

00346 1



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

2y

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

DETERMINACION DE LA MUTACION Y
RECOMBINACION SOMATICAS EN LA
INDUCCION DE EFECTOS GENOTOXICOS POR
TRES SALES DE VANADIO EN *Drosophila melanogaster*

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
(**B I O L O G I A C E L U L A R**)
P R E S E N T A :
BIOL. HECTOR MARTIN ABUNDIS MANZANO

DIRECTORA DE TESIS: DRA. PATRICIA RAMOS MORALES

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTE TRABAJO SE REALIZO EN EL LABORATORIO

DE GENETICA

"THEODOSIUS DOBZHANSKY"

DE LA FACULTAD DE CIENCIAS,

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

CON EL APOYO PARCIAL DE LA

DIRECCION GENERAL DE ASUNTOS DEL PERSONAL

ACADEMICO (DGAPA)

**A PatO con amor
por su apoyo, cariño y comprensión.**

A mis padres

**Héctor Abundis Hernández (†)
Eusebia Manzano Vda. de Abundis**

mis hermanos

Carmen, Víctor y Rosario

y sobrinos

Bruno, Brenda y Vanessa

Por su apoyo y su cariño, gracias.

AGRADECIMIENTOS

**A la Doctora Patricia Ramos Morales, por
la dirección, su apoyo y valiosos consejos
durante el desarrollo de este trabajo.**

A los Doctores

**Emilo Rojas del Castillo y
Mario Agustín Altamirano Lozano**

**Por aceptar formar parte del comité tutorial
y durante dos años contribuir a la
realización de este trabajo.**

A los miembros del Jurado

**Dr. Rafael Villalobos Pietrini
Dra. Rosario Rodríguez Arnaiz
Dr. Saul Villa Treviño y
Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez**

**Quienes con sus valiosos comentarios y sugerencias
contribuyeron al enriquecimiento del manuscrito**

**A los compañeros del laboratorio de Genética de la
Facultad de Ciencias, UNAM.**

INDICE

RESUMEN	ii
INTRODUCCION	1
•Industrialización	1
•Toxicología	4
•Genotoxicología	7
•Características de los metales	8
•Vanadio	11
-Características generales	11
-Minerales que lo contienen	13
-Clasificación de los compuestos de vanadio	14
-Usos	15
-Importancia biológica	17
-Efectos en el metabolismo y mecanismos de acción	18
-Efectos tóxicos	21
-Efectos genéticos	22
<i>Drosophila</i> como sistema de prueba	23
MATERIALES Y METODOS	28
•Material biológico	28
•Compuestos	29
•Procedimiento experimental	29
•Obtención y análisis de las alas	31
•Análisis estadístico	32
RESULTADOS	34
DISCUSION	56
CONCLUSIONES	77
REFERENCIAS	80

RESUMEN

El vanadio es un metal pesado que no se encuentra libre en la naturaleza y siempre forma compuestos, de éstos por la facilidad de su obtención, los más utilizados comercialmente son el óxido V, pentóxido de vanadio (V_2O_5), el óxido IV, tetraóxido de vanadio (V_2O_4) y el cloruro III de vanadio (VCl_3). Se les utiliza en las industrias metalúrgica, textil, en la elaboración de lacas y esmaltes, así como en la de productos fotográficos. En medicina, ofrece nuevas alternativas en el tratamiento de la Diabetes mellitus; se usa para la elaboración de antineoplásicos, sustituyendo a compuestos como el cis-platino; además de ser un antiséptico efectivo contra bacterias que infectan al hombre. En algunos organismos como pollos y ratas, el vanadio es un metal microesencial, en otros como en las ascidias y algunos hongos (*Amanita muscaria*) se acumula en grandes cantidades en forma de complejos orgánicos sin producir ningún efecto tóxico. El V_2O_5 es el compuesto de vanadio más estudiado tanto tóxica como genotóxicamente, se ha descrito su potencial aneuploidógeno, así como su capacidad para incrementar las asociaciones de satélites y su acción mitogénica; en sistemas bacterianos los resultados han sido contradictorios; los reportes sobre los efectos del VCl_3 y V_2O_4 , son escasos. La investigación acerca del daño al ADN por este metal o sus sales es escasa, por lo que es necesario evaluar su genotoxicidad en diferentes sistemas de prueba.

En un trabajo anterior se valoró la genotoxicidad del V_2O_5 mediante la prueba de mutación y recombinación somáticas (SMART)

en células de las alas de *Drosophila melanogaster* utilizando tratamientos crónicos (TC) (0 X 120 h), subcrónicos (TSC) (72 X 48 h) y agudos (TA) (72 X 6 h); los resultados mostraron que el óxido (V) de vanadio es un posible promutágeno (Abundis, 1994).

El presente estudio constó de tres etapas: 1) La determinación del daño genético provocado por el V_2O_5 y VCl_3 en TA utilizando las mismas concentraciones que para el óxido (V) de vanadio [0, 32, 63, 125, 250 y 500 ppm]. Se obtuvo respuesta positiva en las concentraciones de 32 ppm para el V_2O_5 y de 32 a 250 ppm para el VCl_3 . 2) En la segunda parte del estudio se probaron concentraciones menores de las tres sales de vanadio: 2, 4, 8, 16 y 32 ppm en TC y TA. En el TA, el VCl_3 produjo incremento significativo en la frecuencia de manchas totales a 2, 8, 16 y 32 ppm, mientras que en el TC el incremento positivo se dio a partir de 4 ppm ($P < 0.05$). Para el V_2O_5 se detectó efecto positivo en el TA a 2, 8, 16 y 32 ppm y en el TC la respuesta significativa se observó en 8 y 32 ppm. Finalmente, los resultados para V_2O_5 en TA mostraron respuesta significativa en todas las concentraciones mientras que, en el TC el incremento positivo se produjo a partir de 4 ppm, siendo notorio que en 8 ppm la cantidad de manchas registradas fue mayor que en las demás concentraciones. 3) En la tercera parte del estudio, se analizó el potencial genotóxico del V_2O_5 en TC a 6.5, 8, 9.5, 11, 13.5 y 15 ppm para definir el rango de concentración en la que este compuesto es más reactivo. La respuesta fue positiva a 6.5 y 8 ppm, en esta última nuevamente se encontró una mayor frecuencia de manchas. Para determinar la

participación de la recombinación mitótica en la producción de las manchas recobradas se comparó la frecuencia de manchas/ala y de clones *mwh* entre las moscas silvestres (transheterocigotas para los marcadores involucrados) y portadoras del balanceador (cromosoma con inversiones múltiples que no permite recobrar eventos de recombinación mitótica) inducidas por 6.5 y 8 ppm, mostrándose la participación de este evento genético en el daño inducido.

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los tres compuestos probados V_2O_3 , V_2O_5 y VCl_3 , son mutágenos indirectos, de éstos el V_2O_5 es un mutágeno débil que a bajas concentraciones y en un rango estrecho, induce recombinación mitótica. En general, la toxicidad de las tres sales de vanadio es baja, siendo probable que operen mecanismos de desintoxicación inducibles a concentraciones altas.

INTRODUCCION

Los más antiguos registros fósiles de los primeros homínidos, son indicativos de que el hombre siempre ha utilizado los recursos que se encuentran a su alrededor para satisfacer sus necesidades cada vez mayores. Desde su aparición el hombre se ha distinguido de los demás organismos por su habilidad para utilizar eficientemente las manos realizando labores cotidianas, siendo uno de los pocos que utilizan herramientas para ello y el único capaz de fabricarlas. La gran variedad de instrumentos de roca utilizados para cazar, elaborar vasijas de piedra, así como utensilios de labranza, encontrados en los sitios que servían como refugio a estos primeros hombres y que datan de cientos de miles de años de antigüedad, dan una idea de que a medida que el hombre evoluciona -al mismo tiempo que conoce el medio en el cual se desenvuelve-, van surgiendo lentamente innumerables dificultades para su exploración y explotación, las cuales resuelve mediante la utilización, cada vez en mayor medida y número, de los diferentes recursos que se encuentran a su alcance.

Industrialización

Si bien la explotación del medio va gradualmente en aumento, a medida que el hombre coloniza nuevas áreas de la tierra y descubre ambientes que muchas veces le son adversos, no es sino a partir de la revolución industrial cuando se inicia una verdadera explotación de los recursos naturales; es desde ese momento en que también empiezan a acumularse -en ese entonces de

manera imperceptible- en la atmósfera ciertos tipos de desechos, producto de la actividad industrial.

En un principio, estos residuos por su cantidad y naturaleza, prácticamente no representaban riesgo alguno para los seres vivos y por lo general eran degradados y reintegrados a los ciclos de los que forman parte. Al correr del tiempo en los países industrializados, de manera equiparable aumentan población e industrias de todo tipo, muchas de las cuales elaboran productos químicos de uso cotidiano lo que genera una exposición constante a ellos sobre todo por trabajadores, además, los desechos que son generados por estas empresas, debido a su composición muchas veces tardan varios años en ser degradados o bien simplemente permanecen en el ambiente, ya que, no son transformados de manera natural.

Si bien esto trae como consecuencia la acumulación cada vez mayor de estos productos, ésta aún no representaba un riesgo potencial para el grueso de la población, ya que en el inicio de la era industrial no existía la cantidad y la diversidad de empresas con las que ahora se cuenta, además de que, su capacidad de producción era mucho menor en comparación con la actual.

A medida que crece la demanda de productos de consumo común por la población en general, se da el auge de las industrias, muchas establecen centros de experimentación donde trabajan con diferentes sustancias para mejorar sus productos y ser más competitivos en el mercado; aunque este método de ensayo y error los llevó muchas veces a alcanzar su objetivo, no se medía el

riesgo que la exposición a los nuevos compuestos representaba ya sea para el hombre o las consecuencias de que sus residuos se vertieran al medio, muchas veces porque los efectos se observaban a muy largo plazo o porque no se realizaban estudios prospectivos por lo que si alguno de estos nuevos productos llegaba a producir efectos adversos en los organismos expuestos a ellos, éstos se atribuían generalmente a factores muy diversos como enfermedades desconocidas, castigos divinos o efectos somáticos propios de una profesión. Un ejemplo de esto último, se relaciona con los fabricantes europeos de sombreros durante los siglos pasados, quienes sufrían frecuentemente de temblores musculares, confusión mental y dificultad para hablar, -comportamiento que llevó a acuñar la frase inglesa, "estar tan loco como un sombrerero", y que también sirvió de inspiración para el personaje "el sombrerero loco" de la famosa novela "Alicia en el país de las maravillas"- este comportamiento era considerado una característica común al trabajo que desempeñaban, sin embargo, después de realizar estudios de los materiales que utilizaban, hoy se sabe que esa sintomatología se debía a la constante exposición de estos artesanos a los vapores de mercurio que aspiraban cuando elaboraban sombreros de fieltro, exposición que después de algún tiempo generalmente les provocaba la muerte. Otro caso ilustrativo y que también se atribuía a causas totalmente diferentes a la reales, es el de muchos célebres pintores del renacimiento, los cuales caían constantemente en fuertes depresiones nerviosas, el pueblo en general atribuía su comportamiento al temperamento

producto de su genialidad, sin embargo, mucho tiempo después cuando se efectuaron análisis de la composición de las pinturas que utilizaban para realizar sus obras, se descubrió que ellas contenían grandes cantidades de plomo, metal que posiblemente era el responsable de los trastornos nerviosos que presentaban.

Toxicología

Paralelamente a la utilización de los recursos por el hombre, otra actividad igualmente antigua ha sido el seguimiento de los efectos de diversas sustancias tóxicas -generalmente conocidas como venenos- las cuales son capaces de provocar daño al organismo (Casarett y Doull, 1975). El término engloba a todas aquellas sustancias que independientemente de su origen vegetal, animal o mineral, pueden producir efectos adversos que van desde la disfunción de algún órgano hasta la muerte del organismo cuando se ingieren.

Como lo describen Casarett y Doull (1975), la elaboración de este tipo de análisis se tiene registrado desde la época de los antiguos griegos, como el realizado por Teofrastus titulado "*De Historia Plantarum*" en donde hace referencia a los venenos provenientes de las plantas. En la época de los romanos, el uso de los venenos se popularizó para eliminar a personajes políticos en la lucha por el poder; de hecho, durante toda la historia de la humanidad la utilización de estos compuestos con diversos fines ha jugado un papel importante en el desarrollo de la sociedad.

No obstante la existencia del estudio de las sustancias tóxicas de origen natural y sus efectos sobre los organismos, este tipo de análisis no se aplicó a las sustancias o bien a los desechos generados por el hombre.

Al paso del tiempo investigadores de diversas disciplinas sugieren que muchas de las enfermedades o síntomas que presentan sus pacientes son característicos de la actividad que realizan, por lo que surge la inquietud por realizar estudios de tipos prospectivo y retrospectivo en poblaciones de individuos expuestos en las mismas condiciones a compuestos que las de los pacientes en los cuales observan los síntomas, esto con el fin de comprobar si en realidad era el medio en el cual se desenvolvían el causante de las enfermedades asociadas, muchas de las cuales se describían por primera vez. Este tipo de trabajos estaba sentando bases firmes para el surgimiento de una nueva rama de la ciencia, la toxicología.

Esta disciplina que se encarga de evaluar los efectos de compuestos en los sistemas vivos y que hace uso de datos y metodologías de disciplinas tan variadas como fisiología, farmacología, genética, embriología y estadística entre muchas otras, surge formalmente en el siglo XVIII por impulso del físico español Joseph Bonavente Orfila (1787-1853) quien es el primero que correlaciona de manera sistemática y científica el efecto de los venenos sobre el organismo. Esta disciplina se encarga de evaluar los riesgos que representan para los seres vivos los numerosos compuestos utilizados en las industrias, empleando para

ello una serie de sistemas biológicos que por su naturaleza responden de manera similar a como lo haría el hombre (Timbrell, 1989). Por la facilidad de su manejo y las ventajas que representan en cuanto a población y costo de manutención, generalmente son utilizados para estos estudios roedores como la rata, el ratón y el criceto. Sin embargo, algunas veces la experiencia ha demostrado que el realizar estudios toxicológicos con este tipo de organismos no siempre es suficiente ya que, en contadas ocasiones un compuesto puede no producir efectos en los animales de experimentación y ser devastador en los seres humanos; sobresaliente es el caso de la talidomida, medicamento utilizado como sedante y administrado a mujeres embarazadas para disminuir algunas molestias propias de su estado, esta droga antes de su lanzamiento al mercado fue analizada para conocer los posibles efectos colaterales de su ingestión, utilizando para ello los sistemas de prueba antes mencionados y los cuales no reportaron efectos adversos, no obstante, al ser usada en seres humanos provocó el nacimiento de muchos niños con alteraciones teratogénicas como la focomelia, caracterizada por provocar deformidades de brazos y piernas. Estudios retrospectivos mostraron posteriormente que la causante de dichas alteraciones era la talidomida administrada entre los días 24-29 de gestación, esto requirió nuevos análisis, utilizando ahora otros organismos de prueba como los primates (Timbrell, 1989).

La utilidad de la toxicología para evaluar compuestos que representan un riesgo potencial para la salud y el desarrollo de

los seres vivos se ha demostrado en otras muchas ocasiones, y ha permitido conocer los efectos de la exposición a compuestos en concentraciones bajas durante largo tiempo, o bien a altas concentraciones durante períodos cortos, como los producidos en sitios donde han ocurrido accidentes industriales de gran magnitud como en Bophal, India, donde un derrame de metil-isocianato provocó un gran número de víctimas (Timbrell, 1989) o bien el accidente nuclear en Chernovil del cual muchas víctimas se siguen registrando hasta la fecha, sumando además el fuerte daño ecológico que éstos y otros accidentes han causado.

En suma, los efectos adversos que pueden provocar las diversas sustancias a las cuales están expuestos los organismos deben ser evaluados mediante diversos sistemas de prueba para tener la certeza de que la información obtenida sobre los diversos compuestos es confiable.

Genotoxicología

Una rama de la toxicología aunque relativamente joven y que ha tomado auge rápidamente es la genética toxicológica. Reconocida como disciplina en 1969, se encarga al igual que la anterior, de evaluar los daños provocados por los agentes xenobióticos sobre el material genético de los organismos.

A diferencia de la toxicología, esta disciplina evalúa el efecto de los compuestos a concentraciones a las cuales aparentemente no tienen efectos tóxicos, es decir, no provocan reacciones alérgicas o fisiológicas detectables.

Todo compuesto que es capaz de provocar alteraciones heredables o bien la inactivación de regiones específicas del ADN a concentraciones subtóxicas en exposiciones crónicas, subcrónicas o agudas, es clasificado como un agente genotóxico, el término fue acuñado en el año de 1973 y alude a todas aquellas sustancias capaces de provocar cambios heredables y/o letales en células germinales y somáticas (Vogel, 1991). Por lo general, todas las sustancias que encajan en esta descripción presentan propiedades físicas y químicas que les permiten llegar con cierta facilidad al ADN e interactuar con él (Brusick, 1980). El estudio del riesgo genético que implica la exposición a diversas sustancias, ya sea de manera laboral, accidental o voluntaria ha jugado en los últimos años un papel preponderante en la obtención de permisos para su comercialización, sobre todo en el caso de medicamentos, principalmente en los países del "primer mundo" (ACGIH, 1992); sin embargo, la mayoría de los compuestos que se encuentran en el ambiente y que forman parte de la gran gama de desechos vertidos por las industrias, han pasado desapercibidos y se desconoce el riesgo genético que implican para todos los organismos.

