



# Universidad Nacional Autónoma de México

---

Facultad de Estudios Superiores  
Iztacala

Recuperación funcional y citológica en Bulbo Olfatorio posterior al daño inducido por la inhalación a Pentóxido de Vanadio ( $V_2O_5$ ) en un modelo murino. Diferencias por género.

T E S I S  
Que para obtener el título de  
B I Ó L O G O  
P R E S E N T A:  
Moscoso Caballero Fernando Filiberto

Directora de Tesis.  
Dra. Laura Colín Barenque





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.

## Datos del Jurado

---

---

### 1. Datos del alumno

Apellido paterno: Moscoso  
Apellido materno: Caballero  
Nombre(s): Fernando Filiberto  
Teléfono: 01 (55) 53005236  
Universidad: Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad: Facultad de Estudios Superiores Iztacala  
Carrera: Biología  
No. De cuenta: 30317252-9

### 2. Datos del tutor

Grado: Dra.  
Apellido paterno: Colín  
Apellido materno: Barenque  
Nombre(s): Laura

### 3. Datos de sinodal 1 (Presidente)

Grado: Dra.  
Apellido paterno: Avila  
Apellido materno: Costa  
Nombre(s): María Rosa

### 4. Datos de sinodal 2 (Vocal )

Grado: M. en C.  
Apellido paterno: Garín  
Apellido materno: Aguilar  
Nombre(s): María Eugenia

### 5. Datos de sinodal 3 (Suplente)

Grado: M. en C.  
Apellido paterno: Gersenowies  
Apellido materno: Rodríguez  
Nombre(s): Jorge Ricardo

### 6. Datos de sinodal 4 (Suplente)

Grado: Dra.  
Apellido paterno: Anaya  
Apellido materno: Martínez  
Nombre(s): Verónica

### Datos del trabajo escrito

**Título:** Recuperación funcional y citológica en Bulbo Olfatorio posterior al daño inducido por la inhalación a Pentóxido de Vanadio (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) en un modelo murino. Diferencias por género.

**No. De paginas:** 58 paginas

**Año:** 2010

## **Agradecimientos y dedicatorias**

---

---

A la Doctora Laura Colin Barenque por su paciencia incansable, por aceptarme el día que fui a pedirle ayuda, gracias Doctora por que además de ser mi asesora y tutora de tesis usted fue mi guía le agradezco por que usted es una excelente tutora pero sobre todas las cosas una excelente persona se gana el cielo por soportarme durante este largo tiempo jajaja, le estoy cien por ciento agradecido y también va por usted.

A la Doctora María Rosa Avila Costa, por permitirme entrar en el laboratorio, por sus enseñanzas y sus regaños pero sobre todo gracias por ser parte de este trabajo.

A la M. en C. María Eugenia Garín Aguilar por su amistad por su dedicatoria por su apoyo incondicional a mi familia, gracias por sus sabios consejos, por su entrega pero sobre todo gracias por también pertenecer a este trabajo.

Por la revision de tesis y grandes comentarios a:

M. en C. Jorge Ricardo Gersenowies Rodríguez

Dra. Verónica Anaya Martínez

Gracias a Paty y a Jesus por su ayuda siempre incondicional, por su apoyo y grandísimos consejos, por esas buenas platicas durante las pruebas olfatorias, por su paciencia y su gran amistad.

Agradecimiento infinito al apoyo del programa PAPIIT-UNAM IN 21808

A mis padres:

Que me guiaron siempre por el camino a ustedes a quien les debo lo que soy y quien soy, por inculcarme los valores que hoy me hacen quien soy. Gracias **Ma. del Carmen Caballero Sánchez** por estar cuando siempre te necesite por tus regaños que siempre tenían un por que, gracias a **Filiberto Moscoso Orozco** por que me enseñó el valor de un verdadero hombre, de la paciencia y sobre todo tu sabiduría. **Gracias los amo.**

A mis hermanos:

Gracias a **Cesar Fernando y Baruch Fernando Moscoso Caballero** por su gran apoyo por sus enseñanzas pero sobre todo por ser mis cómplices de mis desmadres jajaja gracias por ser mis hermanos también es por ustedes, **los amo.**

A mis amigos:

Que siempre me enseñaron algo, que siempre estuvieron ahí, gracias Lulu, Nancy, Perla, Monick, Angie, Denisse, Diego y Carlos, por que fueron mis amigos durante la carrera por que muchos de ustedes me secaron cada una de mis lagrimas, gracias por su apoyo y sus consejos que nunca seguí por seguir el de mi corazón, gracias por todas las fiestas todos los momentos todas las platicas los exámenes, los regaños, las peleas, gracias Lulu y Nancy por cobijarme cuando me sentía un extraño, gracias por su amistad.

A mi Sensei:

Gracias a mi profesor, sensei y amigo Adrian Morales Sánchez quien nos guio y forjo dentro del karate, quien nos impulso y aguanto durante casi 15 años gracias.

Gracias al amor de mi vida **Anahí Yazmín Gómez Ramos** por querer bailar con migo el día 11 de mayo del 2007, por tu paciencia por que sin ti no se donde estaría en estos momentos. Por que tú me empujabas siempre que te necesitaba, por que tú me animabas siempre que lo requería ya que nunca me dejaste solo, gracias por tan bellos momentos gracias por el 25 de abril gracias por tu pasión por tu enseñanza de la vida gracias por hospedarme en tu corazón y dejarme ver las estrellas y el universo entero gracias por hacerme ver dentro de mí e identificar todo lo que puedo dar todo lo que soy, por que en tres años vivimos tan intensos momentos, bellos y malos pero siempre intensos junto a ti, gracias por que cumpliste mi sueño de despertar y ver tus bellos ojos, gracias por entregar tu alma a la mía gracias por ser como eres gracias por que fuiste mi mujer mi novia o como le quieras llamar, gracias por ser como eras por hacerme sentir auténtico, por quererme como soy y no mas, gracias por aceptar mis traumas y por tu apoyo en ellos, gracias por nuestra bella luna de miel por que me hiciste soñar despierto, por nunca salirte de mi mente y menos de mi corazón. Gracias por amarme tan solo un poco de lo que yo te amaba, eres la luz de mi vida eres lo que me mueve y me da fe en la vida.

Por que te amo y siempre te amare y estés donde estés siempre te esperare.

Un Biólogo enamorado.

## Abreviaturas

---

<b>ANOVA:</b> Análisis de varianza
<b>CAMK:</b> Calmodulina dependiente de $\text{Ca}^{2+}$
<b>DP:</b> Dopamina
<b>EPL:</b> Capa plexiforme externa
<b>ER<math>\alpha</math> y <math>\beta</math>:</b> Receptores de estrógenos $\alpha$ y $\beta$
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:</b> Peroxido de hidrogeno
<b>H<sub>2</sub>VO<sub>4</sub><sup>-</sup>:</b> Ortovanadato
<b>LOT:</b> Tracto lateral olfatorio
<b>MAPK:</b> Proteína cinasa de actividad mitogénica
<b>MMP-2 y 9:</b> Metaloproteinasas 2 y 9
<b>NADPH:</b> Nicotinamida-Adenina Dinucleótido fosfato
<b>NE:</b> Noradrenalina
<b>NSO:</b> Neuronas sensoriales olfatorias
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup>:</b> Anión superoxido
<b>O<sub>3</sub>:</b> Ozono
<b>OH<math>\cdot</math>:</b> Radical hidroxilo
<b>PK:</b> Proteína cinasa
<b>PM:</b> Partículas suspendidas
<b>ppm:</b> Partes por millón
<b>RL:</b> Radicales libres
<b>ROS:</b> Especies reactivas a oxigeno
<b>TH:</b> Tirosina Hidroxilasa
<b>V:</b> Vanadio
<b>V<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:</b> Vanadio trivalente
<b>V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:</b> Pentóxido de vanadio
<b>V<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>-</sup>:</b> Pirovanadato
<b>VO<sup>+2</sup>:</b> Vanadil
<b>VO<sub>3</sub>:</b> Metavanadato

## Índice del contenido

---

---

<b>I. Resumen</b> .....	1
<b>II. Introducción</b> .....	2
<i>II.I. Contaminantes atmosféricos</i> .....	2
<i>II.II. Partículas suspendidas</i> .....	3
<i>II.III. Efectos de las PM en la salud</i> .....	5
<i>II.IV. Metales</i> .....	5
<i>II.V. El vanadio</i> .....	6
<i>II.VI. Fuentes de exposición al vanadio</i> .....	6
<i>II.VII. Estados de oxidación del vanadio</i> .....	8
<i>II.VIII. Pentóxido de vanadio</i> .....	10
<i>II.IX. Toxicidad</i> .....	10
<i>II.X. Formación de especies reactivas a oxígeno (ROS)</i> .....	12
<i>II.XI. Toxicocinética</i> .....	13
<i>II.XII. Vanadio en el sistema nervioso</i> .....	13
<i>II.XIII. Impacto del Vanadio en el bulbo olfatorio</i> .....	15
<i>II.XIV. Sistema olfatorio</i> .....	16
<i>II.XV. Bulbo olfatorio</i> .....	19
<i>II.XVI. Estrógenos en el SNC</i> .....	22
<b>III. Justificación</b> .....	24
<b>IV. Hipótesis</b> .....	25
<b>V. Objetivo General</b> .....	26
<b>VI. Objetivos particulares</b> .....	27
<b>VII. Material y métodos</b> .....	28
<i>VII.I. Animales</i> .....	28
<i>VII.II. Tratamientos</i> .....	28
<i>VII.III. Prueba olfatoria</i> .....	28
<i>VII.IV. Análisis citológico</i> .....	29
<i>VII.V. Análisis estadístico</i> .....	30
<b>VIII. Resultados</b> .....	31
<b>IX. Discusión</b> .....	43
<b>X. Conclusiones</b> .....	52
<b>XI. Referencias bibliográficas</b> .....	53

## I. Resumen

---

La calidad del aire en las principales zonas conurbadas ha mostrado una clara tendencia al deterioro. Consecuentemente, la salud de la población ha sido afectada debido a la presencia de contaminantes atmosféricos. Dentro de estas partículas están los metales, siendo una principal fuente de toxicidad; un representante es el Vanadio. El cual es emitido al ambiente por plantas petroquímicas y por la industria moderna. Estudios previos han mostrado que la inhalación de pentóxido de vanadio produce daño en el bulbo olfatorio de ratón, causando pérdida de espinas dendríticas de las células granulosas, la cual, puede ser menor si se sostiene un periodo de 30 días de recuperación. Por lo que en este estudio se planteó evaluar la función olfatoria y analizar la citología de las neuronas granulosas del bulbo olfatorio después de 2 meses de recuperación, posterior a la exposición subaguda a Vanadio. Se utilizaron ratones hembras y machos CD-1, separados en 3 grupos: control, expuesto y recuperado. La exposición para el grupo expuesto y el de recuperación fue a Pentóxido de Vanadio ( $V_2O_5$ ) 0.02 M, por 60 minutos dos veces por semana durante un mes. El grupo control inhaló agua desionizada en las mismas condiciones. El tiempo de recuperación fue de un periodo de 2 meses sin inhalar. Los grupos Control y Expuesto con y sin recuperación fueron sometidos a una prueba funcional olfatoria realizada cada 15 días, donde cada ratón fue colocado en una caja de acrílico para medir el tiempo de preferencia a 3 diferentes odorantes (Heptaldehido, Ácido acético y Etanol) por separado durante 5 min. Los grupos Control y Expuesto sin recuperación fueron sacrificados al terminar el mes de inhalación y el grupo Expuesto con recuperación se sacrificó al término de los 2 meses sin inhalar, bajo dosis letal y perfundidos vía aorta. Seguida de la extracción de los bulbos olfatorios para ser procesados con el método rápido de Golgi y realizar el análisis citológico en las células granulosas del bulbo olfatorio mediante el conteo de espinas en las dendritas secundarias en  $10\mu m$  después de la primera bifurcación en 25 células granulosas por cada ratón. La prueba olfatoria mostró que tanto en los machos como en las hembras hay diferencia significativa en los 3 odorantes, ya que el grupo expuesto redujo su capacidad olfatoria al mes de exposición, comparada con el tiempo inicial. Sin embargo el grupo con un periodo de recuperación mostró una mayor capacidad de olfacción comparado con el grupo expuesto. En el análisis citológico se observó que tanto en hembras como en machos el número de espinas disminuyó al cumplir las 8 inhalaciones, y aumentó en el número de espinas a los 2 meses de recuperación. En la comparación por género de los grupos control, expuestos con y sin recuperación, se presentan una densidad espinosa significativamente mayor en hembras, comparada a los mismos grupos en machos. De nuestros resultados podemos decir que: el  $V_2O_5$  produce pérdida de espinas dendríticas y de la capacidad olfatoria; donde el periodo de recuperación de 2 meses es suficiente para revertir la pérdida de las espinas dendríticas y hasta ahora una posible recuperación funcional en la capacidad de olfacción. Podemos concluir que el periodo de 2 meses de recuperación a una exposición subaguda de  $V_2O_5$  refleja una total recuperación en el número de espinas dendríticas, la cual se manifestó en una recuperación de la función olfatoria.

## **II. Introducción**

---

---

Durante las últimas décadas, la calidad del aire en las principales ciudades del país y sus zonas conurbadas ha mostrado una clara tendencia al deterioro. Consecuentemente, la salud de la población ha sido afectada debido a la presencia de contaminantes atmosféricos, la cual ha sido catalogada como alta, presentando síntomas en la población como ardor de ojos, ardor o resequedad de garganta y falta de visibilidad (Catalán-Vázquez y cols., 2009).

### **II.1. Contaminantes atmosféricos**

Los contaminantes atmosféricos están presentes en el aire en cantidades que podrían afectar el estilo de vida y ocasionar cambios en las condiciones meteorológicas y climáticas.

