-15

of gestation. Thirteen control pregnant females were treated with vehicle.

On day 18 of pregnancy, the dams were killed by cervical dislocation, the uterine horns were exposed and the number of implants, resorptions and live fetuses were counted. Live fetuses were removed from uterus, blotted dry, weighed, examined for external malformations and sexed under a dissecting microscope. Two third of the fetuses from each litter were fixed in 70 % ethanol, cleared and stained with Alizarin Red S and examined for skeletal defects under a dissecting microscope.

The Student "t" test was used to evaluate the significance of the differences on the frequency of SCE's and the AGT. The cell cycle kinetics were compared using the chi square test for proportions, whilst the MI was analyzed using the "z" test.

The results of fetal body weight, frequency of implants and the skeletal abnormalities were analyzed using the Student "t" test. The proportion of resorption, live fetuses, litters with abnormal fetuses, and fetal abnormalities were analyzed using the "z" test, while sex proportion was analyzed using the chi square test.

#### **Results**

The changes in the mitotic index induced by  $V_2O_5$  treatment were not dose dependent. When a half of the  $LD_{50}$  (11.5 ug/g) was injected, an increase in the mitotic index was observed, whereas in those cases where mice received the  $LD_{50}$  (23 ug/g) the MI decreased. No changes in animals treated with 1/4 of  $LD_{50}$  (5.75

ug/g) occurred. No differences in the SCE's and AGT were observed (Table 1).

Compared with vehicle treated dams, no differences in the number of live and dead fetuses, fetal implants and resorptions were observed in  $V_2O_5$  treated animals. The weight of the fetuses, however, was lower in treated animals. In control dams, the relationship between male/female fetuses was close to 50-50%, while in vanadium treated dams the number of female fetuses was higher than that for male ones. No sexual differences in the proportion of abnormal fetuses were observed (Table 2).

Table 3 shows the frequency of malformations observed. Both, the proportion of litters with abnormal fetuses and the number of altered fetuses were higher in  $V_2O_5$  treated animals, limb shortening was the most frequent alteration present. The number of ossification centers in forelimbs and hindlimbs was lower in vanadium treated fetuses than in control ones, while no changes in the stenebrae and ribs were observed (Table 4).

#### Discussion

Investigation of the role of metals as mutagens or teratogens is of particular relevance to the health of the society.

As reported previously,  $V_2O_5$  reduces the mitotic index in human lymphocytes in vitro.<sup>6</sup> The results obtained in this study show both a significant increase and a reduction in the mitotic index following the administration of the two highest

doses.

Vanadium has been shown either to inhibit or enhance DNA synthesis *in vitro*, depending on the concentration in media.<sup>12-16</sup> In the first case, the inhibition of the DNA synthesis generally results in an inhibition of cell division.<sup>17</sup> This effect, leads to metaphase arrest, poliploidy and finally, to a decrease in the mitotic index.<sup>18</sup>

The induction of SCE by a some metals is well-documented.<sup>18-22</sup> Our results show that vanadium pentoxide does not increase SCE, and confirm the observations made by Roldán and Altamirano<sup>6</sup> on the SCE induction of V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in human lymphocytes cultures.

While the toxicity and mutagenicity of metals have been extensively studied in both human populations and experimental animals, the effects of metals on reproduction and development are, for most metals, not well described or inconclusive.

Furthermore, the effects of a single *i.p.* dose of vanadium pentoxide administered to mice on day 6-15 of gestation were not associated with embriotoxicity as measured by embryonic loss including postimplantational death.<sup>23</sup> Fetotoxicity was evidenced by a decreased fetal weight and delays in ossification.

Vanadium compounds inhibit ATP phosphohydrolases, ribonucleases, adenilate kinase, phosphofructuokinase, DNA and protein synthesis as well as alkaline phosphatase activity.<sup>5,14,24</sup> The marked inhibitory effects of sodium vanadate on bone DNA, collagen, NCP synthesis and alkaline phosphatase activity appear



to be due to a toxic, irreversible, and generalized effect on these parameters of bone formation.<sup>25</sup>

The results from the present study show dependence of four of the endpoints analyzed: citotoxicity (measured by delay of mitotic index), low birth weight of fetuses, shortening of limbs, and reduction of ossification. Vanadium is a potent inhibitor of DNA and protein synthesis, and it is likely that this effect (measured by a decrease in the mitotic index) may be responsible for vanadium-induced skeletal changes, decreased fetal body weight and limb shortening observed in this study.