Características de los metales

De todos los elementos químicos conocidos, 80 de ellos son metales y se caracterizan porque generalmente no se encuentran libres sino en forma de compuestos los cuales pueden ser sales, complejos organometálicos, etcétera. Las fuentes de emisión de

metales al ambiente son variadas y pueden ser naturales o antropogénicas, entre las principales se encuentran la erosión de depósitos minerales, las erupciones, el uso de combustibles fósiles así como la utilización de los metales en la industria, práctica que día con día va en aumento (Altamirano, 1992). Los metales vertidos al medio son transportados por diversas rutas y pueden llegar a interactuar con los seres vivos. De hecho muchos metales juegan un papel importante en la vida y el desarrollo de los organismos, formando parte de moléculas estructurales o de enzimas en diversas rutas metabólicas, por nombrar solo algunas de las muchas funciones en las que pueden estar implicados, algunos de ellos son además, elementos esenciales para la mayoría de los seres vivos.

La toxicidad de los metales es bien conocida y la mayor experiencia a este respecto se ha obtenido de la práctica laboral en las industrias. Mediante estudios prospectivos se ha demostrado el poder carcinógeno de algunos de los metales más utilizados como el cadmio y el cromo (Tabla I); algunos de ellos o sus derivados metaloides han mostrado una alta capacidad para producir alteraciones a nivel cromosómico (Tabla II) o efectos teratogénicos en diversos sistemas de prueba (Tabla III) (Friberg et al., 1990).

Tabla I
Efectos carcinogénicos provocados por metales
pesados en diferentes organismos
(tomado de Friberg. et al., 1990.)

- Iniciación de leucemia y neoplasias en pulmón y páncreas (aluminio)
- Inducción de cáncer de piel y pulmón en obreros (arsénico)
- Producción de cáncer de próstata y pulmón principalmente en trabajadores expuestos (cadmio)
- Iniciación de osteosarcoma y cáncer de pulmón en ratas expuestas (cobalto)
- Inducción de adenocarcinomas, fibrosarcomas y adenomas en ratones (cromo)
- Incremento en la aparición de procesos cancerosos de pulmón en ratas (níquel)
- Inicio de procesos neoplásicos renales en rata y ratón (plomo)

Tabla II
Algunos efectos producidos sobre el material genético
por metales pesados
(tomado de Friberg, et al., 1990)

- Aberraciones cromosómicas e incremento en la frecuencia de ICH en linfocitos humanos; aumento en el número de mutaciones puntuales en *Salmonella* y *E. coli* (arsénico)
- Disminución en la fidelidad de la síntesis de ADN *in vitro*; anomalías cromosómicas en meristemas de raíz (cobalto)
- Daño al huso mitótico en células de cordero (cadmio)
- Alteraciones en la capacidad de reparación del ADN en bacterias y levaduras (cromo)
- Rompimiento de cadenas de ADN en células embrionarias de criceto (níquel)

Tabla III
Algunos efectos teratogénicos producidos por la
exposición a metales pesados
(tomado de Friberg, et al., 1990)

- Hemorragias internas en fetos de ratón; malformaciones en embriones de pollo (aluminio)
- Reabsorción y malformación en fetos de rata (arsénico)
- Alteraciones en la columna vertebral de fetos de ratón (cromo)
- Malformaciones en embriones de pollo (cobalto)
- Malformaciones inespecíficas, reabsorción y reducción en la cantidad de progeñe (níquel)
- Malformaciones esqueléticas en embriones de criceto (plomo)

Vanadio

Características generales

Entre los metales que tienen un uso frecuente en la industria se encuentra el vanadio cuyas principales características se muestran en la tabla IV, es un elemento importante para una gran cantidad de industrias sobre todo la metalúrgica (Grin et al., 1971).

Un investigador, Andrés Manuel del Rio lo descubrió en la región de Zimapán, México en el año de 1801 cuando analizaba muestras de plomo pardo y por la coloración roja que mostraba en solución le dio el nombre de eritronio. Mucho tiempo después, en 1830 Sefstroem, trabajando con residuos en las fundiciones de hierro en Taberg, Suecia, descubrió un nuevo metal y al observar

Tabla IV
Propiedades fisicoquímicas del Vanadio
(Raymond y Donald, 1965)

Los datos que a continuación se presentan pueden variar dependiendo de la fuente bibliográfica ya que, la obtención de vanadio en estado puro es difícil y dada la gran afinidad que tiene por oxígeno, carbono y nitrógeno, su análisis es sumamente complicado lo que implica que las constantes físicas puedan presentar cierto margen de error.

Número atómico	23
Peso atómico	50.95
Grupo en la tabla periódica	V
Número de isótopos radiactivos	6
Color	gris claro (en estado puro)
Punto de fusión	1710 ± 25 °C
Punto de ebullición	3000 °C
Densidad	6.11
Calor específico de 20 a 100°C	0.12 cal/gr.°C
Coefficiente lineal de dilatación térmica de 20 a 720 °C	9.7±0.3 x 10 ⁻⁶ /°C
Conductividad térmica a 100°C	0.074 cal/seg·cm ² ·(°C/cm)
Resistencia eléctrica a 20 °C	24.8 μΩ·cm
Dureza del metal reconocida	76 Rockwell B

la coloración llamativa de sus sales lo bautizó como vanadio haciendo honor a la diosa griega de la belleza Freya Vanadís nombre con el que se le conoce hasta la fecha, un año después

otro investigador apellidado Wöhler demostró que ambos metales eran el mismo (Raymond y Donald, 1965).

Este metal se encuentra distribuido en toda la litosfera a una concentración calculada en 0.07 %, es un componente de muchas rocas ígneas y sedimentarias donde por su estructura y la valencia que presente puede estar sustituyendo a elementos como el estaño, aluminio y fósforo, en general se encuentra asociado con hierro y titanio. La hulla llega a presentar concentraciones hasta del 1 % del metal. Es un elemento que se acumula fácilmente en los organismos lo cual está asociado con la alta concentración de vanadio en los depósitos de petróleo, principalmente en los de México y Venezuela (Rühling, 1971; Nelson, 1973; NAS, 1974).

Minerales que lo contienen

Se conocen alrededor 65 minerales que contienen vanadio entre los que se encuentran la patronita (V_2S_5), bravoita ($(Fe, Ni, Co, V)_2S_7$), sulvanita ($3Cu_2S \cdot V_2S_5$), monstroseíta ($V_2FeO(OH)$) y roscoelita $K(V, Al)_2(AlSi_2)_2O_{10}(OH, F)$, entre otros; las principales vetas se encuentran en Perú, México, Nuevo México, Arizona, Nevada, Argentina, España, Turquestán, suroeste de Africa y Rodesia, además de otras en las que la cantidad extraída es menor.

No se encuentra libre sino formando diversos compuestos los cuales se procesan conjuntamente, la extracción se realiza mediante el tostado de los minerales con sal común para formar vanadato de sodio que se recupera por lavado con agua corriente,

se lava con ácido sulfúrico diluido y el extracto total se precipita con ácido sulfúrico para obtener el vanadio en forma de óxido (V) de vanadio, la forma más comercial del metal (Rose, 1973).

Clasificación de los compuestos de vanadio

Se conocen varios compuestos de vanadio divididos en los siguientes grupos:

- | | |
|---------------------|--------------|
| - Carburos | - Siliciuros |
| - Cianuros | - Sulfatos |
| - Nitratos | - Sulfuros |
| - Oxidos y oxisales | - Nitruros |
| - Haluros | |

El vanadio es capaz de formar varios haluros y oxihaluros, en general, los haluros son higroscópicos y se hidrolizan en el agua. Su estabilidad crece conforme aumenta la valencia del metal.

El cloruro (III) de vanadio (VCl_3), también conocido como cloruro vanadoso, tiene la apariencia de laminillas de color melocotón en estado puro, no es volátil, pero sí altamente higroscópico; el hexahidrato $VCl_3 \cdot 6H_2O$, forma cristales verdes.

El óxido (IV) de vanadio (tetraóxido de vanadio (V_2O_5), algunas veces llamado dióxido de vanadio (VO_2)), pertenece al grupo que engloba los óxidos y las oxisales, presenta un color sólido negro azulado en estado puro con una densidad de 4.34, es ligeramente higroscópico y también se oxida lentamente en el

aire, es anfotérico y se disuelve lo mismo en ácidos que en bases. Con los ácidos genera sales de vanadilo (VO^{2+}), en solución básica caliente produce vanadatos (hipovanadatos y vanaditos) del tipo $\text{R}_2\text{O}_x \cdot \text{VO}_2$.

El óxido (V) de vanadio (V_2O_5) (al cual también se le cita como pentóxido de vanadio o pentóxido de divanadio), es el óxido más utilizado y mejor conocido de todos, en estado impuro es un polvo de color rojo pardo o negro, cuando es puro es rojo amarillento; por lo regular la forma comercial, si se obtiene por calentamiento de NH_4VO_3 , presenta hasta un 0.2 % de óxido (IV) de vanadio (Blücher, 1958).

Usos

Al descubrimiento del vanadio y el estudio de sus propiedades químicas, a finales del siglo pasado, siguió su explotación comercial. Se empezó a utilizar con gran éxito en la industria metalúrgica como elemento de aleación, es un excelente formador de carburos, aún más que el tungsteno y el cromo, y su aplicación es de importancia en la fabricación de herramientas; el acero con alto contenido de carbono y un poco de vanadio (hasta 0.25 %) tiene superficie dura y cuerpo resistente; los aceros que presentan altos contenidos de vanadio alcanzan grados de dureza extremadamente alta, el acero utilizado para trabajos de alta velocidad es una mezcla de tungsteno, cromo y vanadio; el que presenta máxima resistencia al desgaste contiene carbono y vanadio en concentraciones de 1.5 y 5 %, respectivamente. Las

estructuras utilizadas para la construcción son sometidas a tratamientos con vanadio para darles el grado máximo de dureza y resistencia mecánica. Se utiliza también para la elaboración de partes de automóviles y aviones que necesitan tener alta resistencia como engranes, ejes, resortes y muchos más.

Es utilizado en muchas otras industrias, en la química puede catalizar reacciones de óxido-reducción orgánicas, fabricación de ácido sulfúrico; por su alto poder catalítico y notables cambios de color, para la elaboración de productos fotográficos; los fabricantes de colorantes para telas emplean varios de sus derivados para la elaboración de anilina negra, como mordentes para teñir y estampar el algodón y la seda, además de utilizarlo en el teñido de cuero y pieles. Algunas tintas indelebles y de secado rápido involucran en su elaboración compuestos de vanadio.

Durante su elaboración, el vidrio se somete a un tratamiento con óxido (V) de vanadio para eliminar longitudes de onda inferiores a 3589 Å, el agregar 0.02 % del metal al vidrio impide el paso de los rayos actínicos que dañan la vista y decoloran las telas.

Se utiliza en química analítica para determinación volumétrica directa (vanadometría) o bien para determinaciones por viraje de diversas sustancias. La industria agrícola generalmente lo utiliza como un microelemento en los abonos (IPCS, 1988).

En la medicina se usa en pequeñas dosis con diversos efectos terapéuticos, es importante para este tipo de usos que se encuentre en forma de compuesto neutro estable para disminuir al

mínimo su toxicidad. Sirve como antiséptico e inhibidor del desarrollo de bacterias (Berry et al., 1992), en el tratamiento de úlceras, llagas, abscesos y heridas infectadas; como agente quimioterapéutico en el tratamiento de algunos tipos de cáncer (Cohen et al., 1993); para el tratamiento de disfunciones digestivas que involucran una excesiva fermentación y puede actuar en sustitución de algunos antibióticos combatiendo la proliferación de espiroquetas y neumococos; además funciona como un catalizador o promotor de oxígeno siendo capaz de contrarrestar la deficiencia de hemoglobina en la sangre que es característica de las anemias; estimula el sistema inmune en infecciones agudas como neumonía e influenza, estimula el apetito y mejora la nutrición. Se utiliza también en el tratamiento de la arterosclerosis.

Uno de los usos más importantes y recientes del vanadio es en el tratamiento de la *Diabetes mellitus* (Madsen et al., 1993; Shechter y Shisheva, 1993), este tipo de tratamiento aún en fase experimental involucra la aplicación en la dieta de compuestos de vanadio, los cuales mimetizan la actividad de la insulina.

Importancia biológica

La trascendencia del vanadio en los sistemas biológicos se incrementa día con día al conocerse más acerca de las funciones que desempeña este metal; experimentalmente se ha comprobado que estimula el crecimiento de las plantas, es además un elemento esencial para el correcto desarrollo esquelético en pollos y

ratas (Underwood, 1977), además de requerirse por algunos otros organismos (Mancinella, 1993). Por ser el mar el sitio en el cual desembocan todos los desechos, los organismos marinos tienden a acumular grandes cantidades del metal, entre ellos destacan las ascidias (Michibata et al., 1992) y holoturias en las que al parecer es un elemento que participa en el transporte de oxígeno mediante catálisis; en cianobacterias como *Nostoc muscorum* puede sustituir al molibdeno en la captación de nitrógeno en forma de N_2 ó NO_3^- (Singh et al., 1993); o bien, participar en rutas alternativas para la fijación del nitrógeno, como en *Azotobacter vinelandii* en la cual el vanadio es el elemento involucrado en esta función (Pau et al., 1993); hongos como *Amanita muscaria* pueden acumular grandes cantidades del metal en forma de un compuesto llamado amavadina (Biggs y Swinehart, 1976) cuya función hasta el momento se desconoce.

Efectos sobre el metabolismo y mecanismos de acción

Ya se mencionó que algunas sales de este compuesto se utilizan con fines terapéuticos, pero su ingestión por largos períodos provoca efectos adversos, se ha observado una serie de secuelas por su toxicidad después de usarse, las cuales pueden ser disminuidas si se administra el vanadio acompañado de otros agentes, un ejemplo de estos últimos es el tirón, un quelante que no provoca decremento en la efectividad del vanadio en el tratamiento de la *Diabetes*, pero sí disminuye notablemente efectos colaterales como son la acumulación del metal en riñón y

huesos, así como también los niveles de colesterol que se observan después de varias semanas de tratamiento, disminuyendo de esta manera los riesgos que representa el almacenamiento del vanadio (Domingo et al., 1992).

Cuando el vanadio se acumula en forma de vanadato en los riñones, después de que se aplica experimentalmente en dosis de 5 mg/Kg/10 días en ratas, se produce una acidosis renal hipocalémica distal (Dafnis et al., 1992).

En estudios de poblaciones realizados en el Noroeste de Tailandia se observaron alteraciones metabólicas como piedras en el riñón, acidosis tubular renal, sudoración nocturna inexplicable y desnutrición, entre algunos otros síntomas; el análisis de las excreciones de los pobladores y algunas muestras de tejido, así como muestras del suelo y agua de la región, mostraron altas concentraciones de vanadio y se propuso que los trastornos observados se debían sobre todo al efecto del vanadio sobre la bomba de Na⁺-K⁺ (Sitprija et al., 1993). El vanadato presenta una alta similitud con el fosfato, compete con él para ocupar sitios afines, uno de ellos es el sitio de fosforilación de las ATP-*asas* P, grupo al cual pertenece la bomba de sodio-potasio; cuando se inactiva estas bombas, se provoca reducción en la excreción de ácido y produce los síntomas antes mencionados.

No obstante el riesgo que representa, el vanadio es capaz de regularizar muchas anormalidades metabólicas provocadas por la hiperglucemia restaurando la función normal del hígado que, durante la *Diabetes* subutiliza la glucosa; y la del riñón, órgano

que la sobreutiliza.

El vanadio se ha administrado oralmente a ratas diabéticas en forma de sulfato de vanadil, tratamiento que contrarresta de manera significativa los síntomas de la enfermedad provocados por el estrés oxidante como son la formación de cataratas y una baja concentración de antioxidantes no enzimáticos como el glutatión, los cuales se manifiestan frecuentemente durante la enfermedad (Thompson y McNeill, 1993). Se ha observado también que su administración en forma de vanadato o bien en forma de óxido, estimula la actividad de la sorbitol deshidrogenasa disminuyendo la concentración en la sangre de sorbitol, presente en altas concentraciones en los organismos diabéticos (Endo, 1993).

Es capaz de restablecer la expresión normal de genes como el de la glucoquinasa y de la piruvato cinasa tipo L, cuyos productos intervienen en el metabolismo hepático de la glucosa y los cuales ven disminuida su concentración entre un 70 a 90 % en los organismos deficientes (Brichard et al., 1993).

Cuando se administra metavanadato de sodio a ratones machos en concentraciones que van de 20 a 80 mg/Kg, se ha detectado disminución en la cantidad de espermatozoides y en su movilidad; la pared del epidídimo se adelgaza en los ratones expuestos a 60 y 80 mg/kg lo que repercute directamente en la fertilidad de los organismos; sin embargo, en la concentración de 40 mg/kg, que es la cantidad diaria que alcanza el hombre estando en contacto directo con la fuente de emisión, no se presentan efectos adversos (Llobet et al., 1993).

El vanadio al igual que algunos otros metales como tungsteno, hierro, cobre y níquel pueden acumularse en los tejidos, sobre todo en aquellos involucrados en su excreción como el de las vías urinarias provocando inflamación y acompañado además de la formación de granulomas, los cuales pueden algunas veces ser asiento de procesos cancerosos; este tipo de efectos se ha observado en trabajadores expuestos a estos metales (Henry et al., 1993).

A la exposición a vanadio también se le atribuyen reacciones como la hipertensión arterial (Carmignani et al., 1992) así como efectos sobre los anillos aórticos de conejo produciendo su relajación, ya que al parecer puede provocar alteraciones en el potencial de membrana de las células del músculo liso las cuales se hiperpolarizan a causa de la apertura de canales de K^+ al mismo tiempo que se cierran canales de Ca^{2+} (Chung et al., 1992).

Efectos Tóxicos

Debido a que el V_2O_5 es el derivado de vanadio que se obtiene más fácilmente y se utiliza con mayor frecuencia, tiene la mayor cantidad de reportes acerca de su toxicidad. Cuando se administra a ratas preñadas intraperitonealmente produce disminución en el peso del producto y retardo del crecimiento, así como incremento en la mortalidad fetal y en las malformaciones esqueléticas (Zhang et al., 1993).