Un contaminante atmosférico se define como una sustancia química o biológica que se incorpora al aire y modifica sus características naturales. Se pueden clasificar según su presencia en la atmósfera, como primarios y secundarios. Los contaminantes primarios se encuentran en la atmósfera exactamente como fueron emitidos, ya sea por procesos naturales o por actividades del ser humano; donde se considera para la evaluación de la calidad del aire la presencia del monóxido de carbono, hidrocarburos, óxidos de azufre, los metales y partículas. A los que se forman en la atmósfera por reacciones químicas en las que intervienen los contaminantes primarios se les considera contaminantes secundarios, entre ellos están el ozono y sulfatos (Vallejo y cols., 2003).

En la ciudad de México el descontrolado crecimiento de la zona metropolitana ha contribuido al aumento de 35,000 industrias, 3.5 millones de vehículos, y gran cantidad de medios de transporte, lo cual ha propiciado un consumo de más de 40 millones de Litros de combustible por día, contribuyendo así al aumento en el nivel de contaminación en la ciudad.

Por otro lado la altura de la ciudad de México (2240 metros sobre el nivel del mar) y la intensa luz solar contribuyen a procesos fotoquímicos que ayudan a crear O<sub>3</sub> y partículas suspendidas (Molina y Molina, 2004; SEMARNAT, 2002).

## **II.II. Partículas suspendidas**

Las partículas suspendidas (PM) son de gran importancia, su tamaño y composición son quizás los parámetros que determinen su comportamiento, permanencia en la atmósfera y sus efectos potenciales para el ambiente y la salud debido a los efectos tóxicos que ocasionan en el ser humano (Rojas y Garibay, 2003); se encuentran suspendidas en el aire provenientes de la erosión de suelos o por reacciones químicas en las que intervienen gases y compuestos orgánicos.

Estas partículas son una mezcla heterogénea que existe en forma de material sólido o líquido finamente particuladas con un amplio intervalo de tamaño (Vallejo y cols., 2003), por lo que se clasifican en:

- ✓ “Partículas burdas” ( $PM_{10}$ ) que poseen un diámetro aerodinámico menor de  $10\ \mu\text{m}$  y mayor de  $2.5\ \mu\text{m}$ , entre estas podríamos encontrar sílice, titanio, aluminio, sodio, hierro y cloruros principalmente.
  
- ✓ “Partículas finas” ( $PM_{2.5}$ ) que poseen un diámetro aerodinámico igual o menor a  $2.5\ \mu\text{m}$ , estas están compuestas por partículas derivadas de la combustión, principalmente del diesel, entre éstas se encuentran el carbono, plomo, dióxido de azufre, dióxido de nitrógeno y vanadio.
  
- ✓ “Partículas ultra finas” con un diámetro aerodinámico menor a  $1\ \mu\text{m}$ , están compuestas por los productos de quemas forestales, agrícolas, combustión de gasolina y diesel.

Cabe resaltar la importancia de las PM más pequeñas ya que éstas tienen un tamaño similar a las moléculas gaseosas grandes, por lo que presentan muchas de sus propiedades, además de que tienen una vida media en la atmósfera de días a semanas y viajan distancias mayores a 100 Km; en cambio las partículas gruesas se depositan fácilmente, con una vida media en la atmósfera de solo minutos u horas (Rojas y Garibay, 2003; Vallejo y cols., 2003).

Aunque las partículas varían en su composición y tamaño están constituidas principalmente por compuestos orgánicos, iones, gases, metales y la estructura misma de la partícula, normalmente formada por carbono elemental. Característicamente las partículas finas y ultra finas están formadas por una

estructura básica de carbono, hidrocarburos, partículas secundarias y metales diversos. En contraste las partículas gruesas pueden contar con minerales insolubles y elementos como calcio, potasio, sodio, sílice y manganeso además de material biológico como polen y esporas vegetales (Rojas y Garibay, 2003).

### ***II.III. Efectos de las PM en la salud***

Los efectos producidos por las partículas suspendidas se han asociado con problemas respiratorios y cardiovasculares, ya que producen cambios en la viscosidad de la sangre, incrementando el riesgo de enfermedades cardiovasculares; además pueden dañar otros aparatos y sistemas como el sistema respiratorio y el sistema nervioso entre otros. Las partículas son generadas por una gran variedad de fuentes antropogénicas y naturales. Pueden ser emitidas directamente a la atmósfera o formarse por la transformación de emisiones gaseosas (Secretaría de Salud, 2005).

### ***II.IV. Metales***

Así mismo los metales se presentan en el ambiente como partículas suspendidas en concentraciones inferiores a 1000 ppm, estos son elementos inorgánicos necesarios en pequeñas cantidades en el organismo, la mayoría de los organismos no se adaptan a ellos cuando se encuentran en el ambiente en altas concentraciones, siendo una principal fuente de toxicidad. Son representados por el Hierro, Zinc, Cobre, Cromo, Selenio, Iodo, Cobalto, Manganeso, Níquel, Molibdeno, Flúor, Estaño, Sílice, Arsénico (Hirsch, 2004). En la actualidad se ha experimentado un incremento en la producción de metales de transición como el Vanadio (García y Dorronsoro, 2002).

## **II.V. El vanadio**

El vanadio (V) es un metal catalítico de transición, ampliamente distribuido en la naturaleza, fue descubierto en México en 1813 por Andrés Manuel del Río y lo llamó pancronium; posteriormente Nils Sefstrom y Berzelius lo llamaron en 1830 vanadio en honor a la diosa *Vanadis*. Debido a su dureza y su capacidad de formar aleaciones llegó a ser un componente popular en las aleaciones con hierro usado en maquinarias y herramientas (Barceloux, 1999). Este metal ocupa el lugar 22 en los elementos más abundantes en la corteza del planeta (García y cols., 2004).

## **II.VI. Fuentes de exposición al vanadio**

Naturalmente se encuentra altamente distribuido en la corteza y junto con 80 diferentes minerales, aleado principalmente en fosfatos y hierro, además de que la fuente natural del vanadio en la atmosfera es el llamado polvo continental y emisiones volcánicas (WHO, 2003). Por otro lado este elemento es emitido al ambiente por plantas petroquímicas y por la combustión de hidrocarburos derivados de la gasolina, además de ser extensivamente usado en la industria moderna en aleaciones de acero, fabricación de piezas de motores, proyectiles e industria de las pinturas, por lo que la exposición ambiental al vanadio es frecuente (García y cols., 2004 y Kulkarni, 2007). Por otro lado los niveles de vanadio en el humo del tabaco contiene un rango de 1-8 ppm. Además altos niveles de vanadio pueden aparecer en depósitos de gases, producto de la combustión de aceites de hornos principalmente en Irak, Irán, Venezuela y México (Barceloux, 1999), además de que los niveles de

vanadio en el petróleo crudo de Venezuela es de 3  $\mu\text{g}$  y en el petróleo de México 273  $\mu\text{g}$  (Fortoul y Avila-Costa, 2007).

En la ciudad de México la concentración de Vanadio se ha elevado desde 1960, aumentando su concentración significativamente para 1990, por lo que este incremento ha representando un peligro para la salud de los habitantes de esta ciudad (Fortoul y cols., 2002).

Otra fuente de exposición al vanadio es a través de los alimentos ya que algunos cereales, frutas frescas, vegetales y peces contienen este elemento aunque la mayoría lo contenga en bajas concentraciones ( $< 1 \text{ ng/g}$ ); los alimentos ricos en vanadio incluyen hongos, crustáceos, semillas, perejil y pimienta negra (Mukherjee y cols., 2004). Se considera un micronutriente esencial para aves y diversos organismos marinos. En el agua se encuentra disuelto exclusivamente en su forma pentavalente en concentraciones de 0.1 a 220  $\mu\text{g/L}$  en agua dulce y 0.3 a 29  $\mu\text{g/L}$  en agua marina. En el humano los niveles excesivos de vanadio inhiben la síntesis de colesterol, fosfolípidos y otros lípidos, además de aminoácidos. Con el tiempo se acumula en concentraciones aproximadas 6.5  $\mu\text{g/g}$ , depositándose en formas insolubles, con una absorción continua baja (Duffus, 1983; Kulkarni, 2007).

## **II.VII. Estados de oxidación del vanadio**

El vanadio se presenta en diferentes estados de oxidación de -1 a +5, siendo las valencias +3, +4 y +5 las más comunes. El estado de oxidación más estable (Tabla 1) es en la forma de sales tetravalentes ( $\text{VO}^{+2}$ , vanadil), mientras que el vanadio trivalente ( $\text{V}_2\text{O}_3$ ) es un fuerte agente reductor. Las sales pentavalentes incluyen al metavanadato ( $\text{VO}_3^-$ ), el ortovanadato ( $\text{H}_2\text{VO}_4^-$ ), y el pirovanadato ( $\text{V}_2\text{O}_7^{-4}$ ).

El metavanadato es el más común en fluidos extracelulares mientras que la forma cuadrivalente la que predomina dentro de la célula (Barceloux, 1999); en el metabolismo el pentóxido de vanadio ( $\text{V}_2\text{O}_5$ ) es poco soluble en agua o en fluidos corporales, donde libera iones de vanadio en su forma catiónica ( $\text{VO}_2^+$ ) y en su forma aniónica ( $\text{HVO}_4^{2-}$ ). Su absorción dentro del organismo depende de la solubilidad y ruta de entrada. Se sabe que las rutas de exposición son en forma dérmica, enteral e inhalada, siendo la última la ruta más común de exposición de trabajadores (WHO, 2003).

**Tabla 1. Nomenclatura de los componentes del vanadio. Modificado de WHO, 2003.**

Forma molecular	Nombre del compuesto
NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	Metavanadato de amonio
Na <sub>3</sub> VO <sub>4</sub>	Ortovanadato de sodio
VO <sup>2+</sup>	Vanadil
VO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Vanadato
NaVO <sub>4</sub>	Peroxivanadato de sodio
VO(SO <sub>4</sub> )	Vanadil sulfato
Desconocido	Ferrovanadio
V <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Tritóxido de vanadio
V <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Pentóxido de vanadio
VCl <sub>3</sub>	Tricloruro de Vanadio

### **II.VIII. Pentóxido de vanadio**

La mezcla de ácido sulfúrico con metavanadato de sodio precipita en la forma de pentóxido de vanadio. Particularmente el  $V_2O_5$  es usado como catalizador para gran variedad de procesos de oxidación, principalmente la conversión de dióxido de sulfuro a trióxido de sulfuro, durante la manufactura del ácido sulfuro; además de algunos pigmentos y tintas usados en la industria de la cerámica que imparte un color que va del café al verde, estos productos contienen 15% de pentóxido de vanadio (Fortoul y Avila-Costa, 2007). Consecuentemente, trabajadores de estas industrias y minas han desarrollado intoxicación cuando se exponen a la inhalación de pentóxido de vanadio.

### **II.IX. Toxicidad**

Se han observado los efectos tóxicos del vanadio en diversos sistemas, los cual se han relacionado con enfermedades cardiovasculares y una variedad de síntomas gastrointestinales, además de que reduce la capacidad cognoscitiva en sujetos humanos expuestos crónicamente al vanadio (García y cols., 2004), según la Agencia Internacional para investigaciones en Cáncer el Pentóxido de Vanadio es un posible carcinogénico para los humanos, además de que produce daño en el DNA de los leucocitos (Diaz-Bech y cols., 2007).

En el sistema circulatorio, produce cambios en la membrana de los eritrocitos, produciendo hemólisis; en el sistema respiratorio, produce asma, así como remodelación en la arquitectura bronquiolar, y como cambios fibroproliferativos en las vías respiratorias, así como metaplasia, engrosamiento de las vías respiratorias blandas, proliferación de miofibroblastos peribronquiales; además el pentóxido de vanadio induce la expresión de citocinas en varios tipos celulares así como la activación de MAPKs (Fortoul y cols., 2007).

En los riñones se han observado cambios en la urea, creatinina y transaminasa, además afecta a la inhibición de la gluconeogénesis en los túbulos renales así como también en los hepatocitos (Avila-Casado y cols., 2007).

El testículo es otro órgano blanco del pentóxido de vanadio, donde se observa la ruptura de la barrera hemato-testicular, también se ha observado necrosis en los espermatocitos y presencia de vacuolas citoplasmáticas oscuras en las espermatogonias, pérdida de las crestas mitocondriales, así como dilatación del retículo endoplásmico y del aparato de Golgi. (Fortoul y cols., 2007; Kulkarni, 2007).

## **II.X. Formación de especies reactivas a oxígeno (ROS)**

El pentóxido de vanadio promueve la formación de especies reactivas a oxígeno (ROS) y en consecuencia estrés oxidativo; el cual es un proceso donde hay un desbalance celular de antioxidantes y oxidantes (como ROS y radicales libres). Los radicales libres son moléculas que tienen uno o más electrones desapareados en la última órbita, y se producen de forma endógena en las funciones aeróbicas de la célula. Los agentes exógenos pueden producir aumento en la producción de radicales libres y ROS en la célula y así desencadenar una serie de procesos como peroxidación lipídica y daño al DNA (Byezkowski y Kuikarni, 1998).

Se sugiere que la peroxidación lipídica es la base de la toxicidad del vanadio causando alteraciones en las vías de señalización del calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) la cual conlleva a la muerte celular (García *et al.*, 2005). El vanadato genera radicales hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ), peróxido de hidrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y anión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ). La reducción de moléculas de oxígeno es por dos medios, flavoenzimas que contienen NADPH (Nicotinamida-Adenina Dinucleótido fosfato) compleja y por cambios en el transporte mitocondrial de electrones por la afluencia de  $\text{Ca}^{2+}$ . Bajo condiciones fisiológicas de pH 7, en presencia de vanadio y  $\text{H}_2\text{O}_2$ , se pueden producir radicales  $\bullet\text{OH}$  (Reacción de Fenton) (Colín-Barenque y Fortoul, 2007).