#### **Acknowledgements**

We thank Mto. Javier Vivaldo Lima for his kindly review of the translation of the manuscript. This research was supported by DGAPA grant IN-202089.

**TABLE 1.- The Effect of Vanadium Pentoxide on the Mitotic Index (MI), Average Generational Time (AGT) and Sister Chromatid Exchanges (SCE's) in Bone Marrow Cells of Mice *in vivo*.**

Dose (ug/g body weight)	MI (± e.e.)	AGT (± e.e.)	SCE's (± e.e.)
0	2.47±0.25	13.41±0.19	4.16±0.24
5.75	2.62±0.33	14.74±0.12	3.82±0.23
11.50	2.83±0.26*	14.40±0.38	3.62±0.50
23.00	2.05±0.20*	14.06±0.47	4.31±0.32

\* P<0.05 compared with controls by "z" test.

**TABLE 2.- Effects of Vanadium Pentoxide Administration From Days 6-15 of Gestation, on Implantation, Resorption, Live Fetus, and Fetal Body Weight at Day 18 of Gestation.**

	Dosis (ug/g)	
	0	8.5
No of pregnant dams	13	15
Total No implants	149	175
Mean litter (±e.e.)	No of implants/	
	11.46±0.75	11.67±0.56
Mean litter (±e.e.)	No of live fetuses/	
	9.38±0.71	9.73±0.80
Mean litter (±e.e.)	No of resorptions/	
	1.92±0.49	1.73±0.51
Mean No of dead fetuses/ litter (±e.e.)	0.15±0.10	0.20±0.14
Mean litter (g) (±e.e.)	fetal weight/	
	1.39±0.05	1.04±0.05 *
Sex (F/M)# ratio	of live fetuses	
	0.89/1.11	1.25/0.75 **

\* P<0.01 compared with controls by Student "t" test.

\*\* P<0.05 compared with expected by chi-square test

# sex ratio expected = 1/1

**TABLE 3.- External Anomalies Observed in Offspring of Female Mice Treated With Vanadium Pentoxide From Days 6-15 of Gestation.**

	Dosis (ug/g)	
	0	8.5
No of pregnant dams	13	15
No of fetuses examined	124	149
Litters with fetuses (%)	3 (23.07)	9 (60.00) *
No of abnormal fetuses (%)	3 (2.42)	15 (10.07) *
<b>Observations</b>		
No of malformations (%)	fetuses with	
Haematomas	0	4 (2.68)
open eyelids	3 (2.42)	2 (1.34)
short limbs	0	8 (5.36) **
polydactily	0	2 (1.34)
cleft palate	0	1 (0.67)

\* P<0.05 compared with controls by "z" test

\*\* P<0.01 compared with controls by "z" test

**TABLE 4.- Skeletal Alterations Observed in Offspring of Female Mice Treated With Vanadium Pentoxide From Days 6-15 of Gestation.**

	Dosis (ug/g)		
	0	8.5	
No. of fetuses examined	80	101	
<b>Observations</b>			
Ossification points present		in:	
Forelimbs	13.45±0.47	8.95±0.33 *	
Hindlimbs	14.66±0.52	6.25±0.41 *	
Sternebrae	6.06±0.07	5.86±0.08	
<b>Others:</b>			
Mean No. ribs/fetuse	3.26±0.05	13.21±0.04	
No. ribs (%)	fetuses	with	heavy
	0	4 (3.96)	

\* P<0.001 compared with controls by Student "t" test.