En monos (*Macaca fascicularis*), la exposición crónica de 0.1 mg/m³/ 6 h/ día, 5 días por semana, por 26 semanas, produjo mal

funcionamiento del sistema respiratorio provocado por la inflamación de las células del pulmón (Knecht et al., 1992). Otros informes acerca de sus efectos tóxicos se describen en Altamirano (1990) y Abundis (1994).

Efectos genéticos

En estudios de mutagénesis *in vitro*, se ha mostrado que el metavanadato de amonio puede incrementar la frecuencia de mutación en el locus *hprt* de células V79 después de exposiciones de 24 horas. En una variante del mismo tipo de células portadoras del gen bacteriano *gpt*, las cuales muestran una alta sensibilidad a mutaciones de tipo oxidante que involucran deleciones, el mismo compuesto también incrementó la frecuencia con respecto al lote testigo. El metavanadato produce enlaces cruzados entre el ADN y las proteínas involucrados en la generación de lesiones genéticas irreparables, tanto en células CHO como en células humanas MOLT4 (Cohen et al., 1992).

Se ha mostrado que el óxido (V) de vanadio en concentraciones alrededor de 5 μM es capaz de inducir y provocar estados morfológicos de transformación en células C3H/10T1/2 creando un nivel elevado de estrés oxidante que provoca la transcripción de los genes de la familia de las proliferinas (Parfett y Pilon, 1995).

En células V79 de criceto, el vanadio produce daño al aparato mitótico (Zhong et al., 1994). En linfocitos humanos incrementa la frecuencia de células poliploides y la asociación

de satélites además de disminuir el índice mitótico (Roldán y Altamirano, 1990). El potencial aneuploidógeno del V_2O_5 se mostró mediante la prueba de hibridación *in situ* (Ramírez, et al., 1995).

El metavanadiato de amonio (forma pentavalente del vanadio) induce mutaciones reversas en la cepa D7 de *Saccharomyces cerevisiae*, al parecer por la reducción dependiente del nivel de citocromo P-450 del vanadato a vanadil; cuando se agrega además la fracción S9, el índice aumenta; con sulfato de vanadil (forma tetravalente), cuando se colocan inhibidores de citocromo P-450, la genotoxicidad de la forma pentavalente disminuye, mientras que el índice de alteraciones producido por la forma tetravalente permanece constante (Bronzetti et al., 1990; Galli et al., 1991).

***Drosophila* como sistema de prueba**

La prueba de mutación y recombinación somáticas (SMART), fue propuesta por Graf et al., en 1983. Utiliza las células de los discos inagales de las alas de *Drosophila melanogaster*, cuyas fases de desarrollo han sido ya descritas (García-Bellido y Merriam, 1971a,b). Es un organismo que presenta un gran cantidad de ventajas al ser utilizado como sistema de prueba las que se describen con detalle en Ramos et al. (1993). Además, tiene hoy en día una amplia gama de usos en la mutagénesis inducida.

También ha permitido detectar el potencial genotóxico de diversos compuestos que representan un riesgo potencial para los seres vivos, muchos de los cuales no se habían probado en

sistemas de prueba in vivo.

Mediante la SMART se han analizado sustancias de amplio uso comercial como acaricidas (Maldonado, 1994), además de otros compuestos como el azida de sodio cuyo uso es poco frecuente, pero no por eso menos importante o riesgoso (González, 1994). Esta prueba es muy flexible, ya que la modificación del protocolo original ha permitido además determinar el potencial protector de vitaminas o precursores de ellas como la vitamina E o los β -carotenos (Orozco, 1993); o bien establecer el riesgo que implica el uso de algunas plantas en la medicina tradicional mexicana (Muñoz, 1994) y cuáles son los posibles efectos sinérgicos o antagónicos de los mismos al ser administrados en conjunto con mutágenos ya conocidos; existen además antecedentes acerca de la eficacia de la prueba SMART para descartar la genotoxicidad de metaloides como el arsénico (Ramos-Morales y Rodríguez-Arnaiz, 1995).

La SMART, que utiliza las células de los discos imagales de las alas de *Drosophila melanogaster*, valora diferentes tipos de daño genético mediante la cuantificación de manchas formadas por tricomas o pelos que presentan los fenotipos mutantes sobre la superficie de las alas (Fig. 1). Una mancha simple tienen la misma apariencia si se origina por mutación, no disyunción, delección o recombinación entre los marcadores utilizados, es decir, no proporciona información sobre el evento genético que la originó; en contraste, las manchas gemelas, tienen su origen en la recombinación entre el marcador proximal *flr*³ y el centrómero.

En un estudio previo utilizando la SMART en células de las alas de *Drosophila*, se evaluó el potencial genotóxico del óxido (V) de vanadio mediante el uso de diferentes protocolos (Abundis, 1994). Los resultados indicaron que este compuesto es un posible promutágeno, sin descartar la posibilidad de que el daño detectado fuese resultado de diferentes efectos, entre ellos su posible potencial aneuploidógeno. En el presente trabajo se analiza mediante exposiciones crónicas y agudas, el potencial genotóxico de tres sales de vanadio: óxido (V) (V_2O_5), óxido (IV) (V_2O_4) y cloruro (III) de vanadio (VCl_3) en células de las alas de *Drosophila melanogaster*.

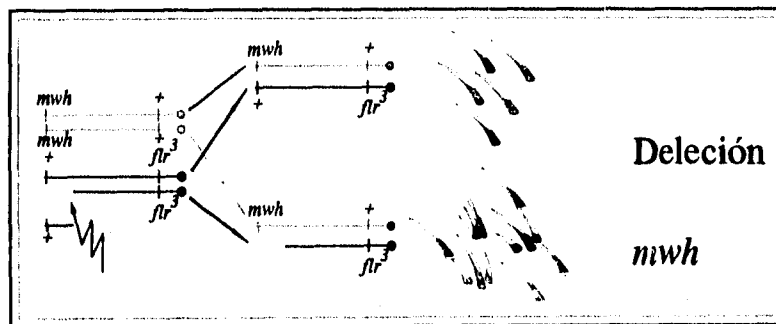
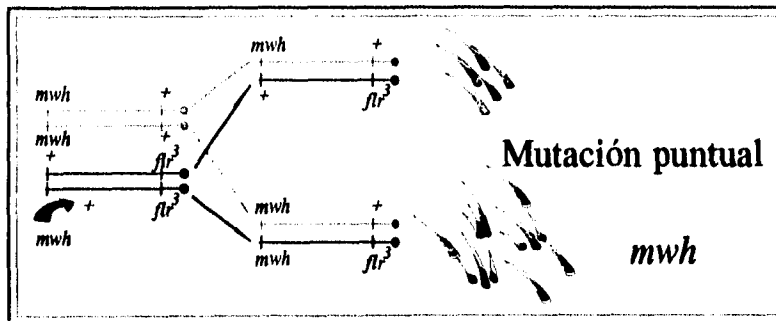
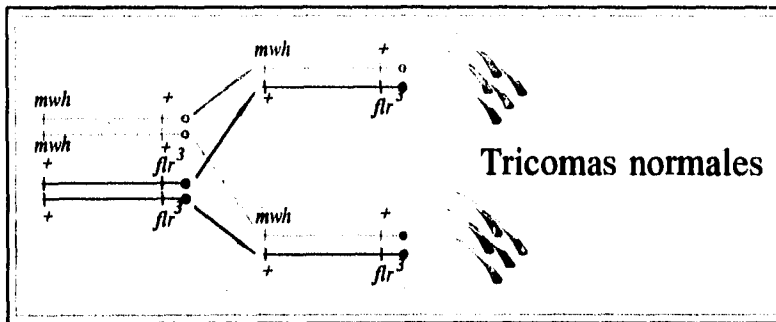


Figura 11. Eventos genéticos detectados por SMART (ala) (Modificado de Graf, 1984).

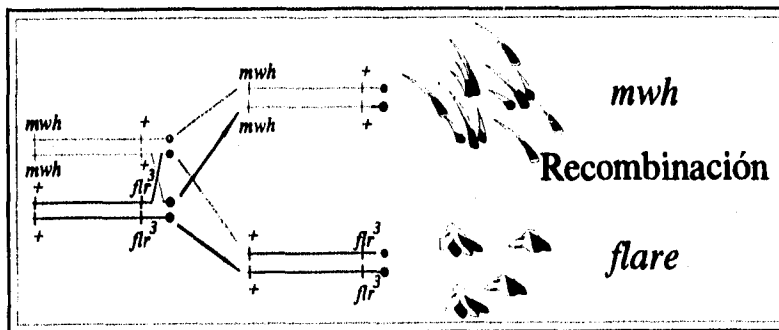
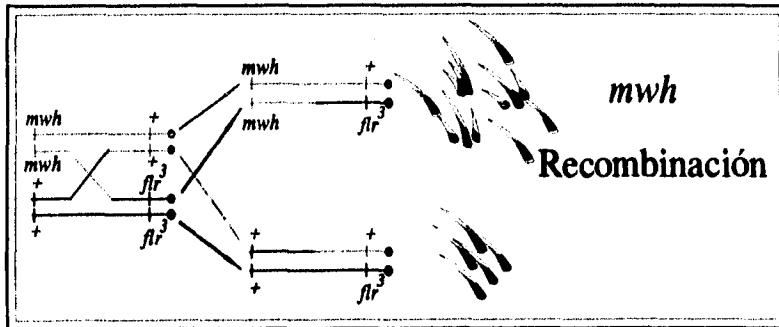
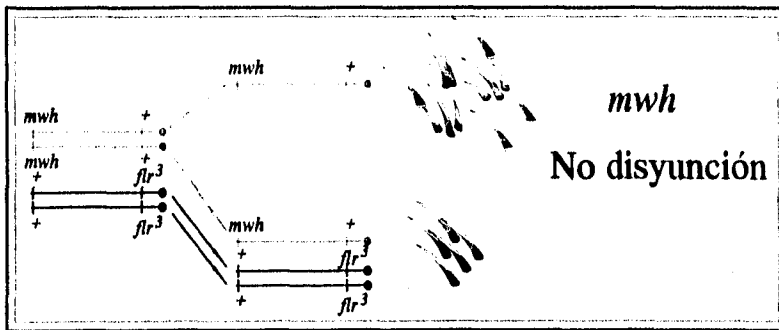


Figura 11. Continuación.

MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Se utilizaron moscas de dos líneas de *Drosophila melanogaster* para realizar la crusa progenitora: hembras vírgenes $flr^1/TM3, Ser$ X machos mwh/mwh .

Los marcadores fenotípicos utilizados son recesivos y están localizados en el brazo izquierdo del cromosoma 3 de *Drosophila*. Las moscas que portan el marcador flr^1 ($flare^1$, 3-38.8), el cual es letal en condición homocigótica, son reconocidas por la manifestación fenotípica del marcador dominante *Ser* (*Serrate*) localizado en el cromosoma balanceador *TM3*, el cual se expresa en forma de muescas en el borde de las alas y cuya expresividad es variable, los organismos homocigóticos para *Ser* también mueren por lo que esta línea de letales balanceados permite recuperar sólo a los portadores del marcador flr^1 y el cromosoma balanceador.

El marcador *mwh* (*multiple wing hair*, 3-0.0), se expresa en condición homocigótica como más de dos pelos por célula, donde normalmente sólo existe uno y también presenta expresibilidad variable.

Los organismos que se recuperan de la crusa que involucra estas líneas son de dos tipos, los primeros son transheterocigotos para los marcadores y al llegar a adultos son reconocidos por tener alas de tipo silvestre, los segundos llevan en uno de sus cromosomas 3, un alelo *mwh* proveniente del padre y el otro cromosoma proveniente de la madre, corresponde al balanceador que

porta al marcador *Ser*, por lo que en la etapa adulta se reconocen por las alas con muescas.

Del total de organismos obtenidos en una cruce, cada uno de los tipos anteriormente descritos conforman el 50% de la población, además, en la etapa larvaria ambos fenotipos son indistinguibles, por lo que ambos son tratados y posteriormente, al alcanzar la etapa adulta, se separan para llevar al cabo el análisis.

Compuestos

- Óxido (V), pentóxido de vanadio (Aldrich), las soluciones se prepararon como se describe en Abundis (1994). El compuesto se mezcló con sacarosa al 5% (tratamiento agudo) o bien agua destilada (tratamiento crónico), la solución preparada se mantuvo en agitación por un lapso de 24 horas, después del cual la suspensión se tornó homogénea.

- Óxido (IV), tetraóxido de vanadio (Aldrich), las soluciones se prepararon agregando directamente el compuesto a una solución de sacarosa al 5 % (tratamiento agudo) o agua destilada (tratamiento crónico) y se disolvió por agitación.

- Cloruro (III) de vanadio (Aldrich), las soluciones se prepararon de manera similar a las de óxido (IV) de vanadio.

Procedimiento experimental

Se realizaron dos tipos de tratamiento:

Agudos: un volumen de 0.3 ml de cada una de las diferentes

concentraciones de los compuestos analizados se vertieron sobre 0.03 gr de celulosa contenida en un vaso de pp de 10 ml de capacidad. Larvas de 72 ± 2 horas de edad provenientes de la craza progenitora y recuperadas por el método descrito por Nöthiger (1970) fueron colocadas en tubos homeopáticos que por uno de sus lados tenía colocada tela de nylon para permitir el libre acceso de la solución y por el otro un tapón de hule espuma para evitar que las larvas escaparan, éstas se expusieron por un período de seis horas; como testigo negativo se utilizó sacarosa al 5%.

Crónicos: en tubos homeopáticos se colocó un gramo de medio de cultivo instantáneo Carolina (Carolina, Biological Supply, Co. 1994) y se vertieron 5 mililitros de cada una de las diferentes soluciones que se analizaron. La craza progenitora se puso a ovipositar directamente sobre el medio de cultivo durante 48 horas buscando con esto que las larvas estuviesen en contacto con el compuesto desde el momento de la eclosión, el testigo negativo en este caso fue agua destilada.

El trabajo se dividió en tres etapas:

1) Se realizaron tratamientos agudos para óxido (IV) y cloruro (III) de vanadio a las concentraciones de 32, 63, 125, 250 y 500 ppm.

2) Se determinó la genotoxicidad de óxido (V), óxido (IV) y cloruro (III) de vanadio en tratamientos agudos y crónicos en las concentraciones de 2, 4, 8, 16 y 32 ppm.

3) Se analizó el efecto del óxido (IV) de vanadio en

tratamiento crónico en las concentraciones de 6.5, 8, 9.5, 11, 13.5 y 15 ppm.

Obtención y análisis de las alas

Se esperó a que los organismos tratados llegaran al estado adulto, se separaron por sexo y tipo de ala (silvestre y Serrate), se sacrificaron mediante exceso de éter y se fijaron en alcohol al 70 %.

Las moscas se enjuagaron con agua destilada para eliminar todo residuo de alcohol (éste puede reaccionar con la solución Fauré y tornarla turbia haciendo difícil su uso).

Las alas fueron disecadas en una de gota de solución Fauré y ordenadas por parejas sobre un portaobjetos. Se colocaron 40 alas por laminilla (20 de hembras y 20 de machos).

Después de dos días (período después del cual la solución se gelifica), se puso sobre las alas un cubreobjetos con una gota de Fauré y se procedió a prensarlas por un tiempo aproximado de tres días para extender las alas y facilitar su análisis al microscopio.

Se eliminó el exceso de Fauré lavando con agua corriente y las preparaciones se hicieron semipermanentes sellando los bordes con esmalte para uñas.

Las diferentes zonas de las alas fueron analizadas a 400 X para determinar la cantidad y el tipo de manchas obtenidas en cada tratamiento.

Análisis estadístico

Se revisaron un total de 120 alas por concentración por compuesto y por tratamiento. Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente mediante la prueba de decisión múltiple y el programa de cómputo SMART (Würgler, no publicado) con una $P = 0.05$, el cual mediante la comparación de las frecuencias de los lotes testigo y experimentales permite conocer si el compuesto analizado en este sistema de prueba es positivo, negativo, débil positivo o bien indeterminado mediante las siguientes consideraciones: la hipótesis nula (H_0), que indica que la suma de las mutaciones inducida y espontánea ($F_e + F_c$) no es significativamente mayor a la frecuencia del testigo negativo (F_c) y; la hipótesis alternativa (H_a), la cual señala que F_e es mayor m veces que la F_c (Fig. 2) (Frei y Würgler, 1988).

El factor de multiplicación (m) usado para realizar este análisis estadístico indica cuánto debe incrementarse el número de eventos de los tratamientos con respecto al testigo para considerarse positivo, para las manchas chicas y totales es de 2 y para manchas grandes y gemelas es de 5. Para la asignación de estos valores se toman en cuenta los siguientes aspectos:

- Dado que las manchas de 1 o 2 células son las que aparecen con mayor frecuencia en el testigo negativo, se considera que cuando el número de ellas se duplica en el tratamiento experimental, es indicativo de que el compuesto analizado es positivo.

- Las manchas grandes (> 2 células) y las gemelas aparecen con mucho menor frecuencia en el testigo negativo por lo que si

H_A / H_O	Se acepta H_A	Se rechaza H_A
Se acepta H_O	Indeterminado (i)	Negativo (-)
Se rechaza H_O	positivo (+)	débil positivo (d ⁺)

Figura 2. Resultados obtenidos en SMART al realizar la comparación de las hipótesis propuesta (Frei y Würzler, 1988).

se tomase en cuenta el concepto anterior, sería mucho más fácil duplicar el número de este tipo de manchas en el tratamiento experimental por lo tanto el número de eventos de este tipo debe ser quintuplicado para considerarse positivo.

El programa SMART, proporciona además la siguiente información:

- Número de clones *mwh*, indica cuántos de los clones que forman el total de manchas presentan células *mwh*.