### **II.XI. Toxicocinética**

El vanadio por vía inhalada se incorpora principalmente en las vías respiratorias altas acumulándose en primera instancia en el epitelio nasal y pasando a las vías respiratorias bajas como son la laringe, traquea, bronquios, bronquiolos y alvéolos, ahí se incorpora al torrente sanguíneo por medio del intercambio gaseoso (Kulkarni, 2007), donde el vanadio +5 es reducido a vanadio +4 por NADH, glutatión de los eritrocitos, ácido ascórbico y otros reductores del plasma; posteriormente se transporta por medio de proteínas séricas acarreadoras como la albúmina y las proteínas acarreadoras de metales (principalmente  $Fe^+$ ) como la transferrina; y es nuevamente oxidado a vanadio +5 debido al pH neutro del el plasma; entra a las células por medio de acarreadores aniónicos principalmente canales de fosfato, pudiendo ser reducido nuevamente en la mitocondria a vanadio +4 por glutatión y otros sustratos. El vanadio se acumula exclusivamente en su forma +4 en diferentes órganos como pulmón, hígado, riñones, hueso, vaso y testículos. (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

### **II.XII. Vanadio en el sistema nervioso**

El pentóxido de vanadio producen lipoperoxidación en el sistema nervioso (Avila-Costa, 2007,) donde además este compuesto conlleva a la pérdida drástica de la densidad espinosa en las neuronas espinosas medianas del estriado (Avila-Costa y cols., 2004), así como la pérdida de neuronas positivas a Tirosina Hidroxilasa (TH) en

la sustancia nigra compacta (Avila-Costa *et al.*, 2004), lo que podría inducir hipersensibilidad de los receptores de Dopamina y con esto pérdida de espinas dendríticas. Por otro lado el  $V_2O_5$  produce pérdida de cilios en células endimarias del cuarto ventrículo, además de ruptura de las uniones estrechas del epitelio endimial, lo cual permite que sustancias tóxicas modifiquen la permeabilidad del epitelio, proporcionando acceso de mediadores inflamatorios al tejido neuronal, causando daño y muerte (Avila-Costa y cols., 2005). Así mismo este modelo de exposición a pentóxido de vanadio produce pérdida de espinas dendríticas en las neuronas piramidales del hipocampo CA1, muerte por necrosis, y alteraciones del neuropilo, lo cual se relaciona con el deterioro de la memoria espacial (Avila-Costa y cols., 2006).

Además, se ha reportado que el metavanadato por vía intraperitoneal produce alteraciones en la actividad motora y peroxidación lipídica, por lo que la mielina puede ser blanco preferencial del Vanadio (+5). Además de que este mismo compuesto promueve alteraciones morfológicas de las neuronas y astrogía después de su administración, donde los marcadores histológicos de células dañadas, tales como NADPHd, son altos en las capas granular y molecular de la corteza cerebelosa; y hsp (heat shock protein), esto indica la presencia de glía reactiva en cerebelo; y alteraciones morfológicas en astrocitos de cerebelo e hipocampo (García y cols., 2004; 2005).

También promueve alteraciones en las metaloproteinasas (MMP-2 y 9) en el tejido nervioso, donde la MMP-2 se incrementa en el hipocampo y el estriado, y la MMP-9 se incrementa en la corteza prefrontal, estriado, hipocampo y bulbo olfatorio. Por lo que este incremento se puede asociar al estrés oxidativo y a la ruptura de la barrera hemato-encefalica, causando modificaciones como pérdida de espinas dendríticas y muerte celular (Colín-Barenque y cols., 2008).

### ***II.XIII. Impacto del Vanadio en el bulbo olfatorio***

Debido a que la principal entrada y vía de absorción del pentóxido de vanadio es mediante su inhalación se ha observado que en modelos murinos expuestos a este compuesto el primer contacto se lleva a cabo en las vías respiratorias altas, mucosa olfatoria y neuronas sensoriales olfativas, y con esto al sistema nervioso central mediante el bulbo olfatorio, teniendo como consecuencia pérdida de las espinas dendríticas de las .neuronas granulosas, presentan condensación y marginación de cromatina, vacuolización y evidencia de muerte celular como necrosis y apoptosis, (Avila-Costa y cols., 2007).

Por otro lado se ha observado que ratones expuestos a pentóxido de vanadio durante un mes y mantenidos por un periodo de 4 semanas sin exposición, existe una parcial recuperación, presentando aumento en el número de espinas dendríticas de las células granulosas (Colín-Barenque y cols., 2005).

En las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y Parkinson se ha reportado alteración de la capacidad olfatoria en las etapas iniciales (Doty, 2008) e incremento en la concentración de MMPs (Lorenzl y cols., 2002). Se han asociado agentes xenobióticos a estas enfermedades, ya que las vías respiratorias altas facilitan la transferencia de estos agentes exógenos los cuales ingresan rápidamente al bulbo olfatorio vía mucosa olfatoria, la cual contiene de 6 a 10 millones de células receptoras y algunas células de soporte, posteriormente estos receptores proyectan su axones para formar el nervio olfatorio (I par craneal) (Doty, 2008).

En la mucosa olfatoria de pacientes con enfermedad de Alzheimer se observa incremento de la expresión de la  $\beta$ -amiloide e indicadores de inflamación en bulbo olfatorio y en otras regiones relacionadas con el olfato. Sin embargo no todos los pacientes con Alzheimer presentan alteración en la discriminación olfatoria (Westervelt y cols. 2007).

#### **II.XIV. Sistema olfatorio**

El sistema olfatorio está especializado en procesar señales moleculares que dan lugar a las sensaciones del olor. Este se encuentra claramente diferenciado, por lo que contiene diferentes tipos de células, entre ellas las neuronas aferentes, las cuales son receptores sensoriales olfatorios (Figura 1). Son la primera entrada de los axones arreglados paralelamente provenientes de la cavidad nasal, presentan generalmente una morfología homogénea, están distribuidas en el epitelio olfatorio entre las células

basales de la lámina basal y las células más superficiales de sostén. Presentan una dendrita apical muy delgada se extiende y finaliza en una esfera ensanchada, llamada folículo o botón olfatorio (Shepherd, 2003).

Estas neuronas olfatorias sensoriales proyectan un axón el cual tiene un diámetro en promedio de 0.2  $\mu\text{m}$ , el cual se organiza en paquetes, y se rodeada por mesaxones de células gliales especializadas, estos salen del epitelio olfatorio y atraviesan la lámina cribosa y forman la capa mas externa del bulbo olfatorio, el nervio olfatorio (Shepherd, 2003; Doty, 2008) (Figura 1).

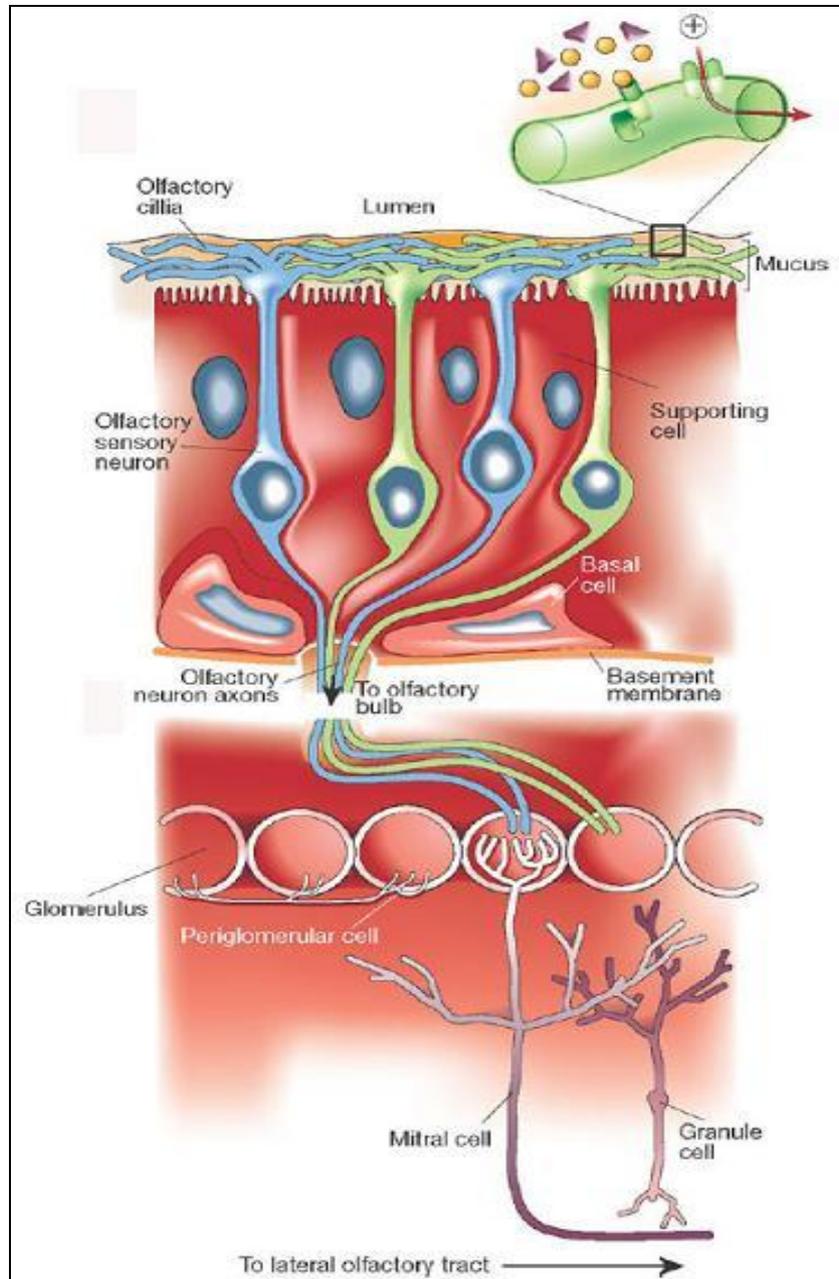


Figura 1. Vista de la mucosa olfatoria y parte del bulbo olfatorio. Tomado de <http://www.3quarksdaily.com/3quarksdaily/2008/09/the-smells-of-d.html>

## II.XV. Bulbo olfatorio

Cuando los axones del nervio olfatorio entran a la superficie del bulbo se reorganizan y llegan a estructuras esféricas del neuropilo llamadas *Glomérulos*, que forman la segunda capa del bulbo (Figura 2), son molecularmente homogéneos, en pequeños mamíferos presentan un diámetro de 30 a 50  $\mu\text{m}$  y de 100 a 200  $\mu\text{m}$  en conejos y gatos (Carpenter, 1978; Shepherd, 2003).

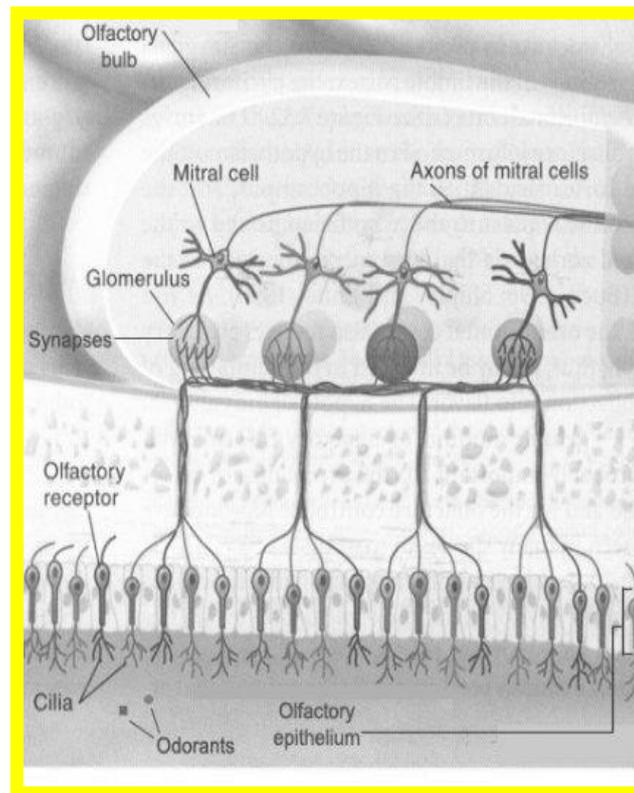


Figura 2. Vista del bulbo olfatorio, la cual muestra las proyecciones axonales desde el epitelio olfatorio y continúan hasta el tracto olfatorio (axones de las células mitrales). Tomado de Carpenter, 1978.

La salida del bulbo olfatorio es llevada por los axones de las células mitrales, se conocen como neuronas eferentes, su cuerpo celular tiene un diámetro de 15-30 $\mu$ m, proyectan una dendrita primaria que atraviesa la capa plexiforme externa (EPL), terminando dentro de los glomérulos, cada célula mitral también manda varias dendritas secundarias en dirección lateral dentro de la capa plexiforme externa, sus axones pasan caudalmente al interior del bulbo y se reúne en la superficie posterolateral y forma el tracto lateral olfatorio (LOT), aunque algunos vuelven a terminar en la capa plexiforme externa e interna y otros en la capa granulosa. La salida de los axones al tracto olfatorio lateral provee numerosas ramas que terminan en la primera capa de la corteza olfatoria. Las células de penacho son células eferentes parecidas a las mitrales, pero en posición más superficial, la capa plexiforme externa (Valverde, 2003; Shepherd, 2003).

Las interneuronas son las células periglomerulares y las granulosas. Las periglomerulares rodean al glomérulo, tienen un diámetro de 6-8 $\mu$ m, estas células tienen dendritas que arborizan dentro del glomérulo, mandan su axón dentro de la región extraglomerular, (Valverde, 2003; Shepherd, 2003).

Las células granulosas están por debajo de las células mitrales con un cuerpo celular pequeño de 6-8  $\mu$ m, sus dendritas son notables por poseer numerosas espinas largas, extiende sus dendritas de 50 a 200  $\mu$ m, se han encontrado 3 tipos diferentes de células (Shepherd, 2003).

- ✓ Las células granulosas superficiales, que poseen dendritas periféricas que ramifican principalmente en la superficie de la EPL, y algunas dendritas entre las células de penacho.
  
- ✓ Las células granulosas intermedias ramifican a toda la EPL.
  
- ✓ Y finalmente las células granulosas profundas, mandan sus dendritas a la parte baja de la EPL y entre las células mitrales.

