



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Neuroprotección de la carnosina en la función  
y citología del bulbo olfatorio en un modelo  
murino expuesto a la inhalación de vanadio.  
Diferencia por sexo.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

**STEFANIE ABIGAIL RESÉNDIZ AVENDAÑO**

TUTORA

**DRA. LAURA COLÍN BARENQUE**

Ciudad Universitaria, México 2014





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.

## *Jurado*

### 1. Datos de alumno

Apellido paterno	Reséndiz
Apellido materno	Avendaño
Nombres	Stefanie Abigail
Teléfono	(044-55) 91-94-60-86
Universidad Nacional Autónoma de México	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias	Facultad de Ciencias
Carrera	Biología
Número de cuenta	305072975

### 2. Datos del tutor

Grado	Dra.
Nombre	Laura
Apellido paterno	Colín
Apellido materno	Barenque

### 3. Datos del sinodal 1

Grado	Dra.
Nombres	Teresa Imelda
Apellido paterno	Fortoul
Apellido materno	van der Goes

### 4. Datos del sinodal 2

Grado	Dr.
Nombres	Mario Agustín
Apellido paterno	Altamirano
Apellido materno	Lozano

### 5. Datos del sinodal 3

Grado	Dr.
Nombre	Paul
Apellido paterno	Carrillo
Apellido materno	Mora

### 6. Datos del sinodal 4

Grado	M. en C.
Nombres	Martha Patricia
Apellido paterno	Bizarro
Apellido materno	Nevares

### 7. Datos del trabajo escrito:

Título	Neuroprotección de la carnosina en la función y citología del bulbo olfatorio en un modelo murino expuesto a la inhalación de vanadio. Diferencia por sexo.
Número de páginas	71 páginas
Año	2014

*Dedicado a:*  
*La vida, por sus enseñanzas...*

## *Agradecimientos*

*Agradezco a aquellas personas que, de manera directa o indirecta, me apoyaron para la realización de este trabajo.*

*Un eterno y profundo agradecimiento para todos los ratoncitos que participaron en este proyecto, sin ustedes no hubiera sido posible su realización. ¡¡Un millón de gracias!!*

*Trabajo apoyado por el Proyecto 1N220211 y 220414.*

# *CONTENIDO*

## *ABREVIATURAS*

### *I. INTRODUCCIÓN*

- I.1 Contaminación atmosférica
  - I.1.1 Contaminación atmosférica en la Zona Metropolitana del Valle de México
  - I.1.2 Partículas suspendidas y sus efectos en la salud
    - I.1.2.1 Metales y sus efectos en la salud
- I.2 Vanadio
  - I.2.1 Fuentes de exposición al vanadio
  - I.2.2 Toxicocinética del vanadio
  - I.2.3 Estados de oxidación y sus compuestos derivados
  - I.2.4 Estrés oxidante inducido por vanadio
- I.3 Efectos del vanadio en el organismo (Toxicodinamia)
  - I.3.1 Efectos del vanadio en el sistema nervioso central
    - I.3.1.1 Efectos del vanadio en el sistema olfatorio
      - I.3.1.2 Bulbo olfatorio
        - 1.3.1.2.a Espinas dendríticas
      - I.3.1.3 Anosmia y enfermedades neurodegenerativas
- I.4 Antioxidantes
  - I.4.1 Estrógenos
    - I.4.1.1 Estrógenos en el SNC
  - I.4.2 Carnosina
    - I.4.2.1 Carnosina en el SNC

### *II. JUSTIFICACIÓN*

### *III. HIPÓTESIS*

### *IV. OBJETIVOS*

- IV.1 Objetivo general
- IV.2 Objetivo particular

### *V. MÉTODO*

- V.1 Características del sistema de estudio
- V.2 Tratamientos
- V.3 Prueba de percepción olfatoria
- V.4 Sacrificio y perfusión
- V.5 Análisis citológico