- Tamaño promedio de clase clonal, estima cuántos ciclos de división celular debieron haber pasado para obtener el tamaño promedio de mancha de cada tratamiento, cuando se comparan el

obtenido en el testigo negativo y los experimentales, puede dar indicios de si el compuesto probado es capaz de producir arresto celular.

- La frecuencia de formación de clones $\times 10^{-5}$, estima la inducción de clones en las series experimentales tomando como referencia los clones recobrados en las series testigo. En la frecuencia de inducción corregida se resta el valor del testigo negativo por lo que el valor obtenido indica exclusivamente la producción de clones debidos al tratamiento, cuando este valor decrece comparado con el testigo puede ser indicativo de muerte celular.

RESULTADOS

Primera parte

- En el tratamiento agudo con cloruro (III) de vanadio (Tabla V, Fig. 3) se obtuvieron resultados significativos para manchas chicas y totales ($m=2$) a las concentraciones de 32, 63, 125 y 250 ppm ($P < 0.05$).

- El óxido (IV) de vanadio sólo incrementó positivamente ($P < 0.05$) la frecuencia de manchas chicas y totales a 32 ppm (Tabla VI, Fig. 4).

Segunda parte

- El cloruro (III) de vanadio al administrarse en forma aguda indujo respuesta significativa para manchas chicas y totales a 2, 8, 16 y 32 ppm, mientras que para grandes ($m=5$) sólo

a 16 ppm ($P < 0.05$) (Tabla VII, Fig. 5). En tratamiento crónico el incremento fue positivo para manchas chicas y totales a partir de 4 ppm ($P < 0.05$) (Tabla VIII, Fig. 6).

- En tratamiento agudo el óxido (IV) de vanadio fue positivo en la inducción de manchas chicas y totales en todas las concentraciones probadas ($P < 0.05$) (Tabla IX, Fig. 7). En el crónico este aumento se dio a 4, 16 y 32 ppm para manchas chicas y totales, y para todos los tipos de eventos (manchas simples chicas, grandes, manchas gemelas y manchas totales) en la concentración de 8 ppm ($P < 0.05$) (Tabla X, Fig. 8).

- El óxido (V) de vanadio, tanto en tratamiento agudo (Tabla XI, Fig. 9) como en crónico (Tabla XII, Fig. 10), aumentó la frecuencia de manchas simples chicas y totales de manera significativa a las concentraciones de 2, 8, 16 y 32 ppm; y en tratamiento crónico además la frecuencia de manchas simples grandes a 8 ppm ($P < 0.05$).

Tercera parte

- El óxido (IV) de vanadio produjo respuesta positiva a 6.5 y 8 ppm para manchas simples chicas y manchas totales en moscas transheterocigotas (Tabla XIII, Fig. 11); mientras que en las moscas portadoras del cromosoma balanceador (alas Serrate) resultó negativo en las mismas concentraciones (Tabla XIV, Fig. 12).

Tabla V. Frecuencia y número de manchas inducidas por VCI, mediante tratamiento agudo en organismos + *flr*²/*mwh* +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células <i>mwh</i>	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ⁵	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.18	22	0.04	5	0.00	0	0.22	27	25	1.84	0.9	
32	120	0.30	36 ⁺	0.03	4 ⁻	0.02	2 ⁻	0.35	42 ⁺	41	1.66	1.4	0.5
63	120	0.32	39 ⁺	0.06	7 ⁻	0.01	1 ⁻	0.39	47 ⁺	47	1.74	1.6	0.8
125	120	0.41	49 ⁺	0.02	2 ⁻	0.01	1 ⁻	0.43	52 ⁺	52	1.68	1.8	0.9
250	120	0.33	40 ⁺	0.01	1 ⁻	0.01	1 ⁻	0.35	42 ⁺	42	1.48	1.4	0.6
500	120	0.14	17 ⁻	0.00	0 ⁻	0.00	0 ⁻	0.14	17 ⁻	17	1.18	0.6	-0.3

*Testigo negativo sacrosos al 5 %.

+ = positivo; - = negativo; d* = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: $\alpha = \beta = 0.05$.

Prueba estadística de una cola.

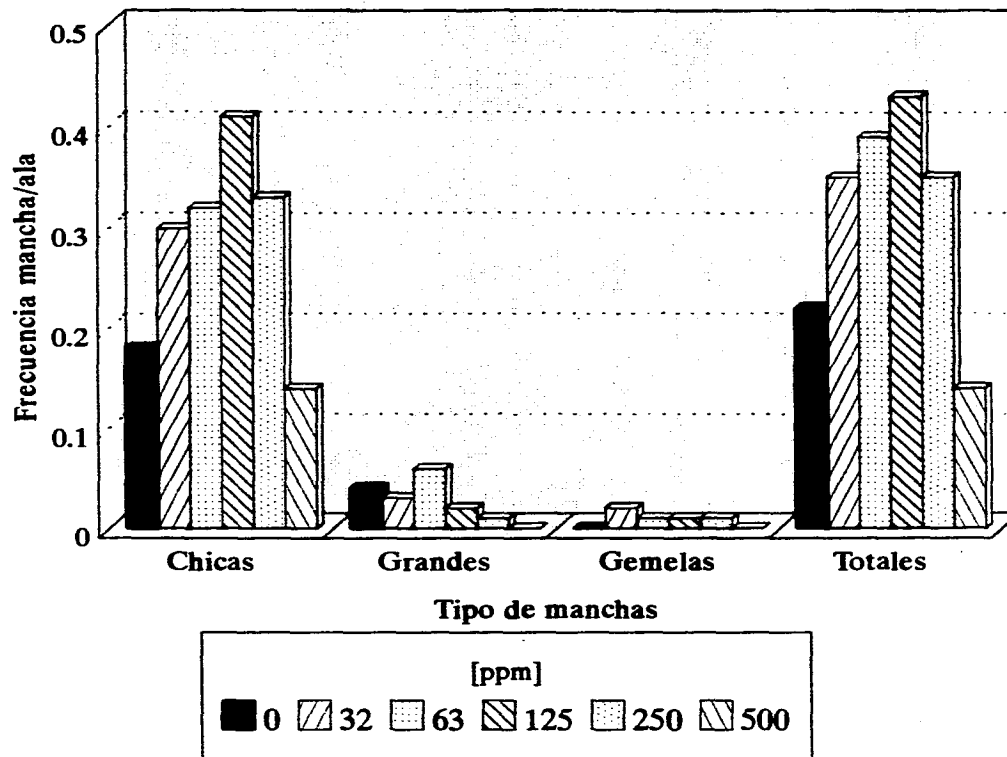


Fig. 3 Frecuencia de manchas/ala inducidas por VCl_3 en concentraciones de 32 a 500 ppm (tratamiento agudo).

Tabla VI. Frecuencia y número de manchas inducidas por V₂O₂ mediante tratamiento agudo en organismos + *flr*²/*mwh* +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células <i>mwh</i>	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ⁴	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.18	22	0.04	5	0.00	0	0.22	27	25	1.84	0.9	
32	120	0.47	57 ⁺	0.03	4 ⁻	0.00	0 ⁻	0.51	61 ⁺	61	1.46	2.1	1.2
63	120	0.22	26 ⁻	0.00	0 ⁻	0.01	1 ⁻	0.22	27 ⁻	27	1.44	0.9	0.1
125	120	0.16	19 ⁻	0.01	1 ⁻	0.02	2 ⁻	0.18	22 ⁻	22	1.82	0.8	-0.1
250	120	0.22	27 ⁻	0.05	6 ⁻	0.02	2 ⁻	0.29	35 ⁱ	35	1.91	1.2	0.3
500	120	0.28	33 ⁱ	0.03	4 ⁻	0.00	0 ⁻	0.31	37 ⁱ	37	1.57	1.3	0.4

*Testigo negativo sucroseo al 5 %.

+ = positivo; - = negativo; d* = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: $\alpha = \beta = 0.05$.

Prueba estadística de una cola.

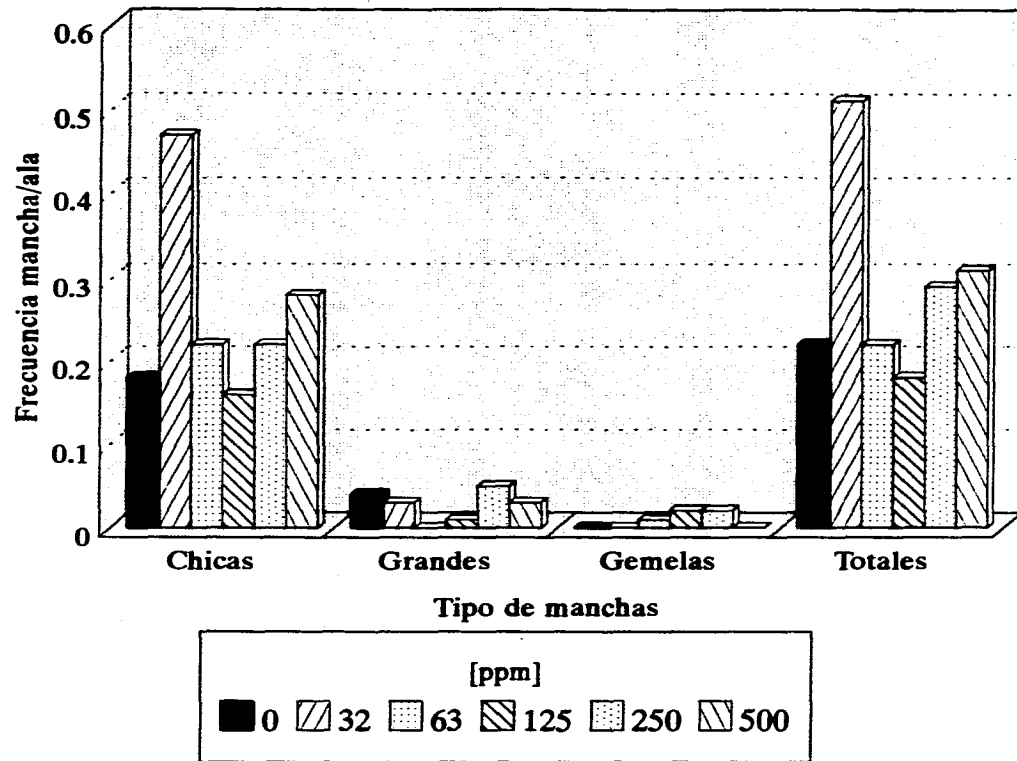


Fig. 4 Frecuencia de manchas/ala inducidas por V_2O_4 en concentraciones de 32 a 500 ppm (tratamiento agudo).

Tabla VII. Frecuencia y número de manchas inducidas por VCl, mediante tratamiento agudo en organismos + *flr*⁺/*mwh* +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células <i>mwh</i>	Tamaño Promedio de clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ⁴	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.15	18	0.04	5	0.00	0	0.19	23	22	2.00	0.8	
2	120	0.32	39 ⁺	0.04	5 ⁻	0.00	0 ⁻	0.37	44 ⁺	44	1.68	3.5	0.8
4	120	0.15	18 ⁻	0.03	3 ⁻	0.00	0 ⁻	0.17	21 ⁻	21	1.57	0.7	0.0
8	120	0.33	40 ⁺	0.07	8 ⁻	0.00	0 ⁻	0.40	48 ⁺	48	1.65	1.6	0.9
16	120	0.31	37 ⁺	0.12	15 ⁺	0.00	0 ⁻	0.43	52 ⁺	51	2.02	1.7	1.0
32	120	0.32	38 ⁺	0.04	5 ⁻	0.02	2 ⁻	0.37	45 ⁺	45	1.71	1.5	0.8

*Testigo negativo sacrosa al 5 %.

+ = positivo; - = negativo; d⁺ = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: $\alpha = \beta = 0.05$.

Prueba estadística de una cola.

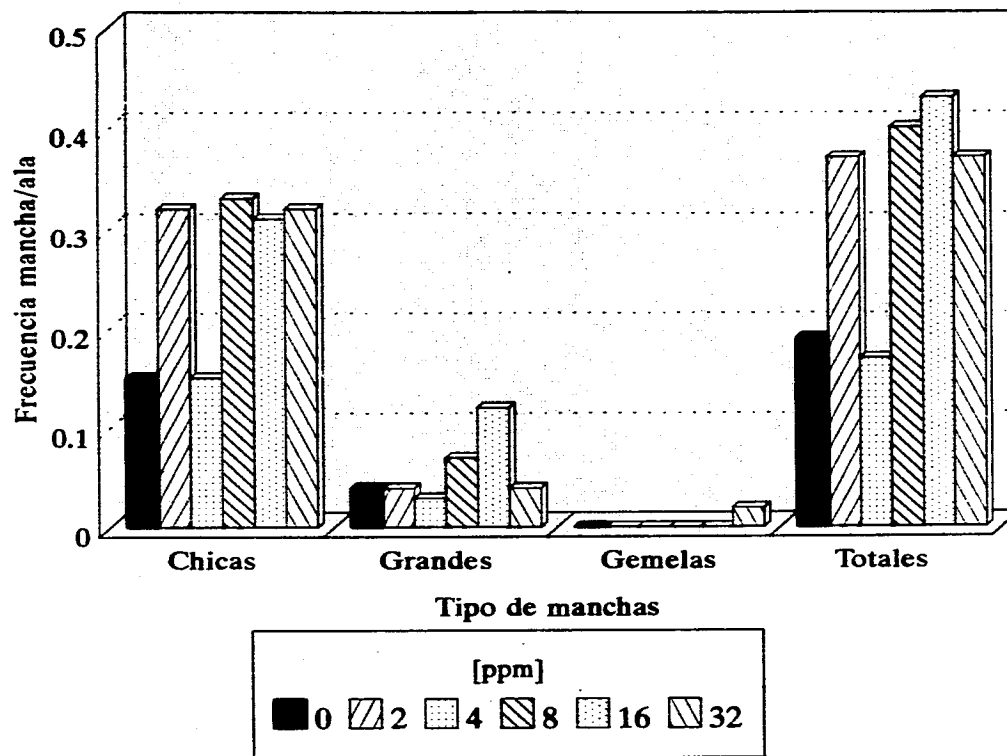


Fig. 5 Frecuencia de manchas/ala inducidas por VCl_3 en concentraciones de 2 a 32 ppm (tratamiento agudo).

Tabla VIII. Frecuencia y número de manchas inducidas por VCl₃ mediante tratamiento crónico en organismos + n^2/mwh +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células mwh	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ³	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.16	19	0.04	5	0.01	1	0.21	25	25	2.04	0.9	
2	120	0.14	17-	0.00	0-	0.00	0-	0.14	17-	17	1.35	0.6	-0.3
4	120	0.34	41 ⁺	0.04	5-	0.00	0-	0.38	46 ⁺	45	1.62	1.5	0.7
8	120	0.43	52 ⁺	0.06	7-	0.03	3 ⁱ	0.52	62 ⁺	60	1.78	2.1	1.2
16	120	0.35	42 ⁺	0.01	1-	0.00	0-	0.36	43 ⁺	43	1.47	1.5	0.6
32	120	0.41	49 ⁺	0.01	1-	0.00	0-	0.42	50 ⁺	50	1.42	1.7	0.9

*Testigo negativo agua destilada

+ = positivo; - = negativo; d* = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: $\alpha = \beta = 0.05$.

Prueba estadística de una cola.

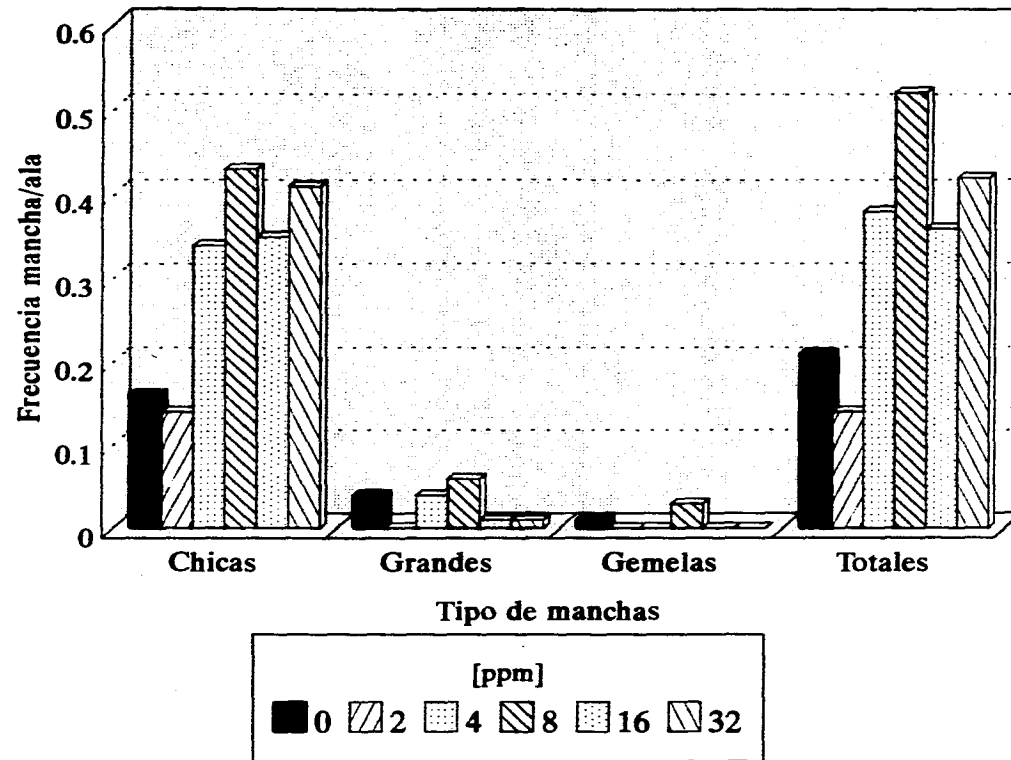


Fig. 6 Frecuencia de manchas/ala inducidas por VCl_3 en concentraciones de 2 a 32 ppm (tratamiento crónico).