Las células periglomerulares y las células granulosas son generadas predominantemente durante el periodo postnatal y continua durante toda la vida, se forman en la pared del ventrículo en la zona subventricular en forma de neuroblasto, viajan al bulbo olfatorio por el tracto rostral migratorio, donde se diferencian y se incorporan al circuito sináptico, como lo ha reportado Moreno y cols., 2009, que la estimulación olfatoria con diferentes odorantes, favorece la neurogénesis y diferenciación de las células granulosas en el bulbo olfatorio.

Además se ha observado que estas células presentan gran plasticidad neuronal, esto quiere decir que tienen la capacidad de adaptar sus funciones para minimizar alteraciones estructurales o fisiológicas como respuesta a un estímulo externo (Valverde, 2003).

## **II.XVI. Estrógenos en el SNC**

Los estrógenos son hormonas esteroides de C<sub>18</sub>, los cuales son sintetizados por los ovarios y los testículos, se transportan en el torrente sanguíneo unidos a globulinas hasta llegar a la célula blanco, donde entran por difusión pasiva y se unen a los receptores ER (Nadal y cols., 2001). Se ha establecido que el sistema nervioso central es blanco de las hormonas sexuales, se ha estudiado principalmente la presencia de 17 β-estradiol, la cual es la responsable de la diferenciación específica del sexo (Behl, 2002).

Sin embargo el estradiol ejerce múltiples acciones en el sistema nervioso central, estas acciones son en parte mediadas por los efectos directos de estas hormonas en las neuronas, se han relacionado al efecto del estradiol y sus receptores ER $\alpha$  y ER $\beta$ , los cuales, en parte promueven al gen Prothymosin- $\alpha$ , el cual juega un rol importante induciendo la diferenciación de las células de origen neuronal. Además se ha demostrado que el estradiol promueve el flujo del Ca<sup>2+</sup> dentro de la célula en segundos, promoviendo una cascada de reacciones dentro del núcleo para la producción de Citocinas, tales como la interleucina-6 (IL-6), proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa C (PKC), proteína cinasa B (PKB), calmodulina dependiente de Ca<sup>2+</sup> (CAMK) y proteína cinasa de actividad mitogénica (MAPK), además del factor de necrosis tumoral alpha (TNF $\alpha$ ). Por otro lado los estrógenos modulan la actividad de ionóforos y receptores de membrana ligados a proteínas G, mediante la interacción con los receptores ER $\alpha$  y ER $\beta$ . Estos receptores se han localizado mediante inmunoreactividad en regiones cerebrales tales como corteza cerebral, septum,

amígdala, tálamo, hipocampo, área ventral tegmental, sustancia nigra, cerebelo y bulbo olfatorio, entre otros (Maggi y cols., 2003; Shughrue y cols., 1997).

Adicionalmente los estrógenos también regulan la función del sistema nervioso central por su acción en las células gliales, tales como la oligodendroglía, astrogliá y microglía. Estas se envuelven en una gran variedad de funciones entre ellas, inducen la regulación del metabolismo neuronal, transmisión sináptica y plasticidad neuronal (Nilsen y cols., 2000).

El estradiol regula la activación de las vías de señalización de las cinasas y la modificación de los niveles de  $Ca^{2+}$ , además de la síntesis de factores de crecimiento que actúan sobre la supervivencia neuronal bajo condiciones patológicas (Bourque y cols., 2009), inducen la regulación de niveles de fosfatasa, fosforilación de cinasas y de expresión de moléculas reguladoras de apoptosis (García-Segura y Balthazart, 2009).

Se ha observado que las enfermedades neurodegenerativas tales como Parkinson y Alzheimer, prevalecen principalmente en los hombres, debido a la gran diferencia en la concentración de estrógenos presentes en el sistema nervioso, el cual tiene un efecto neuroprotector en dicho sistema (Gillies y cols., 2004; Morale y cols., 2005). Además en estas enfermedades se ha visto un incremento de la citosina proinflamatoria, “factor de necrosis tumoral- $\alpha$ ” (TNF- $\alpha$ ), que tiene un papel importante en estos desórdenes neurodegenerativos. Sin embargo, la presencia de estrógenos endógenos reduce esta expresión del TNF- $\alpha$ , actuando como neuroprotector principalmente en las hembras (Liao y cols., 2002).

### **III. Justificación**

---

Se ha asociado la presencia de agentes xenobióticos como factor de riesgo en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas que cursan con disfunción olfatoria en las etapas iniciales.

El vanadio se ha incrementado en el ambiente, se sabe que el  $V_2O_5$  induce alteraciones citológicas diferenciales por sexo en el bulbo olfatorio de ratón, causando pérdida de espinas dendríticas de las células granulosas; alteraciones que persisten cuando los animales son mantenidos durante un mes a un ambiente libre del metal.

Es conveniente hacer una investigación empleando un mayor plazo de recuperación ya que se sabe que las neuronas granulares tienen gran plasticidad.

Por lo que en el presente trabajo se evaluará la función olfatoria y la densidad espinosa de neuronas granulosas de bulbo olfatorio de ratones macho y hembra expuestos por vía inhalada con y sin un periodo de 2 meses de recuperación sin inhalar.

#### IV. Hipótesis

---

❖ Se ha reportado que el  $V_2O_5$  es un agente tóxico para el sistema nervioso central, en donde se ha observado pérdida de espinas dendríticas en las células granulosas del bulbo olfatorio, sin embargo se sabe que esta estructura es altamente plástica. Por lo que suponemos que con un periodo de recuperación de 8 semanas sin inhalación posterior a la exposición sub-aguda de  $V_2O_5$  será suficiente para que se recupere la capacidad olfatoria que se perdió durante la exposición, además de que las células granulosas del bulbo olfatorio recuperen el número de espinas dendríticas. se espera que esta recuperación será mayor en las hembras que en los machos debido a que presentan mayor cantidad de estrógenos.

## **V. Objetivo general**

---

---

- Evaluar la recuperación citológica y funcional del Bulbo Olfatorio de ratones machos y hembras después de la exposición subaguda a Pentóxido de Vanadio ( $V_2O_5$ ).

## **VI. Objetivos particulares**

---

---

- Evaluar la capacidad olfatoria en ratones hembras y machos después de 8 inhalaciones de  $V_2O_5$  con y sin un periodo de recuperación de 2 meses.
  
- Cuantificar la densidad espinosa en las células granulosas del Bulbo Olfatorio de ratones hembras y machos después de 8 inhalaciones de  $V_2O_5$  con y sin recuperación de 2 meses.

## VII. Material y métodos

---

### VII.I. Animales

Se utilizaron 30 ratones machos y 30 hembras de la cepa CD-1, entre 8 y 12 semanas de edad con un peso aproximado de  $35\pm 2$  g, los cuales permanecieron en cajas de acrílico bajo condiciones de luz (12h de luz / 12 de oscuridad) y alimentados con *Purina Rat Chow* y agua *ad Libitum*.

### VII.II. Tratamientos

Los ratones se clasificaron por sexo en los grupos: Control (con una n=10 ratones por cada sexo), expuesto con recuperación (con una n=10 ratones por cada sexo), y expuesto sin un periodo de recuperación (con una n=10 ratones por cada sexo). Todos los animales se colocaron en una caja de acrílico conectada a un ultra nebulizador con un fluido de 10 ml/min. La exposición fue a una concentración de 0.02 M de  $V_2O_5$  durante 60 minutos dos veces por semana, teniendo un total de 8 inhalaciones durante un mes; el grupo control fue expuesto a agua destilada bajo las mismas condiciones. El tiempo de recuperación fue de 2 meses sin inhalar (Colín-Barenque, 2005).

### VII.III. Prueba olfatoria

Todos los grupos se sometieron a una prueba funcional olfatoria realizada cada 15 días, tomando como grupo control un registro de la prueba una semana antes de su primera inhalación a  $V_2O_5$ , hasta el momento de su sacrificio. La prueba consistió en privar de agua y alimento a los animales 24 horas antes de la prueba, y al día siguiente cada ratón se colocó en una caja de acrílico, con un periodo de adaptación

de 10-15 minutos; posteriormente se midió el tiempo de olfacción, en el cual los animales percibían (permanecía con la nariz pegada al papel) cada uno de los 3 diferentes odorantes (Heptaldehido 0.1 M, Ácido acético 5% y Alcohol al 100%) por separado y siempre en diferente orden y posición dentro de la caja de acrílico, con un volumen de 200 $\mu$ L en 1cm<sup>2</sup> de papel filtro; en esta prueba se tomó el tiempo que el ratón mostraba interés por cada uno de los odorantes en un tiempo de 5 minutos cada uno, dejando un intervalo de 5 minutos entre cada odorante, para evitar que estos odorantes se impregnaran e interfirieran con los siguientes odorantes (Kobayakawa y cols., 2007).

#### *VII.IV. Análisis citológico*

Los grupos control y expuesto se sacrificaron a la 4ta. semana de exposición (8 inhalaciones) y el grupo con recuperación se sacrificó en la semana 12 (4 semanas de exposición y 8 semanas de recuperación), todos con una dosis letal de anestesia profunda con pentobarbital sódico y perfundidos vía aorta con solución salina, paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos (0.1M, pH 7.4); se extrajeron los bulbos olfatorios y se colocaron en fijador con PBS (0.1M, pH 7.4) por 2 hrs a 4° C, y se mantuvieron durante 7 días en solución de Golgi, la cual consistió en 1g de tetraóxido de osmio, 8g de dicromato de potasio en 300 ml de agua; posteriormente se dejó un día en una solución de nitrato de plata al 0.75%, para posteriormente encastrarlos en parafina, y realizar cortes histológicos sagitales de 90  $\mu$ m de grosor, después se deshidrataron y se aclararon en eugenol y xilol para finalmente montarse y cubrirse con resina.

Para el análisis citológico se realizó el conteo del número de espinas dendríticas en 10  $\mu\text{m}$  en las dendritas secundarias a partir de la primera bifurcación, en 25 células granulosas del bulbo olfatorio por cada ratón utilizando el objetivo de 40X y un ocular calibrado.

#### *VII.V. Análisis estadístico*

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de ANOVA con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

## VIII. Resultados

---

En la evaluación funcional olfatoria, los ratones mostraron una alteración al concluir las 4 semanas de exposición al pentóxido de vanadio en comparación al tiempo control, y una recuperación evidente al concluir las 8 semanas sin inhalar.

Se observó que tanto las hembras como los machos mostraron preferencia principalmente por el ácido acético, seguido por el heptaldehído y por último el etanol. En la Figura 3 se observa que en la evaluación control (tiempo control), las hembras presentaron con el ácido acético, un tiempo de olfacción significativamente superior ( $11.82 \pm 2.7$  segundos) al tiempo de olfacción que presentaron los machos ( $3.97 \pm 0.20$  segundos),

En la Figura 4 se observa que también las hembras obtuvieron mayor tiempo de olfacción ( $4.5 \pm 0.48$  segundos) para el heptaldehído (Figura 4), siendo el tiempo de los machos de  $3.23 \pm 0.23$  segundos, y de igual forma en el tiempo de olfacción del etanol las hembras presentaron  $2.38 \pm 0.29$  segundos y los machos obtuvieron un tiempo de  $1.53 \pm 0.15$  segundos. (Figura 5) en todos los casos se observaron diferencias estadísticamente significativas.

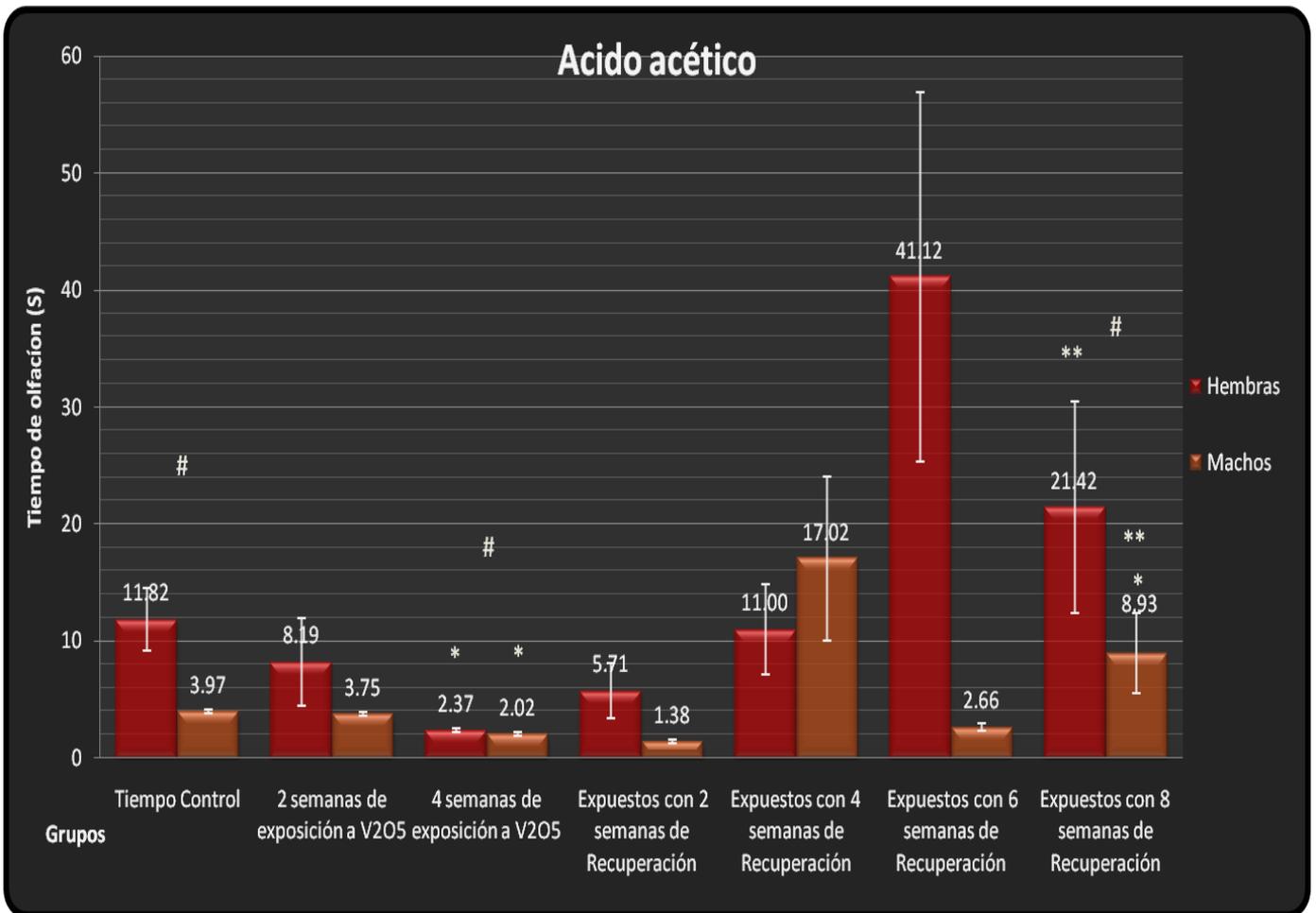


Figura 3 .Tiempo de olfacción de machos y hembras con el Acido acético, 5% (ANOVA \* Diferencia del los grupos experimentales contra control. \*\* Diferencia del grupo recuperado contra el grupo expuesto. # Diferencia por género. P<0.05).