## References

1. Falahi-Ardakani A. Contamination of environment with heavy metals emitted from automobiles. *Ecotox Environ Safety* 1984; 8:152-161.
2. Roschin AV. Toxicology of vanadium compounds used in modern industry. *Water Res* 1967; 32:26-32.
3. Baroch EF. Vanadium and vanadium alloys. In: *Encyclopedia of chemical technology* Vol. 23 New York: Wiley and Sons, 1983; pp. 673-687.
4. Rosenbaum JB. Vanadium compounds. In: *Encyclopedia of chemical technology* Vol. 23 New York: Wiley and Sons, 1983; pp. 688-704.
5. WHO. Vanadium. *Environmental Health Criteria* No. 81. World Health Organization, Geneva. 1988.
6. Roldán RE, Altamirano LMA. Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, cell-cycle kinetics and satellite associations in human lymphocyte cultures exposed to vanadium pentoxide. *Mutation Res* 1990; 245:61-65.
7. Altamirano M, Ayala ME, Flores A, Morales L, Domínguez R. Sex differences in the effects of vanadium pentoxide administration to prepuberal rats. *Med Sci Res* 1991; 19:825-826.
8. Morales RP. Analysis in vivo of sister chromatid exchange in mouse bone marrow and salivary gland cells. *Mutation Res* 1980; 74:61-69.
9. Altamirano LMA, Camacho MMC, Loyola AR, Roldán RE. Mutagenic and teratogenic effects of diazinon. *Rev Int Cont Ambient* 1989; 5:49-58.
10. Tice RR, Schneider EL, Rary EL. The utilization of bromodeoxyuridine incorporation into DNA for the analysis of cellular kinetics. *Exp Cell Res* 1976; 102:232-236.
11. Ivett JL, Tice RR. Average generation time: a new method of analysis and quantitation of cellular proliferating kinetics. *Environ Mutagen* 1982; 4:358.
12. Hori C, Oka T. Vanadate enhances the stimulatory action of insulin on DNA synthesis in cultured mouse mammalian glands. *Biochem Biophys Acta* 1980; 610:235-240.

13. Carpenter G. Vanadate, epidermal growth factor and the stimulation of DNA synthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; 102:1115-1121.
14. Canalis E. Effect of sodium vanadate on deoxyribonucleic acid and protein syntheses in cultured rat calvariae. *Endocrinol* 1985; 116:855-862.
15. Smith JB. Vanadium ions stimulate DNA synthesis in Swiss mouse T3T and 3T6 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:6162-6166.
16. Sabbioni E, Clerici L, Brazzelli A. Different effects of vanadium ions on some DNA-metabolizing enzymes. *J Toxicol Environ Health* 1983; 12:737-748.
17. Kihlman BA. Actions of chemicals on dividing cells. New York: Prentice-Hall, Inc. 1976; pp. 87-104.
18. Sharma A, Talukder G. Effects of metals on chromosomes of higher organisms. *Environm Mutagen* 1987; 9:191-226.
19. Gómez-Arroyo S, Altamirano M, Villalobos-Pietrini R. Sister chromatid exchanges induced by some chromium compounds in human lymphocytes in vitro. *Mutation Res* 1981; 90:425-431.
20. Carlson BL, Ellis HV, McCann J L. Toxicology and biological monitoring of metals in humans, including feasibility and need. Michigan: Lewis Publishers, Inc. 1987; pp. 276-282.
21. Ohno H, Hanaoka F, Yamada M. Inducibility of sister-chromatid exchanges by heavy-metal ions. *Mutation Res* 1982; 104:141-145.
22. Montaldi A, Zentilin L, Venier P, Gola I, Bianchi V, Paglialunga S, Levis AG. Interaction of nitrioloacetic acid with heavy metals in the induction of sister chromatid exchanges in cultured mammalian cells. *Environm Mutagen* 1985; 7:381-390.
23. Black DL, Marks TA. Inconsistent use of terminology in animal developmental toxicology studies: A discussion. *Teratology* 1986; 33:333-338.
24. Macara IG. Vanadium- an element in search of a role. *Trends Biochem Sci* 1980; april:92-94.
25. Wuthier RE, Register TC. Role of alkaline phosphatase, a polyfunctional enzyme, in mineralizing tissues. In: Butler WT, Ed. *The chemistry and biology of mineralizing tissues*. Birmingham: Ebsco Media, 1985; pp. 113-124.