Tabla IX. Frecuencia y número de manchas inducidas por V₂O₅ mediante tratamiento agudo en organismos + flr³/mwh +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células mwh	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ⁵	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.15	18	0.04	5	0.00	0	0.19	23	22	2.00	0.8	
2	120	0.34	41 ⁺	0.05	6 ⁻	0.00	0 ⁻	0.39	47 ⁺	47	1.66	1.6	0.9
4	120	0.30	36 ⁺	0.02	2 ⁻	0.01	1 ⁻	0.32	39 ⁺	39	1.41	1.3	0.6
8	120	0.38	46 ⁺	0.02	2 ⁻	0.01	1 ⁻	0.41	49 ⁺	49	1.41	1.7	0.9
16	120	0.46	55 ⁺	0.04	5 ⁻	0.00	0 ⁻	0.50	60 ⁺	60	1.35	2.1	1.3
32	120	0.50	60 ⁺	0.03	4 ⁻	0.01	1 ⁻	0.54	65 ⁺	65	1.52	2.2	1.5

*Testigo negativo sacara al 5 %.

+ = positivo; - = negativo; d⁻ = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: α = β = 0.05.

Prueba estadística de una cola.

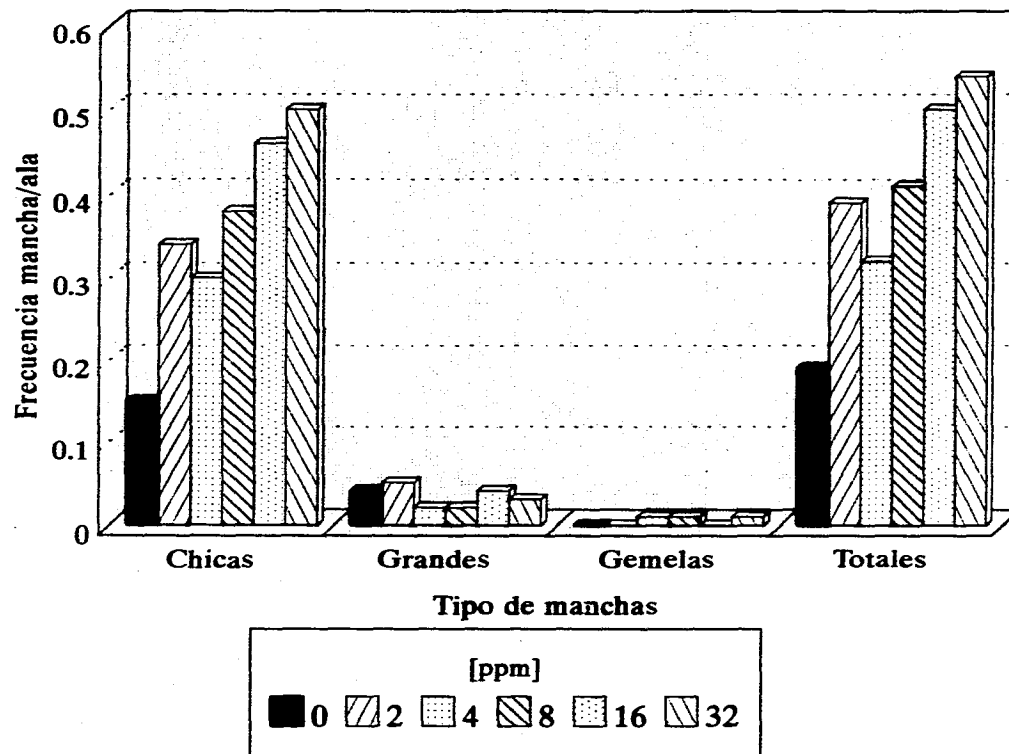


Fig. 7 Frecuencia de manchas/ala inducidas por V_2O_4 en concentraciones de 2 a 32 ppm (tratamiento agudo).

Tabla X. Frecuencia y número de manchas inducidas por V₂O₅ mediante tratamiento crónico en organismos + flr³/mwh +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células mwh	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ⁵	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.16	19	0.04	5	0.01	1	0.21	25	25	2.04	0.9	
2	120	0.18	22-	0.03	3-	0.02	2-	0.22	27-	26	1.65	0.9	0.0
4	120	0.36	43 ⁺	0.03	4-	0.00	0-	0.39	47 ⁺	47	1.53	1.6	0.8
8	82	1.12	92 ⁺	1.20	90 ⁺	0.26	21 ⁺	2.57	211 ⁺	188	3.05	9.4	8.6
16	40	0.40	16 ⁺	0.12	5 ^l	0.03	1-	0.55	22 ⁺	22	1.91	2.3	1.4
32	120	0.32	39 ⁺	0.12	14 ⁺	0.03	3-	0.47	56 ⁺	54	1.83	1.8	1.0

*Testigo negativo agua destilada

+ = positivo; - = negativo; d⁺ = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: α = 5 = 0.05.

Prueba estadística de una cola.

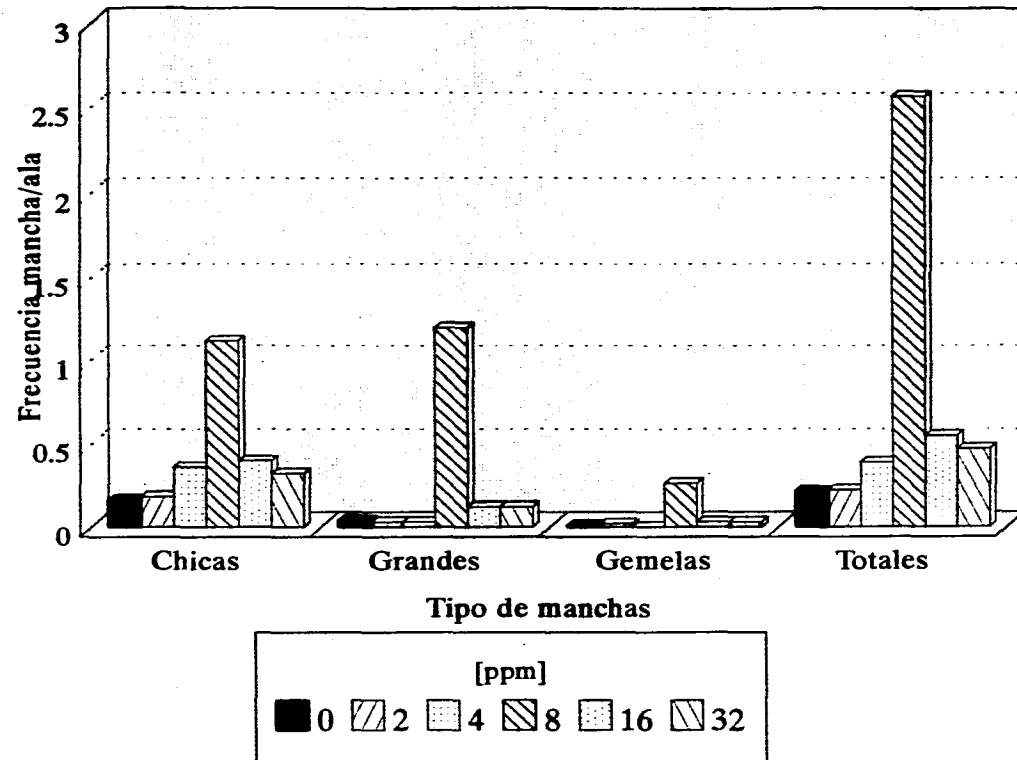


Fig. 8 Frecuencia de manchas/ala inducidas por V_2O_4 en concentraciones de 2 a 32 ppm (tratamiento crónico).

Tabla XI. Frecuencia y número de manchas inducidas por V₂O₅ mediante tratamiento agudo en organismos + flr³/mwh +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células mwh	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ⁵	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.15	18	0.04	5	0.00	0	0.19	23	22	2.00	0.8	
2	120	0.36	43 ⁺	0.04	5 ⁻	0.02	2 ⁻	0.42	50 ⁺	50	1.64	1.7	1.0
4	120	0.18	22 ⁱ	0.00	9 ⁻	0.00	0 ⁻	0.26	31 ⁻	31	2.06	1.1	0.3
8	120	0.28	33 ⁺	0.04	5 ⁻	0.02	2 ⁻	0.33	40 ⁺	40	1.55	1.4	0.6
16	120	0.30	36 ⁺	0.07	8 ⁱ	0.00	0 ⁻	0.37	44 ⁺	44	1.84	1.5	0.8
32	120	0.32	39 ⁺	0.00	0 ⁻	0.00	0 ⁻	0.32	39 ⁺	39	1.38	1.3	0.6

*Testigo negativo sacarosa al 5%.

+ = positivo; - = negativo; d⁺ = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: α = β = 0.05.

Prueba estadística de una cola.

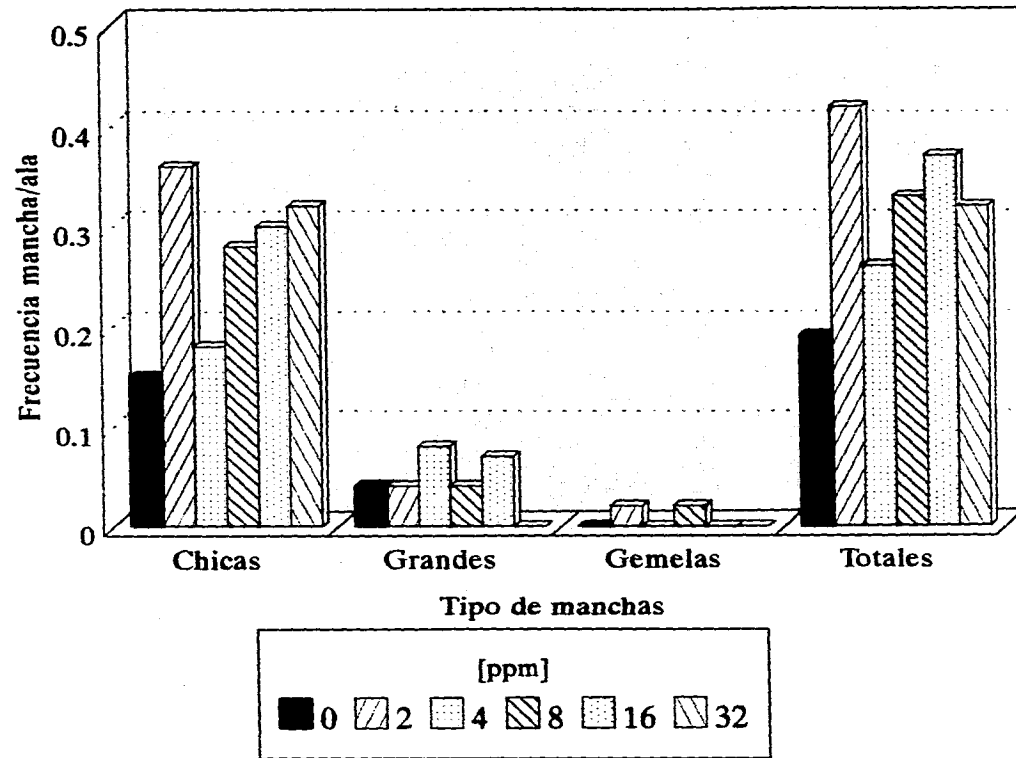


Fig. 9 Frecuencia de manchas/ala inducidas por V_2O_5 en concentraciones de 2 a 32 ppm (tratamiento agudo).

Tabla XII. Frecuencia y número de manchas inducidas por V₂O₅ mediante tratamiento crónico en organismos + *flr*²/*mwh* +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células <i>mwh</i>	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ⁵	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.16	19	0.04	5	0.01	1	0.21	25	25	2.04	0.9	
2	120	0.33	40 ⁺	0.01	1 ⁻	0.0	0 ⁻	0.34	41 ⁺	41	1.32	1.4	0.5
4	120	0.21	25 ⁱ	0.01	1 ⁻	0.0	0 ⁻	0.22	26 ⁻	26	1.54	0.9	0.0
8	120	0.43	52 ⁺	0.12	15 ⁺	0.01	1 ⁻	0.57	68 ⁺	68	1.96	2.3	1.5
16	120	0.35	42 ⁺	0.01	1 ⁻	0.00	0 ⁻	0.36	43 ⁺	43	1.42	1.5	0.6
32	120	0.36	43 ⁺	0.04	5 ⁻	0.00	0 ⁻	0.40	48 ⁺	48	1.58	1.6	0.8

*Testigo negativo agua destilada

+ = positivo; - = negativo; d⁺ = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: α = β = 0.05.

Prueba estadística de una cola.

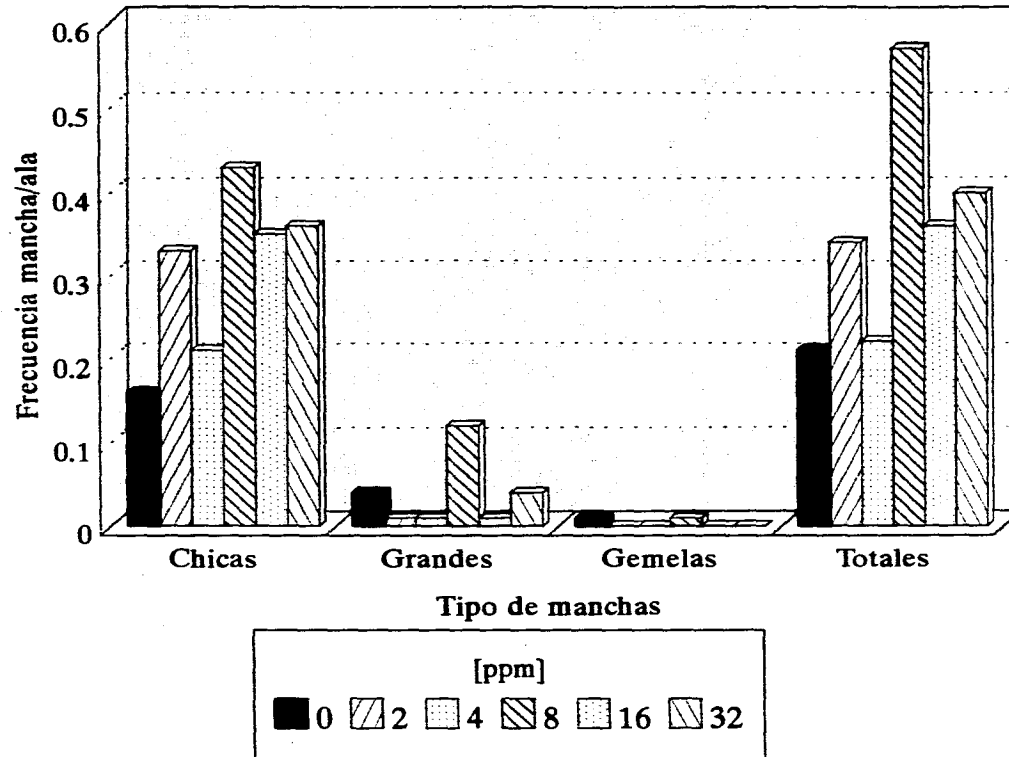


Fig. 10 Frecuencia de manchas/ala inducidas por V_2O_5 en concentraciones de 2 a 32 ppm (tratamiento crónico).

Tabla XIII. Frecuencia y número de manchas inducidas por V₂O₅ inducido en tratamiento crónico en organismos + flr²/mwh +.

[ppm]	Número de nias analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células mwh	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ³	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.23	28	0.03	4	0.0	0	0.27	32	32	1.53	1.1	
6.5	120	0.60	72 ⁺	0.08	9 ⁻	0.0	0 ⁻	0.68	81 ⁺	81	1.43	2.8	1.7
8	120	0.99	119 ⁺	0.25	30 ⁺	0.02	2 ⁻	1.26	151 ⁺	151	1.66	5.2	4.1
9.5	120	0.29	35 ⁻	0.03	4 ⁻	0.0	0 ⁻	0.32	39 ⁻	39	1.44	1.3	0.2
11	120	0.33	40 ⁻	0.03	4 ⁻	0.01	1 ⁻	0.37	45 ⁻	45	1.44	1.5	0.4
13.5	120	0.19	23 ⁻	0.06	7 ⁻	0.02	2 ⁻	0.27	32 ⁻	32	2.03	1.1	0.0
15	120	0.26	31 ⁻	0.03	3 ⁻	0.03	3 ⁻	0.31	37 ⁻	37	1.54	1.3	0.2

*Testigo negativo agua destilada

+ = positivo; - = negativo; d* = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: $\alpha = \beta = 0.05$.

Prueba estadística de una cola.