Al finalizar las 8 inhalaciones de pentóxido de vanadio los tiempos de olfacción para los tres odorantes, se redujeron drásticamente en ambos sexos al compararlos con el tiempo control, donde para el ácido acético el tiempo de las hembras fue de  $2.37 \pm 0.15$  seg. y  $2.02 \pm 0.17$  segundos en machos (Fig. 3); para el heptaldehido las hembras obtuvieron  $2.02 \pm 0.13$  segundos y los machos obtuvieron  $1.3 \pm 0.16$  segundos (Fig. 4). Y de igual forma en el tiempo de olfacción para el etanol (Fig. 5) los grupos expuestos presentaron diferencia significativa donde el tiempo de las hembras fue de  $0.63 \pm 0.08$  segundos y  $0.49 \pm 0.09$  segundos para los machos.

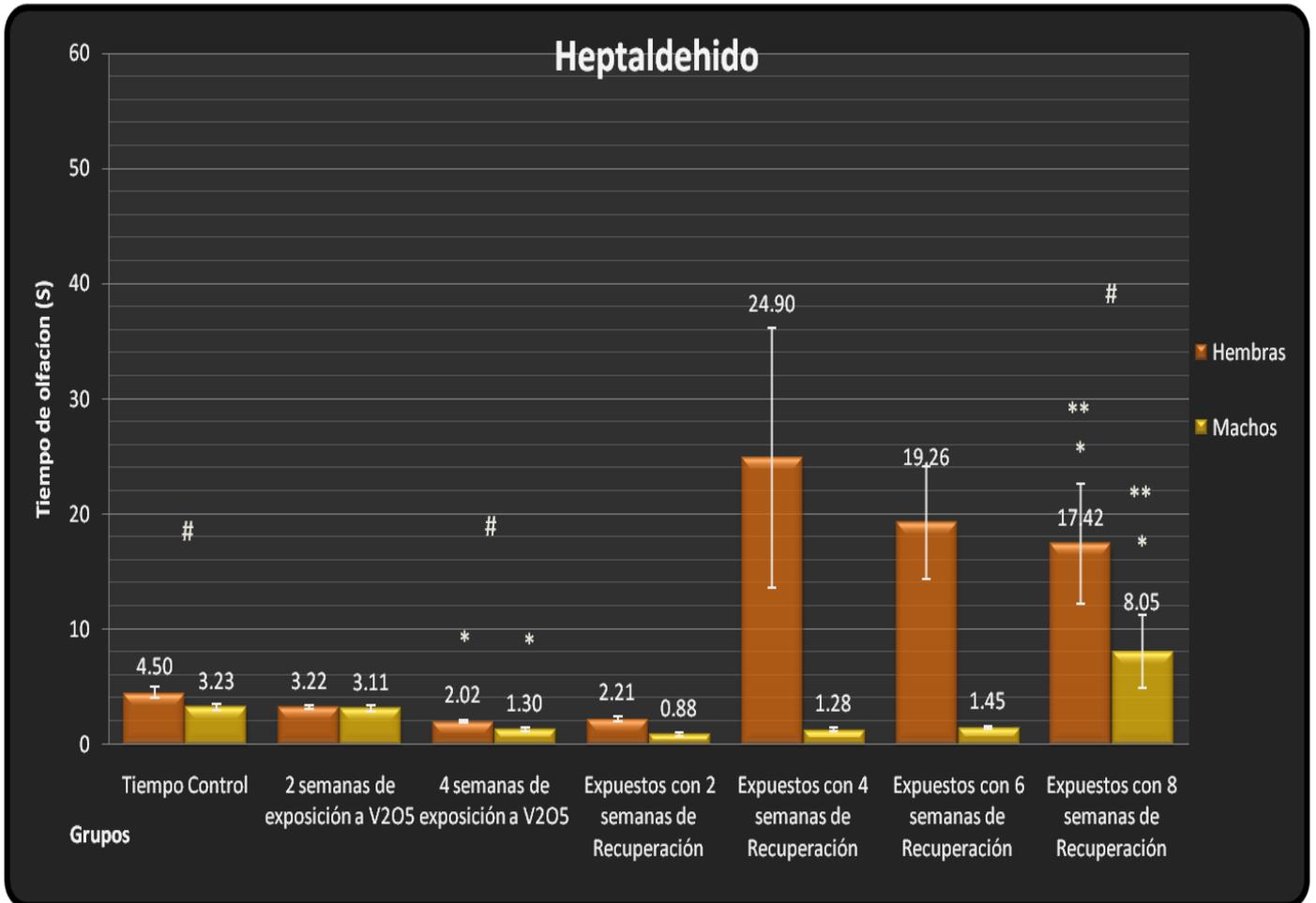


Figura 4 .Tiempo de olfacción de machos y hembras con el heptaldehido 0.1 M (ANOVA \* Diferencia del los grupos experimentales contra control. \*\* Diferencia del grupo recuperado contra el grupo expuesto. # Diferencia por género. P<0.05).

A las 8 semanas de recuperación sin inhalación de  $V_2O_5$ , los tiempos que registraron ambos géneros comparados con los datos del tiempo control y el periodo de 8 inhalaciones reflejaron un claro aumento significativo en el tiempo de olfacción en los tres odorantes entre hembras y machos. Las hembras obtuvieron para el ácido acético (Fig. 3) un tiempo de  $21.42 \pm 9.04$  segundos y los machos obtuvieron  $8.93 \pm 3.38$  segundos; para el heptaldehido (Fig. 4) mostraron un tiempo de  $17.41 \pm 5.22$  segundos en hembras y  $8.05 \pm 3.16$  en machos, mientras que la preferencia hacia el etanol en las hembras fue de un tiempo de  $9.19 \pm 6.02$  segundos y en los machos fue de  $1.38 \pm 0.29$  segundos (Fig. 5).

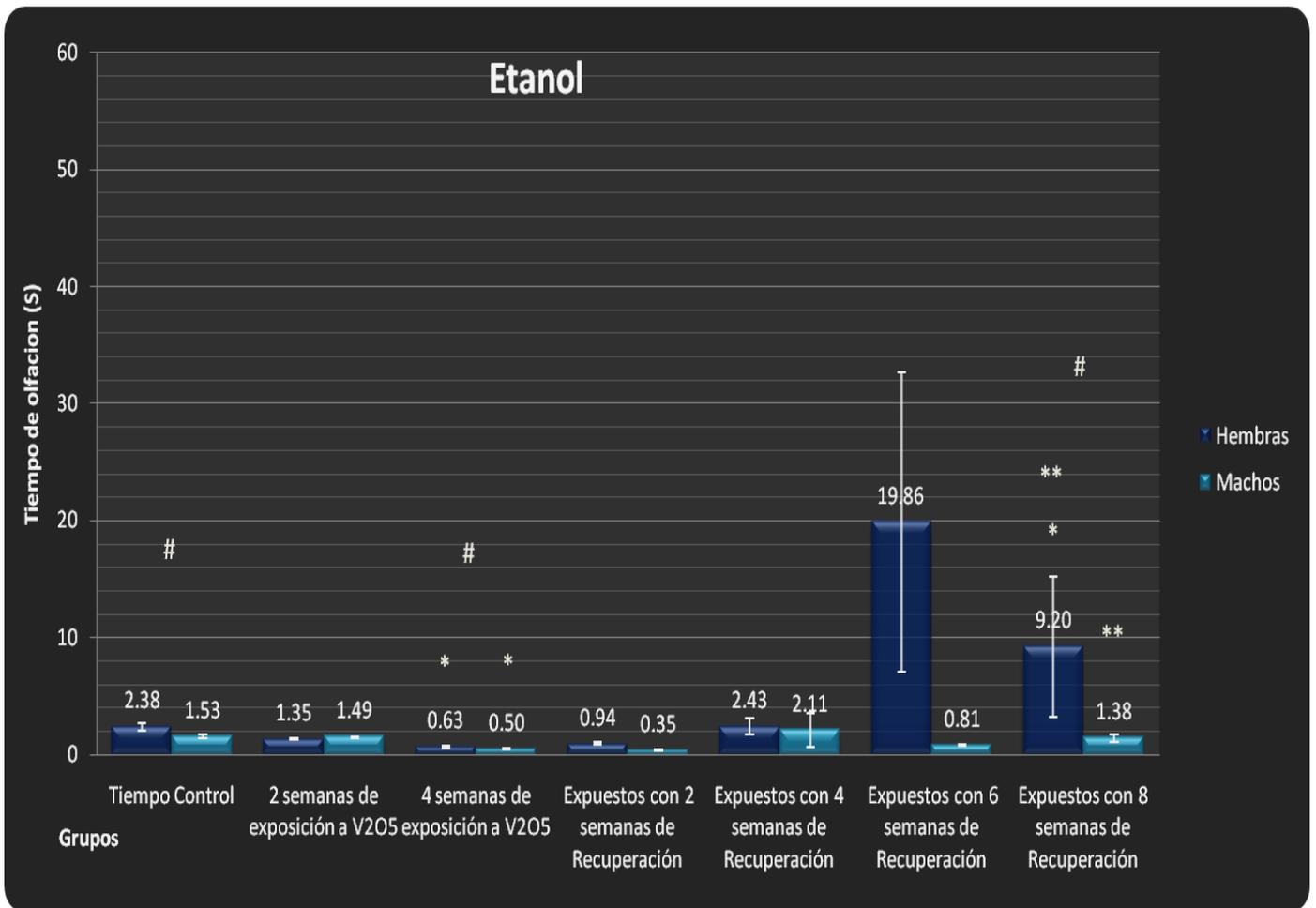


Figura 5. Tiempo de olfacción de machos y hembras con el etanol 100% (ANOVA \* Diferencia del los grupos experimentales contra control. \*\* Diferencia del grupo recuperado contra el grupo expuesto. # Diferencia por género. P<0.05).

Como se puede observar en los tres grupos (tiempo control, expuesto a  $V_2O_5$ , y expuesto a  $V_2O_5$  con recuperación) el tiempo de olfacción para los tres odorantes fue mayor en las hembras comparadas con el tiempo de los machos.

Por otro lado el análisis citológico mostró que la inhalación de  $V_2O_5$  durante 4 semanas produce pérdida significativa de espinas dendríticas en las neuronas granulosas del bulbo olfatorio, en contraste los grupos de recuperación mostraron aumento en el número de espinas dendríticas como se muestra en la Figura 6.

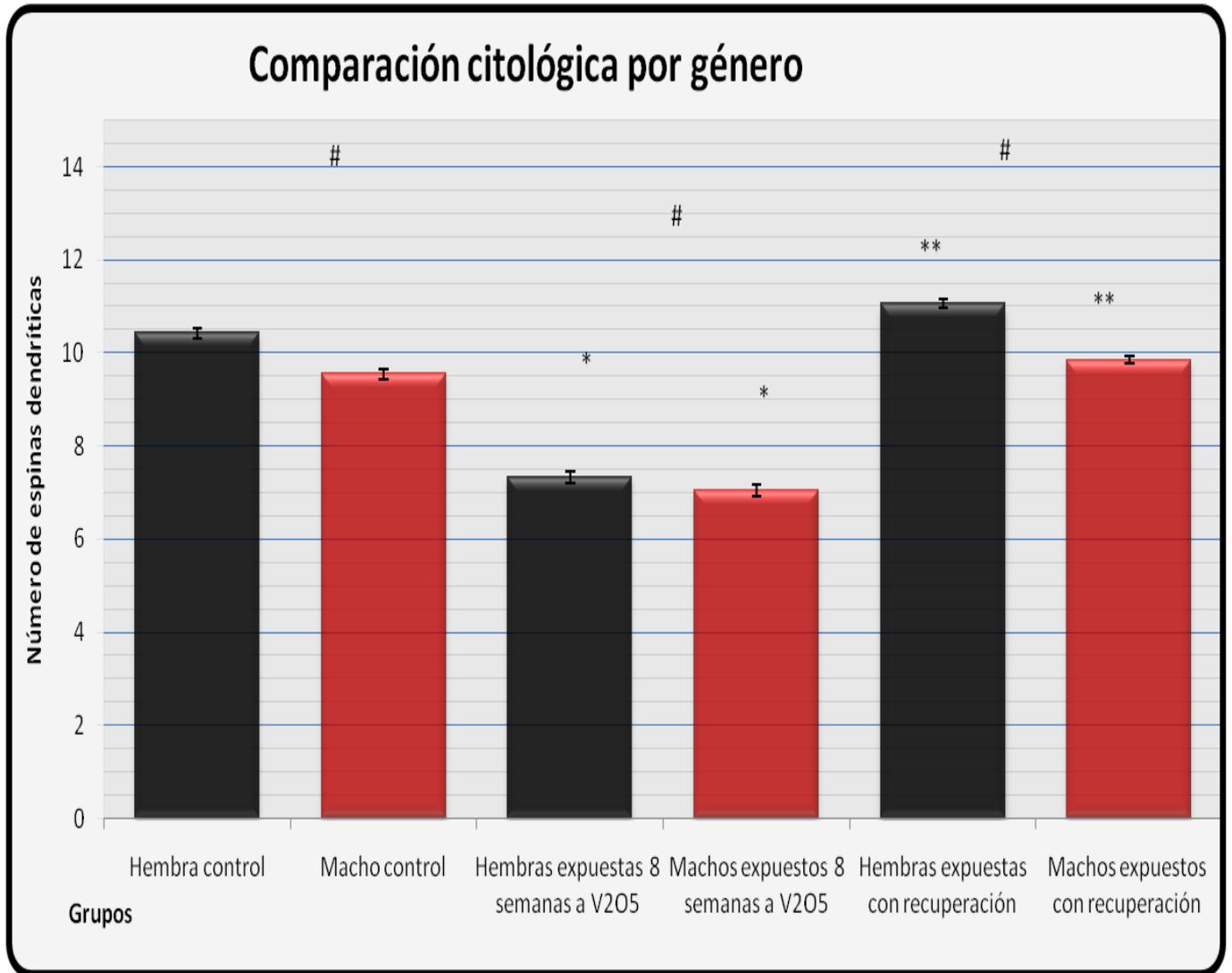


Figura 6. Número de espinas dendríticas en las células granulosas de bulbo olfatorio en machos y hembras (ANOVA \* Diferencia del los grupos experimentales contra el grupo control. \*\* Diferencia del grupo recuperado contra el grupo expuesto. # = Diferencia por género.  $P < 0.05$ ).

Donde el número de espinas dendríticas del grupo expuesto a  $V_2O_5$  (en hembras:  $7.325 \pm 0.12$ ; machos:  $7.045 \pm 0.13$ ) presentó una pérdida significativa en el número de espinas tanto en machos como en hembras, comparado con el grupo control (en hembras:  $10.43 \pm 0.11$ ; machos:  $9.54 \pm 0.11$ ). Por otro lado el grupo con recuperación (en hembras:  $11.06 \pm 0.10$ ; machos:  $9.85 \pm 0.08$ ) presenta una total recuperación citológica comparada con el grupo expuesto donde también se observan diferencias significativas en ambos géneros. Asimismo el grupo recuperado mostró una mayor cantidad de espinas dendríticas comparado con el grupo control.

En la figura 7 se muestran las espinas dendríticas de las células granulosas de los ratones hembras (Figura 7a) y machos (Figura 7b) del grupo control donde se nota claramente que la densidad de las espinas es más abundante en las hembras que en los machos.

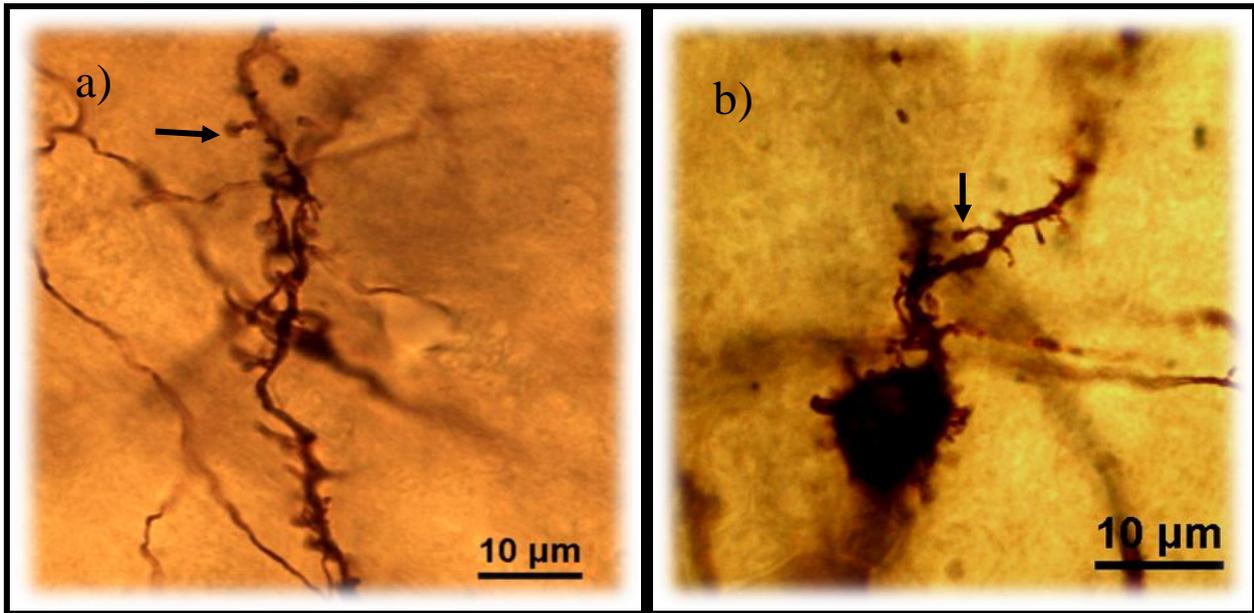


Figura 7. Espinas dendríticas de células granulosas del bulbo olfatorio de un ratón hembra y un macho del grupo control. La imagen a) dendrita ( → ) de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón hembra del grupo control, la imagen b) Corresponde a las espinas dendríticas ( → ) de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón macho del grupo control.

Para el grupo expuesto a  $V_2O_5$  (Figura 8) el número de espinas dendríticas se vio claramente reducido comparado con las imágenes de las células granulosas del grupo control, donde la imagen correspondiente a las hembras muestra mayor número de espinas dendríticas respecto a la de los machos.

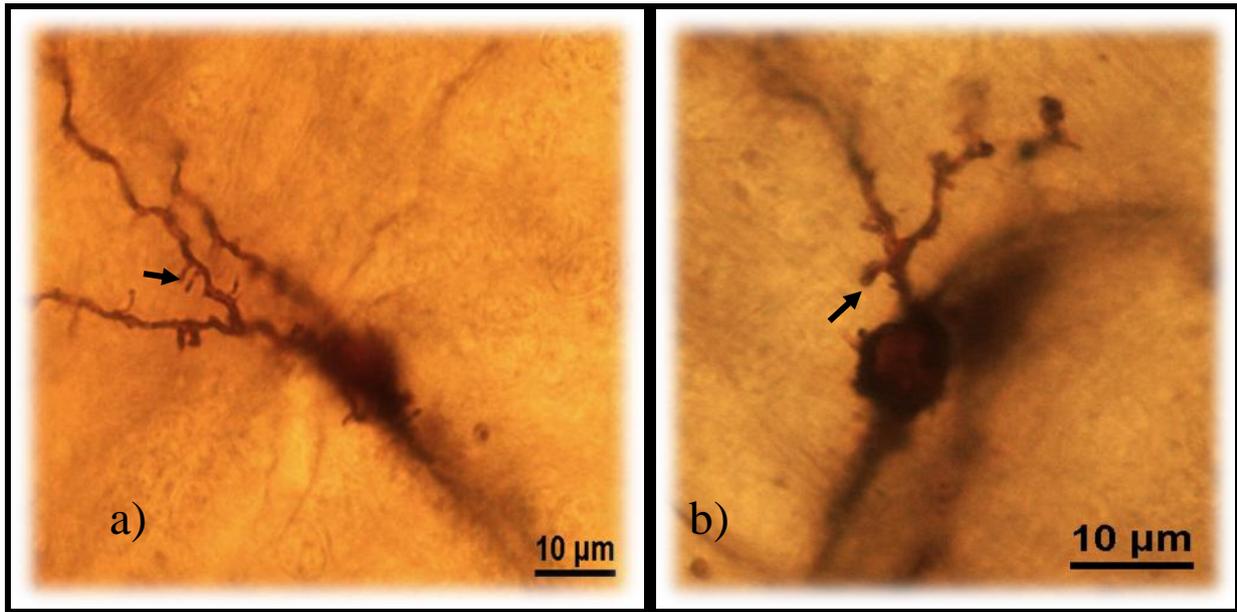


Figura 8. Espinas dendríticas de células granulosas del bulbo olfatorio de ratones hembras y machos del grupo expuesto durante 4 semanas a  $V_2O_5$ . a) espinas dendríticas ( → ) de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón hembra del grupo expuesto durante 4 semanas a  $V_2O_5$  y la imagen b) las espinas dendríticas ( → ) de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón macho del grupo expuesto durante 4 semanas a  $V_2O_5$ .

Una vez concluido el periodo de recuperación el número de espinas aumento claramente (Figura 9), lo reveló el análisis citológico, donde las hembras también presentaron mayor número de espinas dendríticas respecto a los machos (Figura 6), e incluso se observa que el número de espinas dendríticas es mayor a la densidad espinosa del grupo control.

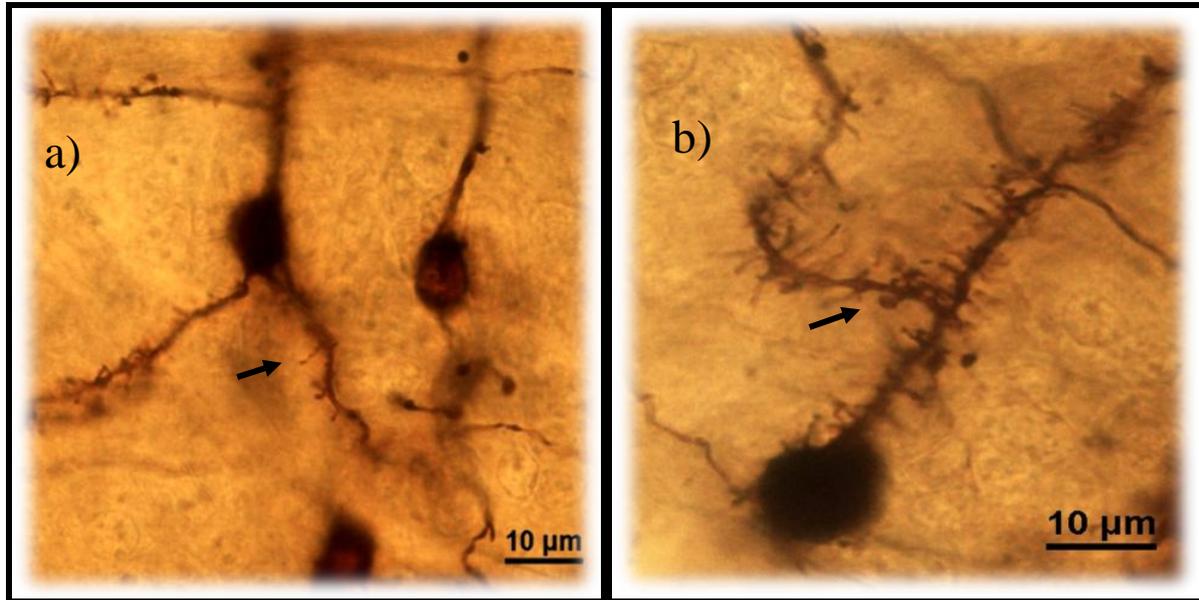


Figura 9. Espinas dendríticas de células granulosas del bulbo olfatorio de ratones hembras y machos del grupo recuperado. La imagen a) espinas dendríticas ( → ) de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón hembra del grupo expuesto durante 4 semanas a  $V_2O_5$  y 8 semanas de recuperación sin inhalación y la imagen b) espinas dendríticas ( → ) de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón macho del grupo expuesto durante 4 semanas a  $V_2O_5$  y 8 semanas de recuperación sin inhalación.

## **IX. Discusión**

---

La contaminación en las grandes ciudades ha sido una de las principales causas por las cuales la población ha presentado alteración en la capacidad de olfatoria, ya que estos se exponen tanto a ozono, como cadmio, y otros contaminantes entre ellos el vanadio; estos compuestos se sabe que dañan tanto el epitelio olfatorio como el bulbo olfatorio, afectando el rendimiento de olfacción (Hudson y cols., 2006; Cervantes, 2009), lo cual también se ha ligado a enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Párkinson, ya que uno de sus primeros síntomas es la pérdida de la olfacción.

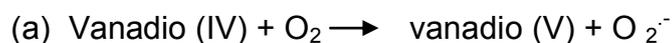
Como se pudo observar, la inhalación de  $V_2O_5$  (Figuras 3,4 y 5) provocó alteración significativa de la capacidad olfatoria con los tres odorantes en ambos sexos, ya que el tiempo de olfacción se vio claramente disminuido respecto al tiempo control, Además observamos que la preferencia olfatoria siempre fue primero hacia el ácido acético, seguida por el heptaldehído y finalmente por el etanol en los tres grupos.

La alteración en la olfacción que presentó el grupo expuesto a  $V_2O_5$  se puede asociar a que la vía de inhalación es una de las principales entradas de contaminantes, ya que tienen contacto primeramente con el epitelio olfatorio, donde se encuentran las neuronas olfatorias sensoriales (NSO), las cuales mandan un impulso nervioso dentro del bulbo olfatorio, directamente a los glomérulos y estos a su vez forman sinapsis con las dendritas de las neuronas de segundo orden (las células mitrales y las células en penacho) y las interneuronas (células granulosas) (Valverde, 2003).

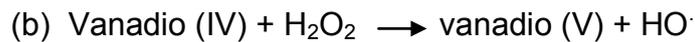
Se sabe que la exposición a diferentes químicos produce anosmia (Heiser *et al*, 2009), además de que la alteración de la discriminación olfatoria se ha observado en diferentes desordenes neurodegenerativos, donde se ha encontrado que el tamaño del bulbo olfatorio se ve reducido, lo cual se relaciona con el rendimiento cognitivo del paciente, además de que el tracto olfatorio presenta atrofia en las primeras etapas de las enfermedades como el Alzheimer y Parkinson (Thomann y cols., 2007), lo cual es útil para la detección temprana de estos padecimientos. Además en los pacientes con enfermedad del Alzheimer, se ha observado sobreexpresión de un precursor de la  $\beta$ -amiloide en el bulbo olfatorio, lo cual se asocia al déficit olfatorio (Wesson y cols., 2010).

Uno de los factores que se han relacionado con estas enfermedades neurodegenerativas es el estrés oxidativo promoviendo la formación de ROS y RL, que se generan por contaminantes atmosféricos, como el  $V_2O_5$  (Barceloux, 1999).