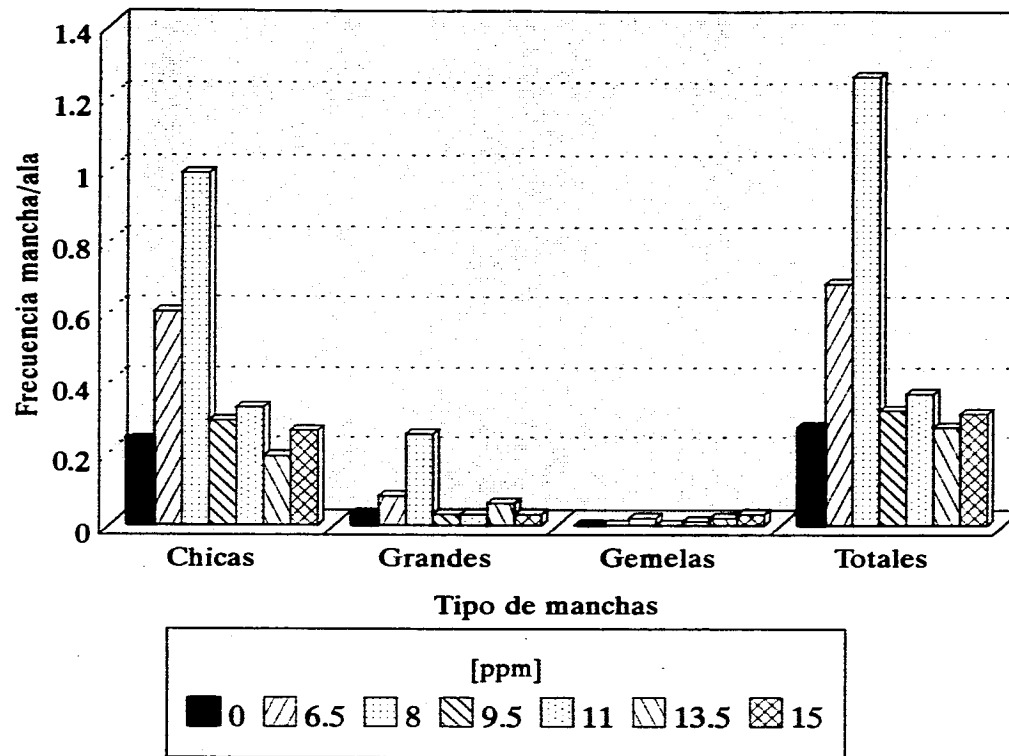


Fig. 11 Frecuencia de manchas/ala inducidas por V_2O_4 en concentraciones de 6.5 a 15 ppm en organismos + *flr*³/*mwh* + (tratamiento crónico).

Tabla XIV. Frecuencia y número de manchas inducidas por V₂O₅ mediante tratamiento crónico en organismos *TM3,Ser/mwh* +.

[ppm]	Número de alas analizadas	Manchas Simples Pequeñas (1-2 cel.) m=2		Manchas Simples Grandes (>2 cel.) m=5		Manchas Gemelas (ambos fenotipos) m=5		Manchas Totales m=2		Clones con células <i>mwh</i>	Tamaño Promedio de clase clonal	Frecuencia de formación de clones X 10 ³	
		Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.	Frec.	No.			Observado	Testigo corregido
Testigo*	120	0.11	13	0.00	0	0.00	0	0.11	13	13	1.15	0.4	
6.5	120	0.10	12-	0.00	0-	0.00	0-	0.10	12-	12	1.25	0.4	0.0
8	120	0.13	16 ⁱ	0.00	0-	0.00	0-	0.13	16 ⁱ	16	1.19	0.5	0.1

*Testigo negativo agua destilada

+ = positivo; - = negativo; d* = débil positivo; i = indeterminado; m = factor de multiplicación.

Niveles de probabilidad: $\alpha = \beta = 0.05$.

Prueba estadística de una cola.

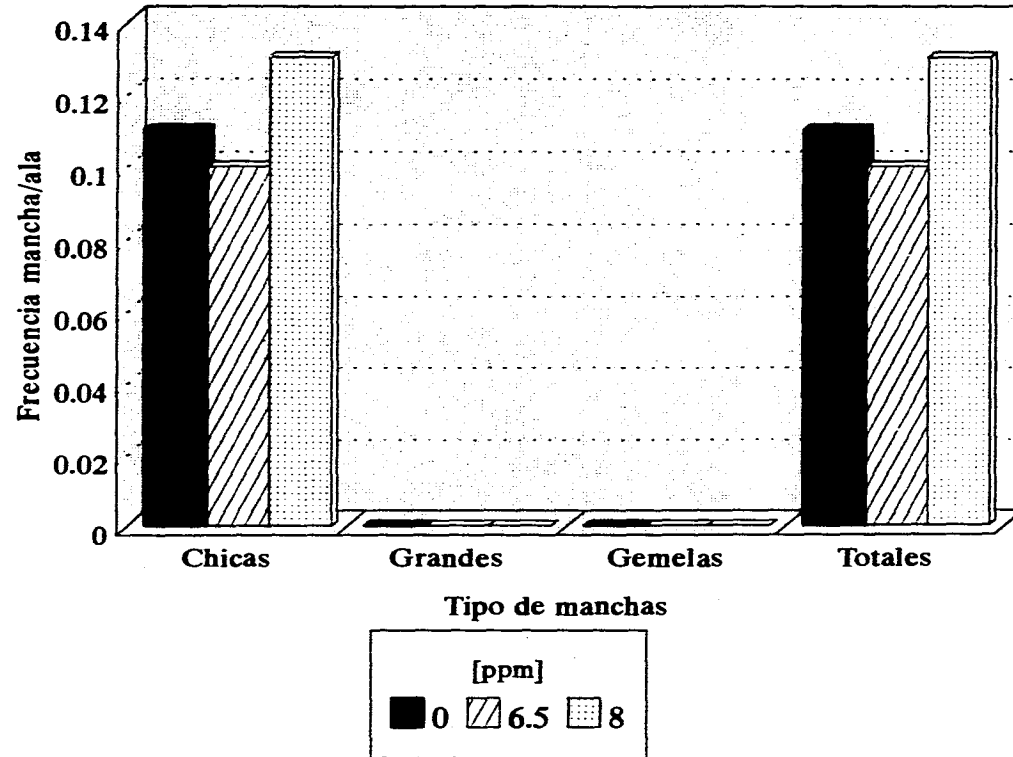


Fig. 12 Frecuencia de manchas/ala inducidas por V_2O_4 en concentraciones de 6.5 y 8 ppm organismos *TM3*, *Ser/mwh* + (tratamiento crónico).

DISCUSION

De los aproximadamente cien mil compuestos que se emplean en la industria y de los subproductos que se encuentran diseminados en el ambiente y a los que están expuestos los organismos, sólo alrededor de diez mil han sido estudiados con relación al riesgo que representan tanto tóxica como genotóxicamente, de ellos cerca de mil han mostrado han mostrado ser genotóxicos en los diferentes sistemas de prueba (Timbrell, 1989).

Cuando se realiza la evaluación del riesgo genotóxico que implica la exposición a un compuesto, utilizando para ello alguno de los sistemas de prueba establecidos, deben analizarse factores adicionales que modifiquen la expresión final del daño y por lo tanto los resultados obtenidos. Uno de éstos son las características propias del modelo biológico a utilizar, es decir, si se trata de un sistema de prueba *in vivo* o *in vitro*. En un sistema *in vivo*, las posibles vías por las que un compuesto puede ingresar y las rutas que sigue posteriormente son variadas y se asocian en gran medida con sus características físicas y químicas; puede ocurrir que al ingresar, el compuesto sea reconocido por los mecanismos de desintoxicación propios del organismo y sea rápidamente eliminado sin provocar efecto alguno; por otro lado, si se trata de un compuesto cuya polaridad facilita ya sea su incorporación a diversas rutas metabólicas o bien su interacción adicional con biomoléculas, se prolonga su permanencia dentro del organismo y por ende su acumulación. El depósito del compuesto o de sus derivados, a su vez puede tener diversas

consecuencias: si la estructura fisicoquímica del compuesto tiene similitud con alguna molécula implicada en alguna vía metabólica, dependiendo de la concentración, podrá establecerse competencia por el sitio activo o sustituirla por completo (como ocurre con la timina y su análogo, el 5-bromouracilo) y provocar alteraciones que lleguen inclusive a interferir con el crecimiento celular o que resulten letales para la célula afectada (Russell, 1992).

En el análisis de las posibles interacciones que ocurren entre un compuesto que ha pasado las múltiples barreras del organismo y el material hereditario, es importante considerar la fase del ciclo celular en la cual el xenobiótico ingresa al núcleo celular. Durante la interfase, la molécula de ADN atraviesa por diferentes grados de compactación y de asociación con diversas proteínas; además, en la fase de síntesis, el ADN se desprende de un gran número de proteínas (histónicas y no histónicas) presentándose prácticamente desnudo y exhibiendo regiones altamente polares las cuales están expuestas en mayor medida a la interacción con moléculas extrañas (Lewin, 1994).

Otro punto importante que debe tomarse en cuenta es el tipo de célula que es afectada, ya que, si esta alteración se da en células germinales la mutación se fija y el cambio se expresará en las siguientes generaciones; en contraste si el daño se produce en las células somáticas, ésta puede expresarse en diversas formas dependiendo de si la célula alterada se encontraba diferenciada o no en el momento de interactuar con el xenobiótico. Si la célula cumplía ya una función específica en algún

órgano, su metabolismo puede ser alterado de tal manera que éste sea el origen de un proceso canceroso o bien que la célula muera; las alteraciones en células indeterminadas pueden modificar la expresión de proteínas, dichas alteraciones pueden pasar desapercibidas si no afectan el sitio activo (pseudosilvestres); provocar una expresión diferencial de proteínas morfológicas y/o fisiológicas produciendo fenocopias (efecto teratogénico) o modificar el tiempo de expresión de proteínas que a su vez alteran la cascada normal de expresión génica, cambio que también se ha asociado con el desarrollo de algunas neoplasias (Baringa, 1995; Halder, et al., 1995).

El conocimiento de la naturaleza y de las características fisicoquímicas de los compuestos es fundamental para comprender el posible origen del daño observado, ya que permite hacer predicciones acerca de un probable mecanismo de acción y la forma en que la célula o el organismo en conjunto reaccionan ante un compuesto extraño.

Muchos compuestos no son capaces de causar daño *per se* y prácticamente podrían considerarse como no riesgosos, pero cuando son biotransformados, y los metabolitos resultantes son altamente reactivos, reciben el nombre de compuestos de acción indirecta; otros más son capaces de provocar daño sin requerir de biotransformación, y son conocidos como compuestos de acción directa (Graf, 1983; 1984).

Los elementos o compuestos que están dispersos en la naturaleza, generalmente se encuentran formando diversos

complejos con ligandos que se hallan a su alrededor, formando así moléculas que si bien tienen un núcleo en común, las diferentes asociaciones les confieren características distintas que repercuten directamente en su potencial genotóxico. Es importante pues, evaluar diversos compuestos derivados del mismo elemento pues esto permitirá analizar cómo las diversas conformaciones químicas les confieren cualidades distintas que son relevantes en la toma de decisiones sobre su utilización.

El estimar para su evaluación tres sales de vanadio: cloruro (III) de vanadio (VCl_3), óxido (IV) de vanadio (V_2O_4) y óxido (V) de vanadio (V_2O_5) cada una con características diferentes (además de ser las tres sales más importantes de este metal por su uso a nivel industrial), permitió analizar y comparar como funciona el vanadio cuando está formando complejos con diversos ligandos.

El vanadio en forma de diversos compuestos ha mostrado ser un agente capaz de producir una segregación anormal de los cromosomas durante la meiosis y la mitosis, además de ser un agente mitogénico efectivo, ambos resultados obtenidos mediante pruebas *in vitro* (Roldán y Altamirano, 1990; Ramírez, et al., 1995).

En este trabajo, utilizando las células somáticas de *Drosophila melanogaster*, se determinaron en una primera fase el daño genotóxico inducido por el óxido (IV) y el cloruro (III) de vanadio, en las mismas condiciones en las cuales se estudió previamente el óxido (V) de vanadio (Abundis, 1994), esto con la finalidad de establecer si las tres sales provocan efectos

genéticos similares. El óxido (IV) de vanadio produjo un incremento significativo en la frecuencia de manchas simples chicas y totales en la concentración de 32 ppm, mientras que en las otras concentraciones la respuesta mostró un comportamiento asintótico (Tabla VI), similar al observado en los tratamientos con óxido (V) de vanadio, esto sugiere que el óxido (IV) de vanadio también es tóxico. En contraste, el cloruro (III) de vanadio, probado en las mismas condiciones produjo un incremento significativo de manchas simples chicas y totales a 32, 63, 125 y 250 ppm, mostrando una menor toxicidad (Tabla V).

Dado que los resultados obtenidos en esta primera parte mostraron respuestas positivas predominantemente en las concentraciones más bajas (32 ppm), para determinar si la frecuencia de eventos observados estaba influida por la citotoxicidad que las sales de vanadio han mostrado sobre las células de *Drosophila* (Abundis, 1994), se decidió evaluar los compuestos de vanadio mediante un segundo protocolo, incluyendo en esta fase al óxido (V) de vanadio. Los tratamientos se realizaron utilizando concentraciones menores ya que existen reportes en los cuales el potencial genotóxico de metaloides como el arsénico puede ser detectado a concentraciones bajas (Ramos-Morales y Rodríguez-Arnais, 1995), para ello se tomó como la concentración más alta 32 ppm (concentración que fue la única que produjo incremento significativo en las tres sales). Se realizaron tratamientos en exposición aguda (72 x 6 h) y crónica (0 x 120 h), tratando con éstos de determinar además de su potencial genotóxico, el posible

mecanismo de acción para cada uno de los tres compuestos.

En esta segunda etapa, el tratamiento agudo con VCl_3 , produjo incrementos significativos en la frecuencia de manchas totales en varias de las concentraciones utilizadas: 2, 8, 16 y 32 ppm (Tabla VII); en 4 ppm, la frecuencia de aparición de manchas es similar a la del lote testigo, esta variación en la respuesta podría deberse a que esta concentración logra estimular la actividad de enzimas implicadas en la eliminación de xenobióticos, sin embargo, en larvas tratadas a concentraciones mayores, la genotoxicidad de esta sal vuelve a detectarse probablemente por la saturación gradual de éstos. En la exposición crónica (Tabla VIII), la respuesta fue significativa a partir de 4 ppm con un comportamiento similar al observado en la exposición aguda, es decir, la respuesta no fue concentración-dependiente.

En los tratamientos agudo y crónico con el óxido (V) de vanadio, se repitió la respuesta asintótica, siendo significativa para manchas simples chicas y totales en 2, 8, 16 y 32 ppm (Tablas XI y XII); además, en el tratamiento crónico se incrementó la frecuencia de manchas simples grandes a 8 ppm. De ambos tratamientos, en el crónico se observaron incrementos mayores en las frecuencias de manchas lo que sugiere que la exposición prolongada a concentraciones subtóxicas durante períodos mayores de tiempo refleja más fielmente el potencial genotóxico de compuestos como el vanadio.

Para el óxido (IV) de vanadio, en el tratamiento agudo se observó incremento significativo en la frecuencia de manchas

simples chicas y totales en todas las concentraciones (Tabla IX), contrastando con la respuesta obtenida a concentraciones mayores a 32 ppm (Tabla VI), lo cual puede deberse a la toxicidad de la sal y no a la nula genotoxicidad de ésta. En el tratamiento crónico (Tabla X), no obstante que se obtuvo respuesta positiva en varias concentraciones, se ubican dos aspectos dignos de análisis. Primero, se detectó una alta tasa de mortalidad a 16 ppm (Fig. 13), en esta concentración la cantidad de organismos transheterocigotos recobrados como adultos (alas silvestres) fue menor que en las otras concentraciones, incluso la de 32 ppm; además, en ella no se recuperaron organismos portadores del cromosoma balanceador (alas *Serrate*) en ninguna de las repeticiones. El segundo punto importante, es que a 8 ppm el incremento en la frecuencia de manchas fue un orden de magnitud mayor con respecto al lote testigo, obteniéndose además respuesta positiva para todos los tipos de manchas, siendo esta concentración a la cual se observó el mayor daño genotóxico producido por esta sal. Para corroborar si 8 ppm es la concentración a la cual se obtiene la máxima inducción de daño genotóxico, la tercera y última parte del estudio comprendió la evaluación del efecto del óxido (IV) de vanadio en tratamiento crónico en un rango de concentraciones cercano a 8 ppm (Tabla XIII) y sin rebasar la concentración de 16 ppm (dado que en ésta se detectó alta toxicidad, evidenciada por el reducido número de organismos recobrados). Los resultados mostraron que nuevamente la concentración que produjo mayor inducción de manchas fue 8 ppm, seguida

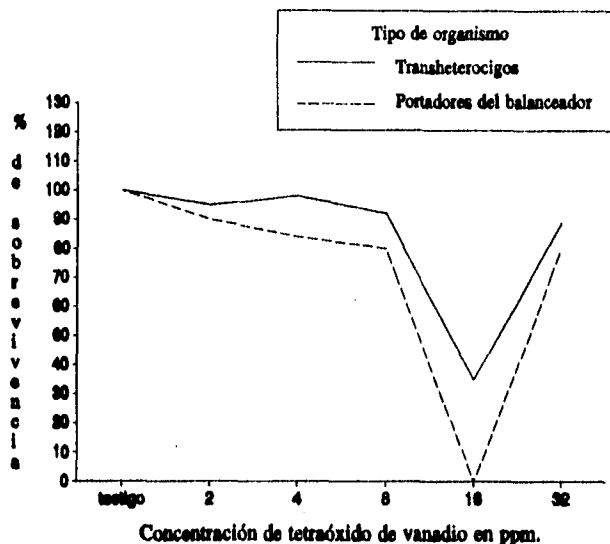


Figura 13. porcentaje de sobrevivencia obtenido en el tratamiento crónico con V_2O_5 , el porcentaje es mayor para los organismos transheterocigos en todas las concentraciones probadas.

por 6.5 ppm, en las demás concentraciones probadas los resultados fueron negativos. Dado que los tipos de manchas detectados por la prueba SMART pueden originarse mediante diferentes eventos, para estimar qué proporción de las manchas se originaron mediante el fenómeno de recombinación mitótica, se analizaron las alas de las moscas portadoras del cromosoma balaceador (no detectan recombinación) de las concentraciones que indujeron respuesta positiva en este último tratamiento (Tabla XIV). El cociente $\frac{\text{cones mwh en alas de moscas silvestres}}{\text{clones mwh en alas de moscas portadoras del balaceador}}$ que se traduce como la diferen-

cia entre la frecuencia de manchas obtenida en los organismos transheterocigotos y la observada en los organismos portadores de *TM3,Ser* es indicadora del porcentaje de recombinación provocada por el compuesto analizado; por ejemplo, si la diferencia entre las frecuencias de los dos tipos de progenie es mínima se puede asumir que la mayor parte de las manchas recobradas se deben a procesos como mutación puntual, delección, no disyunción además de recombinación; en contraste, una amplia diferencia en las frecuencias indica la participación predominante de la recombinación mitótica en la producción de las manchas mutantes (Graf et al., 1992). En las moscas *TM3,Ser* en las concentraciones de 6.5 y 8 ppm, la frecuencia de manchas fue similar al testigo negativo, por lo que se concluye que la mayoría de las manchas inducidas por el óxido (IV) de vanadio en éstas concentraciones se deben a recombinación mitótica (Fig. 14).