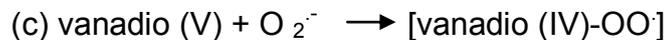
Donde la oxidación del vanadio (IV), genera el radical anión superóxido ( $O_2^-$ ) y vanadio (V).



Este anión superóxido puede ser dismutado espontáneamente o enzimáticamente por SOD (Super Oxido Dismutasa) produciendo peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ), el cual puede reaccionar con el vanadio (IV) y producir un radical libre Hidroxilo ( $HO\cdot$ ), a lo que llamamos reacción Fenton.



El hidroxilo reacciona con el peróxido de hidrógeno para generar superóxido nuevamente, el cual puede permanecer en forma compleja en una fracción del vanadio, formando un tipo de vanadil peróxido. El cual se estabiliza por la reducción de un electrón de vanadio (IV),



Especialmente el vanadio estimula la oxidación de NAD(P)H en mitocondria, promoviendo la reducción de vanadio (V) a vanadio (IV) para que este genere Superóxido en presencia de oxígeno (a), y así este por la presencia de SOD forme peróxido de hidrogeno y se forme finalmente (b) el radical hidroxilo (Byezkowski y Kuikarni, 1998), el cual es uno de los principales factores que daña diferentes estructuras como hipocampo, estriado, corteza prefrontal y bulbo olfatorio (Colín-Barenque y cols. 2005; 2007, Avila-Costa y cols., 2005 y Juárez, 2007).

Estudios en un modelo de inhalación a  $V_2O_5$  han demostrado incremento en la actividad de las MMPs-2 y MMPs-9 en el SNC, la cual degrada la matriz extracelular ocasionando muerte neuronal (Colín-Barenque y cols., 2008), así mismo se ha encontrado la presencia de estas gelatinasas en enfermedades neurodegenerativas tales como en la enfermedad de Parkinson y Alzheimer (Baig y cols., 2008), además se les ha implicado en procesos de inflamación y crecimiento tumoral (Lorenzl y cols., 2002). La activación de los diferentes tipos de MMPs en estas enfermedades neurodegenerativas se induce por radicales libres. Además ratones expuestos a  $V_2O_5$  presentan aumento de las MMPs-2 y MMPs-9 en la capa glomerular y granulosa del bulbo olfatorio de (Cervantes, 2009), y en otras regiones relacionadas con el olfato, lo cual se asocia a una de las causas de la pérdida de espinas dendríticas y muerte neuronal (Colín-Barenque y cols., 2008).

La pérdida de espinas podría deberse a que el vanadio induce citotoxicidad por interacción con diferentes elementos del citoesqueleto, dañando a los microtúbulos y microfilamentos, los cuales están constituidos de subunidades de tubulina y actina respectivamente (Mussali-Galante y cols., 2007), modificando la arquitectura de la célula, esto es importante ya que las espinas dendríticas contienen actina, miosina calmodulina etc. las cuales son moléculas implicadas en los procesos fundamentales de plasticidad y motilidad de las espinas dendríticas (Holcman y cols., 2004). Por lo que el daño en estas proteínas podrían repercutir en la dinámica y morfología de las espinas.

Por otra parte se propone que la pérdida de espinas dendríticas se debe al incremento del glutamato de las neuronas mitrales, las cuales realizan sinapsis

dendrodendríticas con las células granulosas, despolarizando las membranas, activando los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje, depolimerización de actina y como consecuencia en la disminución en el número de espinas dendríticas (Harris, 1999), esto quiere decir que ciertos neurotransmisores tienen potencial para modificar la neuroarquitectura en los desórdenes neurodegenerativos, esto conlleva a cambios en las dendritas e incluso una serie de acontecimientos que causan muerte neuronal (Colín-Barenque y cols., 2007). Por lo que la pérdida de espinas dendríticas podría deberse a un mecanismo celular compensatorio para evitar la muerte, ya que cuando se reduce el número de espinas se reduce la posibilidad de contactos sinápticos y con esto la posible toxicidad (Shepherd, 2003).

Además, el  $\text{V}_2\text{O}_5$  es un inhibidor competitivo de la proteína tirosina fosfatasa la cual interviene en la regulación de receptores de algunos neurotransmisores tales como el NMDA, un tipo de receptor glutamatérgico que regula el  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, el cual entre otras funciones interviene en la generación del potencial de acción de las células, liberación de neurotransmisores y plasticidad neuronal, sin embargo si se produce una gran entrada de  $\text{Ca}^{2+}$ , se desencadenan una serie de acontecimientos de daño neuronal e incluso muerte celular (Yu y cols., 2001), envolviéndose en una cascada de reacciones relacionadas con proteínas dependientes de  $\text{Ca}^{2+}$  tales como las calpaínas, calcineurina y ácido araquidónico, las cuales regulan la proteólisis del citoesqueleto (Hyung-Wook y cols., 2009). Además, promueve la activación de la fosfolipasa A2 la cual produce aumento de ácido araquidónico de la membrana, que a su vez activa la prostaglandina H sintasa (PGH), además de la activación de óxido nítrico sintasa (NO), la producción de estas enzimas conlleva a la liberación de ROS (Corona y Tapia, 2005).

Por otra parte se demostró que en el periodo de recuperación a la exposición subaguda de  $V_2O_5$ , el número de espinas dendríticas es semejante al grupo control, lo cual nos indica que el bulbo olfatorio presenta gran plasticidad reflejada en la capacidad de responder funcional y morfológicamente en el sentido de suplir las deficiencias correspondientes al daño celular. (Arias-Carrión y cols., 2007).

Como se ha descrito, las neuronas olfatorias sensoriales que proyectan hacia el bulbo olfatorio tienen la capacidad de reintegrar inervaciones después de sufrir algún daño o después de la exposición a agentes químicos, por lo que podría explicar la recuperación observada en el bulbo olfatorio, donde una reintegración de aferencias nerviosas hacia el bulbo olfatorio propicio una recuperación en la capacidad de olfacción (Astic y Saucier, 2001), de igual forma Yee y Costanzo en 1995 también demostraron que la capacidad de olfacción así como la discriminación de la misma son restauradas después de la reinervación del bulbo olfatorio.

El incremento en el número de espinas posterior al daño por toxicidad, podría depender de los procesos celulares para su restauración, tales como vías de regulación de volumen, la homeostasis del calcio y la reorganización del citoesqueleto (Hasbani y cols., 2001), por lo que es posible que intervenga en esta recuperación una polimerización de actina, ya que ésta es un elemento principal de las espinas dendríticas y factor importante en su arquitectura por lo tanto es fundamental en los cambios morfológicos de las mismas (Bourne y Harris, 2007), y/o probablemente algunos receptores que se encuentran en la densidad postsináptica interactúan en consecuencia de una previa estimulación sináptica, promoviendo una reorganización

de los filamentos de actina en el citoesqueleto de las espinas dendríticas y así una recuperación de las mismas (Haeckel y cols. 2008).

Además, la plasticidad neuronal también se ha asociado a la presencia de células gliales, las cuales producen variedad de moléculas, incluyendo células de adhesión y factores de crecimiento; que favorecen la formación de nuevas espinas por una prolongación llamada *Filopodium* el cual es extensión citoplasmática de una dendrita altamente móvil, el cual sirve como un elemento para detectar neuronas adyacentes y formar nuevos contactos sinápticos, formando una espina madura (Segal, 2005), esto podría explicar en parte la recuperación en el número de espinas dendríticas en el grupo que permaneció 8 semanas sin inhalación.

Por otro lado, la diferencia que existió entre las hembras y los machos respecto al número de espinas dendríticas se lo podríamos atribuir a la presencia de los estrógenos ya que se ha estudiado el potencial del 17- $\beta$  estradiol (Figura 13) sobre los receptores ER $\alpha$  y ER $\beta$  en el sistema nervioso central, presentes en corteza cerebral, septum, amígdala, tálamo, hipocampo, área ventral tegmental, sustancia nigra, cerebelo y bulbo olfatorio, entre otros (Maggi y cols. 2003).

Se ha comprobado que los estrógenos pueden regular la formación de nuevas espinas dendríticas, así como la maduración de contactos sinápticos en el área del hipocampo en neuronas piramidales de CA1, así como en otras regiones del cerebro. Además se ha demostrado una sobre regulación de los estrógenos en algunas proteínas de las zonas presináptica y postsináptica, tales como la PSD95, una proteína ligada a los receptores NMDA, la cual incrementa el número de contactos

sinápticos en espinas dendríticas; así como otra proteína llamada espinofilina que predomina en las espinas dendríticas, tiene la capacidad de agrupar a los filamentos de F-actina en el citoesqueleto, lo cual puede estar relacionado con la formación de nuevas espinas dendríticas (Li y cols., 2003).

Además los estrógenos pueden inducir la diferenciación de las neuronas, además promueven la producción de citocinas, tales como la interleucina-6 (IL-6), proteína quinasa A (PKA), proteína quinasa C (PKC), proteína quinasa B (PKB), calmodulina dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$  (CAMK) y proteína quinasa de actividad mitogénica (MAPK), además del factor de necrosis tumoral alpha ( $\text{TNF}\alpha$ ), debido a una cascadas de reacciones las cuales empiezan cuando interactúan con receptores de membranas (proteínas G) o ionóforos, lo que ocasiona un flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  dentro de la célula, esta alteración en el flujo del  $\text{Ca}^{2+}$  es indispensable para el incremento en la formación de nuevas espinas dendríticas (Maggi y cols.2003).

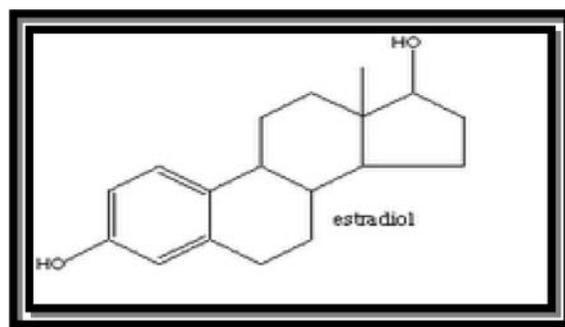


Figura 13. Estructura química del estradiol

En estudios previos se demostró que la exposición a  $V_2O_5$  no afecta en la concentración de estrógenos (Martínez, 2007), se observó que las concentración sérica de 17- $\beta$  estradiol no mostró diferencia significativa respecto al grupo control, sin embargo algunos reportes sugieren que los receptores de estrógenos y en general los receptores para hormonas esteroides, son inhibidos o activados por procesos de fosforilación y defosforilación; como ya se mencionó el vanadio compite con el fosfato y con esto la posibilidad activar los receptores esteroideos regulando la actividad de esta hormona, además se ha demostrado que ciertos metales conforman una clase de elementos ambientales de naturaleza no-esteroidea con capacidad estrogénica, donde el vanadio podría mimetizar la actividad del 17- $\beta$  Estradiol, simulando respuestas estrogénicas (Choe y cols., 2003).

Mas aún, se ha reportado que los estrógenos tienen la capacidad de atenuar el daño neurotóxico inducido por estrés oxidativo (Behl, 2002); como el causado por el  $V_2O_5$ , estos actúan como antioxidantes ya que presentan un grupo hidroxilo intacto en el anillo A de la molécula esteroide (figura 13). La prevención de muerte neuronal se debe a la regulación en el citoesqueleto, involucrados en la regeneración axonal y de espinas dendríticas (Nilsen y cols, 2000).

## **X. Conclusiones**

---

De estos resultados podemos concluir:

Que la inhalación de  $V_2O_5$  produce alteración de la capacidad olfatoria, así como reducción en el número de las espinas dendríticas de las neuronas granulosas del bulbo olfatorio, la cual se ha asociado a la formación de especies reactivas de oxígeno, donde la alteración funcional y citológica fue menor en las hembras.

Se demostró total recuperación en el número de espinas dendríticas cuando se sostuvo un periodo de 8 semanas de recuperación comparado con el grupo expuesto a  $V_2O_5$ , lo cual se manifestó en una recuperación en la capacidad olfatoria, siendo las hembras quienes presentaron mayor recuperación funcional como morfológica, debido probablemente a la presencia de estrógenos los cuales se sabe que actúan como antioxidantes en el sistema nervioso central, teniendo un efecto neuroprotector.

Finalmente podríamos decir que la recuperación en el número de espinas dendríticas de las células granulosas en el bulbo olfatorio, así como en la capacidad olfatoria, se asocia a la gran plasticidad que posee esta estructura.

## **XI. Referencias bibliográficas**

---

- Arias-Carrión O., Olivares-Bañuelos T., Drucker-Colín R. 2007. Neurogénesis en el cerebro adulto. *Revista de neurología*. 44 (9): 541-550.
- Astic L. y Saucier D. 2001. Neuronal plasticity and regeneration in the olfactory system of mammals: morphological and functional recovery following olfactory bulb deafferentation. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 58 (2001) 538–545.
- Avila-Casado M.C., Soto-Abraham V., Lopez-Krauletz S., Fortoul T.I. 2007. The kidney and vanadium effects. *Capítulo 7. En: Vanadium: Its Impact on Health*. Editores: Fortoul TI & Avila-Costa MR. Ed. Nova Science Publishers Inc. New York. pp.57-62.
- Avila-Costa M.R., Montiel Flores ED., Colín-Barenque L., Ordoñez J.L. Gutiérrez A.L. Niño-Cabrera H.G., Mussali-Galante P and Fortoul T.I. 2004. Nigrostriatal modifications alter vanadium inhalation and immunocytochemical and cytological approach. *Neurochem. Res*. 29(7): 1365-1369.
- Avila-Costa M.R., Colín-Barenque L., Zepeda-Rodríguez A., Antuna S., Saldivar O.L., Espejel-Maya G., Mussali-Galante P., Avila-Casado M.C and Fortoul T.I. 2005 Ependymal epithelium disruption after vanadium pentoxide inhalation. A mice experimental model. *Neuroscience Letters* 381:21-25
- Avila-Costa M.R., Fortoul T., Niño-Cabrera G., Colín-Barenque L., Bizarro-Nevares P., Gutiérrez Valdez A.L., Ordóñez Librado J.L., Rodríguez-Lara V., Mussali-Galante P., Díaz-Bech P., Anaya-Martínez V. 2006. Hippocampal cell alterations induced by the inhalation of vanadium pentoxide(V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) promote memory deterioration. *Neurotoxicology*.27:1007-1012.
- Avila-Costa MR., Fortoul TI., Colín-Barenque L., Ordoñez-Librado, L., Gutierrez-Valdez A. 2007. Vanadium and the Nervous System. *Capítulo 4. En: Vanadium: Its Impact on Health*. Editores: Fortoul TI & Avila-Costa MR. Ed. Nova Science Publishers Inc. New York. pp.29-42.
- Baig S., Kehoe P.G., Love S. 2008. MMP-2,-3 and -9 levels and activity are not related to Abeta load in the frontal cortex in Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 34(2):205-215.
- Barceloux D.G. 1999. Vanadium. *Clinical Toxicology*. Topanga, California.37(2),265-278.
- Behl C. 2002. Oestrogen as a neuroprotective hormone. *Neuroscience. Nature reviews*. 3:434-442.