En general, el tipo de eventos recobrados y la magnitud de la respuesta estuvo en relación con la duración de la exposición al óxido (IV) de vanadio: tratamiento crónico > tratamiento agudo.

Pudo observarse además un comportamiento asintótico en todos los tratamientos, el cual puede estar indicando que los compuestos metálicos tienen varios picos de acción genotóxica, efecto que puede estar modulado por diversos factores (Figs. 15 y 16).

Cuando se comparan los datos obtenidos en los tratamientos crónicos realizados con V_2O_4 , si bien en ambos 8 ppm fue la concentración en la cual el incremento en la frecuencia de

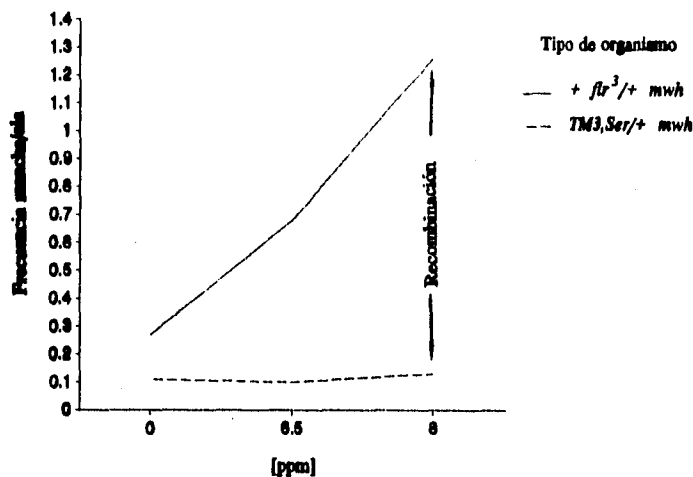


Figura 14. Comparación entre la frecuencia de clones *mwh* obtenidos en los tipos de organismos para determinar el porcentaje de recombinación (según Graf, et al., 1991)

manchas fue siempre mayor, la respuesta, en cuanto al tipo de mancha implicada no parece concordar entre sí. Para explicar esta variación debe considerarse que las soluciones fueron preparadas mediante diluciones, en el primer caso a partir de una concentración de 500 ppm y en el segundo a partir de una de 32 ppm, además el compuesto valorado no es 100 % soluble en agua y es ligeramente higroscópico y finalmente, dado que los resultados en este trabajo muestran que el rango de concentraciones a las cuales el óxido (IV) de vanadio induce daño es reducido, todo esto podría llevar a obtener ligeras variaciones en la concentración las que

dado su espectro reducido de acción producen diferencias en la respuesta.

Es importante señalar que cuando se realizó el análisis de las alas de los organismos tratados con V_2O_5 en tratamiento crónico, sobre todo en las concentraciones de 8 y 16 ppm, se observó la aparición de manchas en las cuales al parecer, cada pelo o

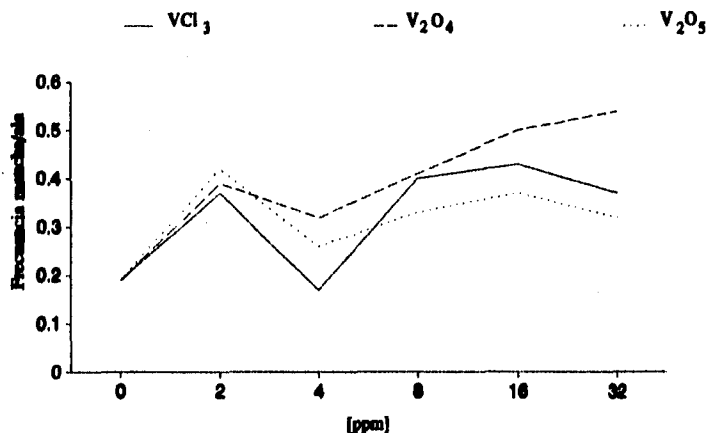


Figura 15. Frecuencia de manchas/ala obtenida con los tres compuestos de vanadio en tratamiento agudo, puede observarse el comportamiento similar entre ellos.

tricoma presentaba simultáneamente los dos fenotipos, es decir *mwh* y *f1r*¹, apariencia que no se detectó con las otras sales y a ninguna otra concentración, este fenómeno ha sido atribuido parcialmente a la expresibilidad variable del marcador *mwh*; pero no se puede descartar la posibilidad de que también podría ser

producto de eventos múltiples de recombinación entre los marcadores distal y proximal y el marcador proximal y el centrómero (Fig. 17); otras explicaciones alternativas podrían sugerirse mediante la consideración de la sucesión de diferentes eventos en una misma célula.

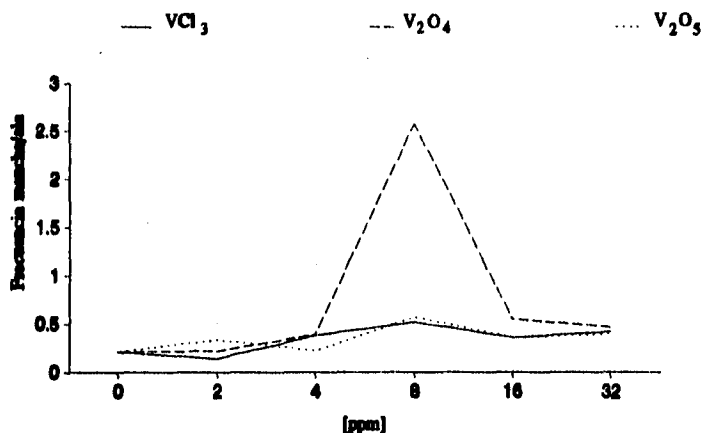


Figura 16. Frecuencia obtenida con las tres sales en tratamiento crónico, es evidente el comportamiento asincrónico en la respuesta.

Por otra parte se ha determinado que el V_2O_4 , al igual que otros compuestos de vanadio son biotransformados al ingresar al organismo, el primer paso consiste en su modificación a vanadato (VO_3^- , forma pentavalente) un ion intermedio en el proceso de degradación, durante este paso en el cual interviene el sistema de mono-oxigenasas (en levaduras se ha mostrado que esta trans-

formación disminuye el potencial genotóxico de los compuestos de vanadio) (Willsky y Dosch, 1986), al parecer genera radicales libres, los cuales pueden dañar directamente al ADN.

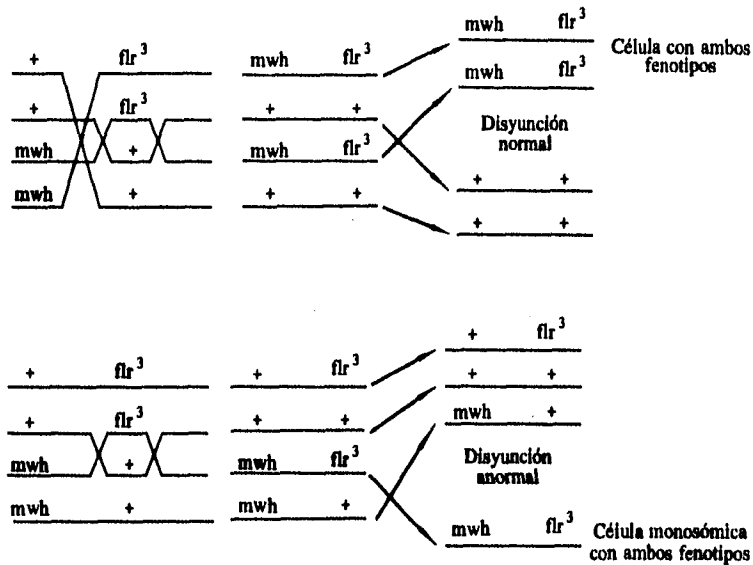


Figura 17. Eventos recombinogénicos múltiples que podrían provocar la aparición de células que expresan ambos fenotipos.

siguiendo el proceso de biotransformación, el paso inmediato es el cambio del VO_2^+ a vanadil (VO_2^+), conformación tetravalente del vanadio que se forma fácilmente en medios ácidos y es la más estable a nivel celular; ambos iones son considerados agentes potenciales contra la tubulina (Galli et al., 1991). Así, dada la cantidad de ambos iones presente en las células afectadas, no es

difícil suponer que la no disyunción cromosómica pueda ocurrir además de la actividad recombinogénica encontrada, sin embargo este punto requiere ser probado experimentalmente.

En general, se observó que las tres sales de vanadio manifiestan su efecto principalmente en la frecuencia de manchas simples chicas, las cuales en la prueba SMART se han asociado con compuestos indirectos (que requieren ser biotransformados); sin embargo no se puede descartar que este efecto pudiera estar asociado con la capacidad que tiene el vanadio de detener la proliferación celular a concentraciones relativamente bajas y por la que se ha utilizado como antineoplásico (Kopf et al., 1981b); esto sumado a que es menos tóxico que los compuestos de platino (Kopf, 1987) lo hacen ideal para su uso como agente citostático. Además es capaz de provocar un crecimiento celular irregular, metafases picnóticas, cromosomas retrasados en anafase y figuras mitóticas multipolares (Kopf, 1982), aunado al arresto de gran número de células en la etapa final de S y G₁, además de algunas en G₁, las cuales después de retirado el compuesto se comportan como poblaciones sincrónicas que pueden entrar en mitosis (Kopf et al., 1981a y 1983). El número promedio de ciclos de división celular obtenido en todos los tratamientos mostró que en las series tratadas éste fue, en la mayoría de las concentraciones, menor al de las series testigo correspondientes (Tablas V a XIV), lo que indica la interferencia de las sales de vanadio con el ciclo celular.

Sumado al análisis anterior está el hecho de que el

vanadato, el ion intermedio en la ruta de biotransformación del vanadio, estimula la actividad de la glutatión S-transferasa, enzima involucrada en los procesos de desintoxicación de agentes xenobióticos o fase II del metabolismo. Esta característica que muestran algunos metales de transición, está presente también en muchos de los agentes anticancerígenos ya que intervienen en la inhibición de la proliferación de tumores, como es el caso del vanadio que es utilizado como un potente agente quimiopreventivo que actúa de manera indirecta al estimular el funcionamiento de sistemas enzimáticos involucrados en la parte final del proceso de excreción de xenobióticos (Bishayee y Chatterjee, 1993). Cuando se utiliza al vanadio como agente antineoplásico, se le administra siempre en forma de vanadato, ya que formas químicas más complejas deben ser previamente metabolizadas por las enzimas dependientes de citocromos P-450 para formar la estructura pentavalente.

Si se considera que la glutatión actúa hasta que el vanadio administrado ha sido parcialmente transformado a la forma pentavalente (Sabbioni et al., 1993), se puede asumir que la baja frecuencia de manchas obtenidas a concentraciones altas de las tres sales se debió parcialmente a la presencia de este mecanismo enzimático de desintoxicación que atrapa parte de los iones vanadato generados en el proceso inicial de biotransformación.

Otro punto que es importante analizar es la respuesta no dependiente de la concentración que se observó en los tratamientos con las diferentes sales de vanadio. Se ha descrito la

existencia desde bacterias hasta mamíferos, de proteínas de bajo peso molecular involucradas en la respuesta a la exposición a altas concentraciones de metales pesados, conocidas como metalotioneínas. En condiciones normales las metalotioneínas se presentan en los diversos organismos en concentraciones traza y llevan al cabo funciones relacionadas con la desintoxicación, pero cuando ocurre exposición a altas concentraciones de metales, se incrementa su síntesis formándose rápidamente complejos proteína-metal para facilitar la excreción de los compuestos extraños. Si bien este tipo de sistemas se ha descrito sólo para algunos metales como el cobre, zinc, níquel y cadmio, también responden a otros estímulos como el alcohol (Koterov, 1994), las citocinas (Sawada et al., 1994) y los glucocorticoides (Lewin, 1994), por lo que es factible que existan, ya sea sistemas enzimáticos similares a éstos que respondan a altas concentraciones de otro tipo de metales o bien que los mismos sistemas sean estimulados por una amplia gama de ellos (Kaji et al., 1994).

Aunque la transcripción de los genes involucrados se incrementa notablemente durante la exposición a concentraciones altas de metales, los organismos presentan un número limitado de copias de los mismos, lo que implica que existe también un determinado número de copias de proteínas que se pueden sintetizar en un tiempo dado y que además, puede llegar un momento en el cual no importando la cantidad administrada del compuesto, la concentración de proteínas inducidas permanecerá constante; esto

implica que se puedan tener por lo menos dos picos de respuesta a una determinada sustancia: el primero, antes de inducir la síntesis de este sistema y el segundo, después de rebasar la capacidad del mismo, en la figura 18 se presenta un modelo hipotético que explica este proceso.

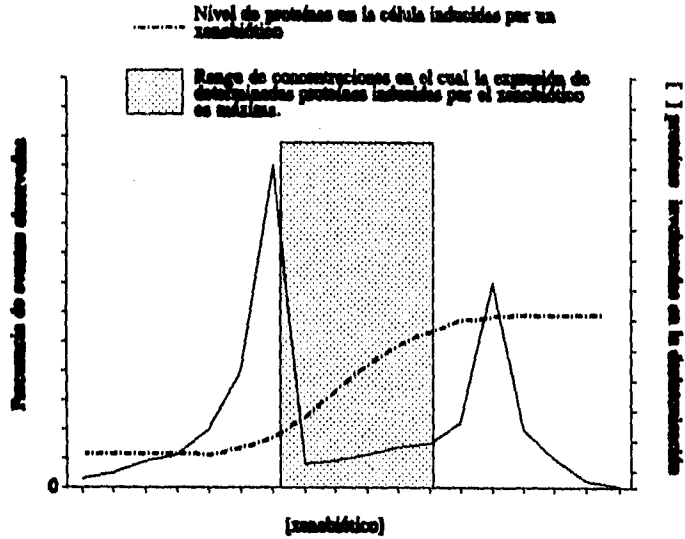


Figura 18. Modelo hipotético que muestra la posible respuesta de un determinado sistema proteico a un xenobiótico a medida que la concentración de éste aumenta.

Tomando como base los resultados obtenidos en este trabajo se ha desarrollado un modelo que pretende explicar la relación entre los distintos niveles de respuesta en *Drosophila* que podrían estar implicados en la exposición al vanadio. Cuando la

concentración del compuesto probado es baja, los mecanismos de desintoxicación constitutivos del organismo son capaces de bloquear al agente extraño y desecharlo sin que éste represente riesgo alguno para él (Fig. 19); cuando la capacidad de estos sistemas se ve rebasada, pero sin que la presencia del compuesto llegue a ser tóxica para la célula, los xenobióticos que no son atrapados pueden acumularse en ciertas regiones celulares, dependiendo de las características propias del compuesto o bien llegar directamente al ADN, en ambos casos provocando alteraciones pero sin llegar a causar la muerte de la célula; si la concentración a la que es expuesto un organismo en un tiempo dado rebasa los límites de resistencia a la toxicidad, pero por su concentración no alcanza a activar los mecanismos alternativos de defensa de la célula (enzimas del tipo de las metalotioneínas, entre otros), la célula o bien el organismo muere. Ahora bien, si se considera que una concentración administrada a un tiempo dado es tan alta que logra activar los sistemas alternativos de defensa, la célula o el organismo logrará sobrevivir y expresará cierto tipo de alteraciones, pero en menor número que las obtenidas antes de hacer funcionar los mecanismos alternativos.

No obstante que este modelo pareciera ilógico en el sentido de considerar la activación de los posibles sistemas de desintoxicación alternativos posterior a los límites de resistencia a la toxicidad, este modelo sirve para explicar el comportamiento observado en los organismos tratados con vanadio.

Para ejemplificar el modelo propuesto se analizará la rea-

puesta obtenida en los tratamientos crónicos con V_2O_5 (Tabla X). En las larvas tratadas a 2 ppm el incremento en la frecuencia de manchas fue negativo, indicando que los sistemas de desintoxicación constitutivos evitaron la producción de daño significativo por parte del compuesto; en larvas tratadas a concentraciones superiores, 4 ppm, la respuesta fue positiva, posiblemente por haberse rebasado los límites de desintoxicación pero sin llegar a ser letal, esta expresión de daño alcanzó su máximo nivel a 8 ppm donde la respuesta es positiva para todos los tipos de eventos cuantificados. En larvas tratadas con 16 ppm, si bien la

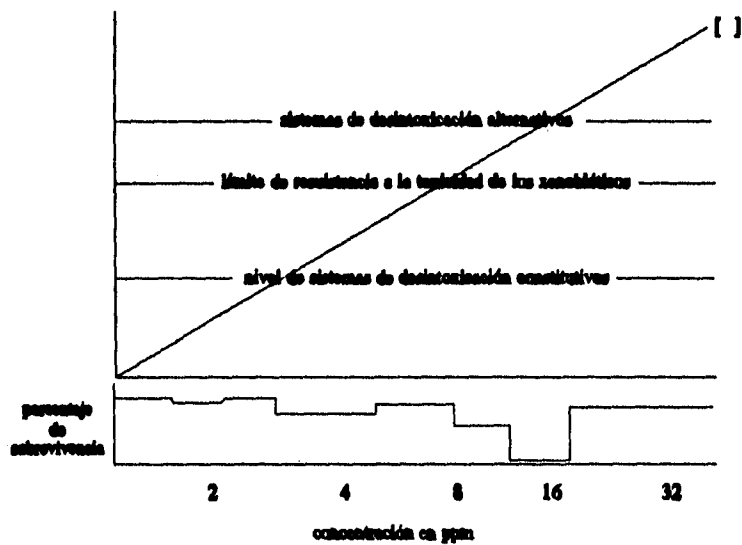


Figura 19. Gráfica del porcentaje de supervivencia a medida que la concentración de vanadio se incrementa, además se muestra cuales son los sistemas que podrían estar actuando como respuesta a esas concentraciones.

frecuencia de manchas con respecto al lote testigo se incrementó significativamente, esta fue menor que en la concentración anterior, además de que en ésta se detectó una alta frecuencia de muerte de los organismos transheterocigotos y la desaparición de todos los portadores del balaceador (los cuales en general son más sensibles). Cuando la concentración se incrementó a 32 ppm, se esperaba una mayor tasa de mortandad, cosa que no ocurrió, tanto el número de organismos recuperados así como la frecuencia de manchas fueron similares a los obtenidos en tratamientos con concentraciones menores.