- Bourne J.N. and Harris K.M. 2007. Dendritic Spines. Encyclopedia of life sciences.
- Bourque M., Dluzen D.E., Di Paolo T. 2009. Neuroprotective actions of sex steroids in Parkinson's disease. *Frontiers in Neuroendocrinology* 30 (2009) 142–157.
- Byezkowski J.Z. and Kuikarni A.P. 1998. Vanadium in the Environment. Part 2: Health Effects. John Wiley and Sons.Inc. pp 235-257.
- Carpenter M.B. 1978. Neuroanatomía. El ateneo.5° ed. argentina. Pp 487-495.
- Catalán-Vázquez M., Riojas-Rodríguez. Jarillo-Soto E.C., Delgadillo-Gutiérrez H.J. 2009. Perception of health risks due to air pollution in adolescents in Mexico City. *Salud pública Méx* vol.51 no.2 Cuernavaca.
- Choe S.Y., Kim S.J., Kim H.G., Lee J.H., Choi Y., Lee H., y Kim Y. 2003. Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *The Science of the total environment*. 312:15-21.
- Cervantes P.N. 2009. Efecto de la exposición a Pentóxido de Vanadio sobre la preferencia olfatoria y las gelatinasas en bulbo olfatorio en un modelo murino por inhalación. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de biología celular y tisular; Facultad de medicina.
- Colín-Barenque L., Avila-Costa M.R., Mussali Galante P., Reyes A., Ordoñez JL., Bizarro Nevares P., Pasos F., Aley P., Espinosa Villanueva J., Fortoul T.I. 2005. Recuperación del daño citológico inducido por V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> en bulbo olfatorio de ratón. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Guadalajara Jal.
- Colín-Barenque L. and Fortoul T.I. 2007. Oxidative stress and metals. *Metals and Toxicological Implications in Health*. Ed. T. Fortoul. Ed. Research Signpost 2007. pp.15-25
- Colín-Barenque L., Martínez-Hernández M.G., Baiza-Gutman L.A., Avila-Costa M.R., Ordoñez Librado J.L., Bizarro-Nevares P., Rodríguez-Lara V., Piñon-Zarate G., Rojas-Lemus M., Mussali-Galante P., Fortoul T.I. 2008. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in central nervous system and their modification after vanadium inhalation. *Journal of applied Toxicology*. 28(6):718-723.
- Corona J.C. y Tapia R. 2005. Mecanismos de neurodegeneración. *Mensaje bioquímico*. 29: 17-28.
- Doty R.L. 2008. The Olfactory Vector Hypothesis of Neurodegenerative Disease: Is It Viable? A point of view. *Annals of Neurology* 2008; 63:7–15.
- Díaz-Bech P., Piñon-Zarate G., Diaz-Bech M.E., Fortoul T.I. 2007. The hematopoietic system and Vanadium toxicity. Capítulo 5. En: *Vanadium: Its Impact on Health*. Editores: Fortoul TI & Avila-Costa MR. Ed. Nova Science Publishers Inc. New York. pp.43-49.

- Duffus J.H. 1983. Toxicología ambiental. Edición omega. Barcelona. pp. 82-83, 91.
- Fortoul T.I., Quan-Torres A., Sanchez I., Lopez I.E., Bizarro P., Mendoza M.L., Osorio L.S. Espejel-Maya G., Avila-Casado., Avila-Costa M.R., Colin-Barenque L., Villanueva D.N., Olaiz-Fernandez G. 2002. Vanadium in ambient air: concentrations in lung tissue from autopsies of Mexico City in the 1960s and 1990s. Arch Environ Health; 57(5):446-9.
- Fortoul T.I., Avila-Costa M.R. 2007. Vanadium: its impact on health. Nova Science Publishers, Inc. New York. Pag. 1-87.
- García G.B., Quiroga A.D., Stürtz N., Martínez A.I. and Biancardi M.E. 2004. Morphological Alterations of Central Nervous System (CNS) Myelin in Vanadium (V)-Exposed Adult Rats. Drug and Chemical Toxicology ; Vol. 27, no. 3, pp. 281–293.
- García G.B., Biancardi M.E., Quiroga A.D. 2005. Vanadium (V) –induced neurotoxicity in the rat central nervous system: a histo-immunohistochemical study. Drug and Chemical Toxicology. 28(3): 329-344.
- García I. y Dorronsoro C. 2002. Contaminación por metales pesados. Departamento de edafología y química agrícola de España. Disponible en: <http://146.83.190.52/dpr/Apuntes/MEC%20CONT%20SUELOS/doc1.1SuelosMetalesPesados.pdf>
- Garcia-Segura L.M., Balthazart J. 2009. Steroids and neuroprotection. New advances. Front neuroendocrinol. 30(2):V-IX.
- Gillies G.E., Murray H.E., Dexter D., McArthur S. 2004. Sex dimorphism in the neuroprotective effects of estrogen in an animal model of Parkinson's disease. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 78(3): 513-522.
- Haeckel A., Ahuja R., Gundelfinger E.D., Qualmann B., Kessels M.M. 2008. The actin-binding protein Abp1 Controls dendritic spine morphology and is important for spine head and synapse formation. The journal of neuroscience. 28(40):10031-10044.
- Hasbani M.J., Schlieff L., Fisher D.A. 2001. Dendritic spines lost during glutamate receptor activation reemerge at original sites of synaptic contact. The journal of neuroscience. 21(7):2393–2403.
- Harris K.M. 1999. Calcium from internal stores modifies dendritic spines shape. Proceedings of the National Academy of Sciences. 92(22): 12213-12215.
- Heiser C., Grupp K., Hörmann K., Stuck B.A. 2009. Loss of olfactory function after exposure to barbituric acid. Elsevier Ireland Ltd. 137(1): 103-105.
- Hirsch S. Vitaminas y Elementos Trazas. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Chile (INTA). Disponible en:

[http://www.med.uchile.cl/apuntes/archivos/2004/medicina/vitaminas\\_y\\_elementos\\_traza.pdf](http://www.med.uchile.cl/apuntes/archivos/2004/medicina/vitaminas_y_elementos_traza.pdf)

- Holcman D., Schuss Z., and Korkotian E. 2004. Calcium dynamics in dendritic spines and spine motility. *Biophysical journal*. Vol. 87. pp81-91.
- Hudson R., Arriola A., Martínez-Gómez M., Distel H. 2006. Effect of air pollution on olfactory function in residents of Mexico City. *Oxford University Press*. 31(1): 79-85.
- Hyung-Wook K., Chang Y.C., Chen M., Rapoport S.i., Rao J.S. 2009. Chronic NMDA administration to rats increases brain pro-apoptotic factors while decreasing anti-Apoptotic factors and causes cell death. *BMC Neuroscience*. 10:123.
- Juárez S.M.L. 2007. Efecto de la inhalación del Vanadio en la *sustancia Nigra* y estriado en ratones. Comparación entre sexos. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Kobayakawa K., Kobayakawa R., Matsumoto H., Oka Y., Imai T., Ikawa M., Okabe M., Ikeda T., Itohara S., Kikusui T., Mori K., Sakano H. 2007. Innate versus learned Adour processing in the mouse olfactory bulb. *Nature*; 450(7169):503-508.
- Kulkarni G.K. 2007. Vanadium pentoxide inhalation. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*. Volume 11, Issue 3:97-102.
- Li C., Brake W.G., Russell D., Dunlop J.C., Gordon M., Buzescu R., Magarinos A.M., Allen P.B., Greengard P., Luine V., McEwen B.S. 2003. Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *PNAS*. 101(7): 2185-2190.
- Liao SL, Chen W.Y., Chen C.J. 2002. Estrogen attenuates tumor necrosis factor- $\alpha$  expression to provide ischemic neuroprotection in female rats. *Neuroscience Letters*. 333(2) 159-162.
- Lorenzl S., Sabine N., Barbara A., Hans W.K., Jason G., Mahmoud K., Hans-Walter P., Flint B. 2002. MMP-2, MMP-9 and MMP-1 and their conterregulators TIMP-1 and TIMP-2 in postmortem brain tissue of Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 166-171.
- Maggi A., Ciana P. Belcredito S. Vegeto E. 2003. Estrogens in the nervous system: Mechanisms and nonreproductive functions. *Annu. Rev. Physiol*. 2004. 66:291-313
- Martinez P.M. 2007. Efecto del pentóxido de vanadio en ovario y epitelio vaginal :modelo murino de exposición por inhalación. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Molina M.J. and Molina L.T. 2004. Megacities and atmospheric pollution. *Air and Waste Manage Association* 54:644-680.

- Morale M.C., Serra P.A., Episcopo F.L., Tirolo C., Caniglia S., Testa N., Gennuso F., Giaquinta G., Rocchitta G., Desole M.S., Miele E., Marchetti B. 2005. Estrogen, neuroinflammation and neuroprotection in Parkinson's disease: Glia dictates resistance versus vulnerability to neurodegeneration. *Neuroscience* 138(3): 869-878.
- Moreno M.M., Linster C., Escanilla O., Sacquet A., Mandalron N. 2009. Olfactory perceptual learning requires adult neurogenesis. *PNAS Direct Submission*.vol.106.no.42
- Mukherjee B., Patra B., Mahapatra S. Banerjee P., Tiwari A., Chatterjee M. 2004. Vanadium - an element of atypical biological significance. *Toxicology Letters*.150. 135-143.
- Mussali-Galante P., Rodriguez-Lara V., Avila-Costa M.R., Fortoul T.I. 2007.Mechanisms of Vanadium toxicity. Capitulo 2. En: *Vanadium: It's Impact on Health*. Editores: Fortoul TI & Avila-Costa MR.Ed. Nova Science Publishers Inc.New York. pp.7-19.
- Nadal A., Diaz M., Valverde M.A. 2001. The estrógeno trinity: membrane, cytosolic, and nuclear effects. *New in physiological sciences*. 16: 251-255.
- Nilsen J., Mor G., Naftolin F. 2000. Estrogen-Regulated Developmental Neuronal Apoptosis Is Determined by Estrogen Receptor Subtype and the Fas/Fas Ligand System. *Journal Neurobiology* 43(1): 64-78.
- Rodríguez-Mercado J.J. y Altamirano-Lozano M.G. 2006. Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 22 (4) 173-189.
- Rojas B.L., Garibay B.V. 2003. Las partículas suspendidas, aeropartículas o aerosoles: ¿hacen daño a la salud? ¿podemos hacer algo?.*Gaceta ecológica*.Numero 069. Instituto nacional de ecología. Pp. 29-44.mal citada
- Secretaria de salud, 2005. Disponible en: <http://www.sma.df.gob.mx/simat/proteccion/nom-025-ssa1-1993.pdf>.
- Segal M. 2005. Dendritic spines and long-term plasticity. *Nature reviews. Neuroscience*. Vol. 6:277-284
- SEMARNAT. 2002. Programa para mejorar la calidad del aire en la zona Metropolitana del Valle de Mexico 2002-2012. Disponible en: <http://www.sma.df.gob.mx/sma/download/archivos/gaa/06.pdf>.
- Shepherd G.M. 2003. *The Synaptic Organization of the Brain*. Ed. Oxford University Press, Inc. New York.

- Shughrue P.J., Lane M.V., Merchenthaler I. 1997. Comparative Distribution of Estrogen Receptor- $\alpha$  and - $\beta$  mRNA in the Rat Central Nervous System. *The journal of comparative neurology*. 388:507-525.
- Thomann P.A., Dos Santos V., Toro P., Schönknecht P., Essig M., Schröder J. 2007. Reduced olfactory bulb and tract volumen in early Alzheimer's disease-A MRI study. *Neurobiology of Aging*. 30(5): 838-841.
- Vallejo M., Jáuregui-Renaud K., Hermosillo A.G., Márquez M.F., Carcenas M. 2003. Efectos de la contaminación atmosférica en la salud y la importancia en la ciudad de México. *Instituto nacional de cardiología Ignacio Chávez*.139 (1).
- Valverde F. 2003. The olfactory bulb as a model for experimental studies. *Neurologia*; 18(4):177-186.
- World Health Organization (WHO) International Agency for Reserch on Cancer. 2003. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 86. Cobalt in h and metals and Cobalt Sulfate, Gallium Arsenide, Phosphide and Vanadium pentoxide. pp 227-278.
- Wesson D.W., Levy E., Nixon R.A., Wilson D.A. 2010. Olfactory dysfunction correlates with amyloid- $\beta$  Burden in an Alzheimer's disease mouse model. *The journal of Neuroscience*. 30(2): 505-514.
- Westervelt H.J., Carvalho J., Duff K. 2007. Presentation of Alzheimer's disease in patients whith and whithout olfactory deficits. *Archives of Clinical Neuropsychology* 22 (2007) 117–122.
- Yee K.K. and Costanzo M.R. 1995. Restoration of olfactory mediated behavior after olfactory bulb deafferentation. *Physiology & Behavior*, Vol. 58, No. 5, pp. 959-968.
- Yu S.P., Canzonier L.M., Choi D.W. 2001 Ion homeostasis and apoptosis. *Current Opinion in Cell Biology*. 13: 405-411.