Este tipo de respuesta a diferentes concentraciones ya había sido observado anteriormente para el V_2O_5 (Abundis, 1994) al administrar el compuesto en tratamientos crónicos preliminares para determinar las concentraciones que se iban a utilizar; en todas las repeticiones realizadas a 500 ppm, no se recuperaron moscas portadoras del cromosoma balaceador, sin embargo, en concentraciones inferiores o superiores a 500 ppm, el porcentaje de sobrevivencia de estas moscas fue similar al del testigo negativo, esto muestra la importancia de considerar como un factor relevante, la concentración de un compuesto determinado que recibe un organismo en un tiempo dado para conocer el tipo de respuesta que puede expresarse.

Es probable que las sales de vanadio analizadas presenten varios picos de toxicidad, los cuales varían dependiendo de las características propias de cada una de ellas.

En resumen, son varios los factores que posiblemente están

influyendo en la respuesta observada a las diferentes sales de vanadio en *Drosophila melanogaster*, los cuales pueden actuar de manera independiente o en conjunto, es además importante considerar que el metal per se presenta características que lo hacen un mutágeno y carcinógeno potenciales y que su efecto depende en gran medida de la concentración a la cual se administre, además de la conformación que presente en un momento dado.

CONCLUSIONES

- El uso de tratamientos crónicos y concentraciones subtóxicas es recomendable para estudiar la genotoxicidad de compuestos altamente tóxicos.

- De las tres sales probadas, el VCl_3 , fue la sal de este metal menos tóxica.

- Las tres sales analizadas presentaron capacidad genotóxica en mayor o menor grado. De manera general podrían ordenarse de la siguiente manera $V_2O_5 > V_2O_4 > VCl_3$, para la exposición crónica, mientras que en exposición aguda es $V_2O_5 > VCl_3 > V_2O_4$.

- El cloruro (III), óxido (IV) y óxido (V) de vanadio aparentemente requieren ser metabolizados para producir alteraciones genéticas.

- La exposición crónica de óxido (IV) de vanadio a 6.5 y 8 ppm indujo recombinación mitótica en *Drosophila*.

- La disminución en la respuesta al vanadio es debida en apariencia a la participación de sistemas alternativos de desintoxicación.

REFERENCIAS

Abundis, M.H.M. (1994) Valoración de la genotoxicidad del pentóxido de vanadio en células de las alas de *Drosophila melanogaster*. Comparación de tres protocolos. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, 66 pp.

ACGIH (1992) Threshold limited values and biological exposure indices for 1992-1993, American of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, OH.

Altamirano, L.M.A. (1992) Efectos mutagénicos y alteraciones del ciclo reproductivo del ratón producidos por pentóxido de vanadio. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias, UNAM, 84 pp.

Baringa, M. (1995) Focusing on the eyeless gene. *Science*, 267: 1766-1767.

Berry, C.W., T.J. Moore, J.A. Safar, C.A. Henry y M.J. Wagner (1992) Antibacterial activity of dental implant metals. *Implant Dent. Spring 1*: 59-65.

Biggs, W.R y J.H. Swinehart (1976) Vanadium in selected biological systems. En: Metal ions in biological systems; biolo-

gical actions of metal ions. Ed. H. Sigel, Nueva York. Vol. 6, pp. 141-196.

Bishayee, A y M. Chatterjee (1993) Selective enhancement of glutathione S-transferase activity in liver and extrahepatic tissues of rat following oral administration of vanadate. *Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.* 19: 83-89.

Blücher, H. (1958) Enciclopedia de química industrial. Editorial Tscnos, 18ª edición, 520 pp.

Brichard, S.M., B. Desbuquois y J. Girard (1993) Vanadate treatment of diabetic rats reverses the impaired expression of genes involved in hepatic glucose metabolism: effects on glycolytic and gluconeogenic enzymes, and on glucose transporter GLUT2 *Mol. Cell. Endocrinol.* 91: 91-97.

Bronzetti, G., E. Morichetti, C. Della Croce, R. Del Carratore, L. Giromini y A. Galli (1990) Vanadium: genetical and biochemical investigations. *Mutagenesis* 5: 293-295.

Brusick, D. (1980) Principles of genetic Toxicology, Plenum Press, Nueva York y Londres.

Carmignani, M., A.R. Volpe, G. Porcelli, P. Boscolo y P. Preziosi (1992) Chronic exposure to vanadate as factor of

arterial hypertension in the rat: toxicodynamic mechanisms.
Arch. Toxicol. Suppl. 15: 117-120.

Carolina (1994) Biology/Science materials. Catalog 64. 122 pp.

Casarett, L.J y J. Doull (1975) Toxicology, the basic science of poisons. McMillan, Nueva York.

Cohen, M.D., C.B. Klein y M. Costa (1992) Forward mutations and DNA-protein crosslinks induced by ammonium metavanadate in cultured mammalian cells. Mutat. Res. 269: 141-148.

Cohen, M. D., E. Parsons, R. B. Schlesinger y J. T. Zelikoff (1993) Immunotoxicity of in vivo vanadium exposures: effects on interleukin-1, tumor necrosis factor-alpha and prostaglandin E2 production by WEHI-3 macrophages. Int. J. Immunopharmacol. 15: 437-446.

Chung, S.M., D.D. Ahn, H.S. Seok, Y. Jeong y B.S. Kang (1992) Effects of vanadate on vascular contractility and membrane potential in the rabbit aorta (abstract). Yonsei Med. J. 33: 14-23.

Dafnis, E., M. Spohn, B. Lonis, N.A. Kurtzman y S. Sabatini (1992) Vanadate causes hypokalemic distal renal tubular acidosis. Am. J. Physiol. 262: 449-453.

Domingo, J.L., M. Gomez, D.J. Sanchez, J.M. Llobet y C.L. Kenn (1992) Tiron administration minimizes the toxicity of vanadate but not its insulin mimetic properties in diabetic rats. *Life Sci.* 50: 1311-1217.

Endo, M. (1993) Effects of vanadate on glucose metabolism of the streptozotocin-diabetic rat lens (abstract). *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 97: 333-339.

Frei, H. y F.E. Würzler (1988) Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive result. *Mutat. Res.* 203: 297-308.

Friberg, L., G.F. Nordberg y V.B. Vouk (1990) Handbook on the toxicology of metals. Specific metals. 2ª edición. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, vol. II.

Galli, A., R. Vellosi, R. Fiorio, C. Della Croce, R. Del Carratore, E. Morichetti, L. Giromini, D. Rosellini y G. Bronzetti (1991) Genotoxicity of vanadium compounds in yeast and cultured mammalian cells. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 11: 175-83.

García-Bellido A. y J.R. Merriam (1971a) Parameters of the wing imagal disc development of *Drosophila melanogaster*. *Develop.*

Biol. 24: 61-87.

García-Bellido A. y J.R. Merriam (1971b) Clonal parameters of tergite development in *Drosophila melanogaster*. *Develop. Biol.* 26: 264-276.

González, C.E. (1994) Efecto del metabolismo en la respuesta genotóxica de azida de sodio en células del ala de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura, Facultad De Ciencias, UNAM, 69 pp.

Graf, U., H. Juon, A.J. Kats, H.J. Frei y F.E. Würigler (1983) A pilot study on a new *Drosophila* spot test. *Mutat. Res.* 120: 233-239.

Graf, U., F.E. Würigler, A.J. Kats, H. Frei, H. Juon, C.B. Hall y P.G. Kale (1984) Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.*, 6: 153-188.

Graf, U., Heo, O. y O. Olvera (1992) The genotoxicity of chromium (VI) oxide in the wing spot test of *Drosophila melanogaster* is over 90% due to mitotic recombination. *Mutat. Res.* 166: 197-203.

Grin, A.V., A.A. Blum, A.L. Seletkov, Y.E. Freidenson y L.F. Naimuchina (1971) Low-alloyed welded steels containing

vanadium for construction. En: Problems of Kachkanar, Sverdlovsk, Central Bureau of Technical Information, pp. 186-196.

Halder, G., P. Callaerts y W.J. Gehring (1995) Induction of ectopic eyes by targeted expression of the eyeless gene in *Drosophila*. *Science* 267: 1788-1792.

Henry, L., B. Wagner, M.K. Faulkner, D.N. Slater y I.D. Ansell (1993) Metal deposition in post-surgical granulomas of the urinary tract. *Histopathology*. 22: 457-465.

IPCS (1988) Vanadium. World Health Organization, Genova, Italy, 167 pp.

Kaji, T., M. Suzuki, C. Yamamoto, Y. Imaki, A. Mishima, Y. Fujiwara, M. Sakamoto y H.T.I. Kosuka (1994) Induction of metallothionein synthesis by bismuth in cultured vascular endothelial cells. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 66: 25-35.

Kopf Maier, P., W. Wagner y E. Liss (1981a) Cytokinetic behavior of Ehrlich ascites tumor after in vivo treatment with cis-diamminedichloroplatinum(II) and metallocene dichlorides. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 102: 21-30.

Kopf Maier, P., W. Wagner y H Kopf (1981b) In vitro cell growth inhibition by metallocene dichlorides. Cancer Chemother. Pharmacol. 5: 237-241.

Kopf Maier, P. (1982) Development of necroses, virus activation and giant cell formation after treatment of Ehrlich ascites tumor with metallocene dichlorides. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 103: 145-164.

Kopf Maier P., W. Wagner y E. Liss (1983) Induction of cell arrest at G1/S and in G2 after treatment of Ehrlich ascites tumor cells with metallocene dichlorides and cis-platinum in vitro. J. Cancer Res. Clin. Oncol. 106: 44-52.

Kopf Maier P. (1987) Cytostatic non-platinum metal complexes: new perspectives for the treatment of cancer? (abstract). Naturwissenschaften 74: 374-382.

Koterov, A.N. (1994) Metallothionein level in liver, bone marrow, and lymphocytes of rats after administering ethanol (abstract). Vopr. Med. Khim. 40: 15-17.

Knecht, E.A., W.J. Moorman, J.C. Clark, R.D. Hull, R.E. Biagini, D.W. Lynch, T.J. Boyle y S.D. Simon (1992) Pulmonary reactivity to vanadium pentoxide following subchronic inhalation exposure in a non-human primate animal

model. J. Appl. Toxicol. 12: 427-434.

Lewin, B. (1994) Genes V. Oxford University Press and Cell Press. U.S.A.

Llobet, J.M., M.T. Colomina, J.J. Sirvent, J.L. Domingo y J. Corbella (1993) Reproductive toxicity evaluation of vanadium in male mice. Toxicology 80: 199-206.

Madsen, K.L., V.M. Porter y R.N. Fedorak (1993) Oral vanadate reduces Na(+)-dependent glucose transport in rat small intestine. Diabetes. 42: 1126-1132.

Maldonado, L.J. (1994) Comparación entre la estructura química y la actividad mutagénica de cinco compuestos orgánicos en células del ala de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, 60 pp.

Mancinella, A. (1993) Vanadium, an indispensable trace element in living organisms. Current data on biochemical, metabolic levels and therapeutic doses. Clin. Ter. 142: 251-255

Michibata, H., J. Uchiyama, Y. Seki, T. Numakanai y T. Uyama (1992) Accumulation of vanadium during embryogenesis in the vanadium-rich ascidian, *Ascidia gemmata*. Bio. Trace Element Res. 44: 219-223.

Muñoz, M.J.A. (1994) Caracterización del potencial genotóxico y protector de *Ipomoea orizabensis* en células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, 65 pp.

NAS (1974) Vanadium. National Academy of Sciences. Washington, DC.

Nelson, W.L. (1973) Direct desulfurization handles low-metals topped crudes. *Oil Gas J.* 19: 54-56.

Nöthiger, R. (1970) Sucrose density separation: a method for collecting large numbers of *Drosophila* larvae. *Dros. Inf. Serv.* 45: 177.

Orozco, S.P.G. (1993) Efecto protector de la vitamina E y de los β -carotenos en contra de la mutagenicidad de la mitomicina-C (MMC) en la prueba somática de ala de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, 109 pp.

Parfett, C.L. y R. Pilon (1995) Oxidative stress-regulated gene expression and promotion of morphological transformation induced in C3H/10T1/2 cells by ammonium metavanadate. Mutagenesis Section, Environmental Health Directorate, Health Canada, Ottawa, Ontario. *Food Chem. Toxicol.* 33:

Pau, R.N., M.E. Eldridge, D.J. Lowe, L.A. Mitchenall y R.R. Eady (1993). Molybdenum-independent nitrogenases of *Asotobacter vinelandii*: a functional species of alternative nitrogenase-3 isolated from a molybdenum-tolerant strain contains an iron-molybdenum cofactor *Biochem. J.* 293 (Pt 1): 101-107.

Ramos, P., H. Abundis, J.C. Gaytán, M.G. Tellez, P.G. Orozco, J. Maldonado, J. Hernández, E. González, P. Reyes, E.M. Galicia y J.A. Muñóz (1993) Manual de laboratorio de Genética para *Drosophila melanogaster*, McGraw-Hill, 1ª edición, México, D.F. 131 pp.

Ramos, M.P. y R. Rodríguez (1995) Genotoxicity of two arsenic compounds in germ cells and somatic cell of *Drosophila melanogaster*. *Environ. Molec. Mutagen.* 25: 288-299.

Raymond, E.R. y F.O. Donald (1965) Enciclopedia de tecnología química. Tomo XV. 1ª edición en español. Unión tipográfica editorial hispano americana pp. 831-850.

Roldán R.E. y L.M. Altamirano (1990) Chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges, cell-cycle kinetics and satellite associations in human lymphocyte cultures exposed to

vanadium pentoxide. *Mutat. Res.* 245: 61-65.

Ramírez, P., L. Vega, M. E. Gonsebatt y P. Ostrosky-Wegman (1995)

The aneugenic capacity of sodium arsenite and vanadium pentoxide using fish methodology (abstract). *Environ. Mol. Mutagen.* 25.

Rose, E.R. (1973) *Geology of vanadium and vanadiferous occurrences in Canada*, Ottawa. Geological Survey of Canada. Department of Energy, Mines and Resources. Economic Geology Report No. 27: 7-101.

Rühling, A. (1971) *Pollution with heavy metals in the greater Stockholm area*. En: Report No. 12 on ecological heavy metal research. Lund, University of Lund, Department of Plant Ecology.

Russell, P.J. (1992) *Genetics*. Harper Collins, Publishers. 3^a ed., Nueva York 758 pp.

Sabbioni, E, G. Pozzi, S. Devos, A. Pintar, L. Casella y F. Fischbach (1993) The intensity of vanadium(V)-induced cytotoxicity and morphological transformation in BALB/3T3 cells is dependent on glutathione-mediated bioreduction to vanadium(IV). *Carcinogenesis* 14: 2565-2568.

Sawada, J., Y. Kikuchi, M. Shibutani, K. Mitsumori, K. Inoue y T. Kasahara (1994) Induction of metallothionein in astrocytes by cytokines and heavy metals. *Biol. Signals* 3: 157-168.

Shechter, Y. y A. Shisheva (1993) Vanadium salts and the future treatment of diabetes. *Endeavour* 17: 27-31.

Singh, S., D. Chakravarty y H.N. Singh (1993) Mutational replacement of molybdenum by vanadium in assimilation of N₂ or NO₃⁻ as nitrogen source in the cyanobacterium *Nostoc muscorum* *Bio. Chem. Mol. Biol. Int.* 29: 1093-1093.

Sitprija, V., K. Tungsanga y P. Tosukhowong (1993) Metabolic problems in northeastern Thailand: possible role of vanadium *Miner. Electrolyte. Metab.* 19: 51-56.

Timbrell, J.A. (1989) *Introduction to toxicology.* Taylor y Francis, Londres, 155 pp.

Thompson, K.H. y J.H. McNeill (1993) Effect of vanadyl sulfate feeding on susceptibility to peroxidative change in diabetic rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 80: 187-200.

Underwood, E.J. (1977) *Trace elements in human and animal nutrition.* Academic Press, Nueva York, 4a. ed., 454 pp.

Vogel, E.W. (1991) Genotoxic chemicals, an introduction into basic principles of genetic toxicology. Laboratorium voor Stralengenetica en Chemische Mutagenese, RU Leiden, Sylvius Laboratoria.

Willsky, G.R. y S.F. Dosch (1986) Vanadium metabolism in wild type and respiratory-deficient strains of *S. cerevisiae*. *Yeast* 2: 77-85.

Zhang, T., Z. Yang, C. Zeng y X. Gou (1993) A study on developmental toxicity of vanadium pentoxide in Wistar rats (abstract). *Hua Hsi I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao* 24: 92-96.

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