## **VI. *RESULTADOS***

VI.1 Prueba de la función olfatoria

VI.2 Análisis citológico

## **VII. *DISCUSIÓN***

## **VIII. *CONCLUSIÓN***

## **IX. *REFERENCIAS***

## ABREVIATURAS

$\mu\text{m}$	micrómetro
<b>A<math>\beta</math></b>	péptido $\beta$ -amiloide
<b>ADN</b>	ácido desoxirribonucleico
<b>BO</b>	bulbo olfatorio
<b>CAT</b>	catalasa
<b>CG</b>	células de la granulosa
<b>CM</b>	células mitrales
<b>CO</b>	monóxido de carbono
<b>COT</b>	compuestos orgánicos totales
<b>COV</b>	compuestos orgánico volátiles
<b>CP</b>	células en penacho
<b>E<sub>1</sub></b>	estrone
<b>E<sub>2</sub></b>	estradiol
<b>E<sub>3</sub></b>	estriol
<b>ecSOD</b>	superóxido dismutasa extracelular
<b>EO</b>	epitelio olfatorio
<b>ER</b>	receptores de estrógenos
<b>ERO</b>	especies reactivas de oxígeno
<b>GPX</b>	glutación peroxidasa
<b>H<sub>2</sub>O</b>	agua
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	peróxido de hidrógeno
<b>(HO<math>\cdot</math>)<sub>2</sub></b>	forma protonada del radical superóxido
<b>H<sub>2</sub>VO<sub>4</sub><sup>-</sup></b>	forma aniónica vanadato
<b>IARC</b>	Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer o International Agency for Research in Cancer
<b>IL-6</b>	interleucina-6
<b>IL-8</b>	interleucina-8
<b>kg</b>	kilogramos
<b>MAPK</b>	proteína cinasa activada por mitógeno
<b>MDA</b>	malondialdehido
<b>mg</b>	miligramos
<b>MMP-2</b>	metaloproteinasas de matriz dos
<b>MMP-9</b>	metaloproteinasas de matriz nueve
<b>MnSOD</b>	manganeso superóxido dismutasa
<b>msnm</b>	metros sobre el nivel del mar
<b>NADPH</b>	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
<b>NaVO<sub>3</sub></b>	metavanadato de sodio
<b>NH<sub>3</sub></b>	amoníaco
<b>NOS</b>	especies reactivas de nitrógeno
<b>NO<sub>x</sub></b>	óxidos de nitrógeno
<b>O<sub>2</sub></b>	oxígeno
<b>(O<math>\cdot</math>)<sub>2</sub></b>	radical superóxido

<b>OH</b>	radical hidroxilo
<b>PG</b>	células periglomerulares
<b>PM</b>	partículas suspendidas o material particulado
<b>PM1</b>	partículas suspendidas menores a un micrómetro o fracción ultrafina
<b>PM 2.5</b>	partículas suspendidas menores a dos punto cinco micrómetros o fracción fina
<b>PM 2.5-10</b>	fracción gruesa
<b>PM10</b>	partículas suspendidas menores a diez micrómetros o fracción inhalable
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	ion fosfato
<b>PST</b>	partículas totales suspendidas
<b>RL</b>	radicales libres
<b>s</b>	segundos
<b>SNC</b>	sistema nervioso central
<b>SO<sub>2</sub></b>	dióxido de azufre
<b>SOD</b>	superóxido dismutasa
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	factor de necrosis tumoral $\alpha$
<b>TRM</b>	tallo rostral migratorio
<b>V</b>	vanadio
<b>V<sup>IV</sup></b>	vanadil
<b>V<sup>V</sup></b>	vanadato
<b>VACC</b>	canales de calcio activados por voltaje
<b>[V(IV) – OO<sup>·</sup>]</b>	peroxovanadilo
<b>[V(IV) – OH<sup>·</sup>]</b>	hidroperóxido de vanadilo
<b>VO<sup>2+</sup></b>	iones vanadil
<b>VO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	ion vanadio
<b>V<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	pentóxido de vanadio
<b>ZMVM</b>	Zona Metropolitana del Valle de México
<b>ZSV</b>	zona subventricular

## *RESUMEN*

Actualmente con el desarrollo de la tecnología, el crecimiento urbano, el uso indiscriminado de combustibles fósiles y algunas de las características geográficas y climáticas de la Zona Metropolitana del Valle de México, se ha favorecido la emisión y acumulación de contaminantes atmosféricos. Dentro de estos contaminantes se encuentran las partículas suspendidas a las cuales pueden ir adosados metales, como el vanadio (V). Debido a sus numerosos estados de oxidación, el V puede formar un gran número de compuestos entre los que se encuentra el pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ ). Uno de los efectos adversos que provoca el V, es que promueve la formación endógena de especies reactivas de oxígeno (ERO) y, por consiguiente, produce estrés oxidante. Una manera de inhibir o retrasar la tasa de oxidación provocada por las ERO, es a través de los antioxidantes. La carnosina ( $\beta$ -alanina-L-histidina) es un agente antioxidante natural que está presente en mayor concentración en el músculo esquelético, bulbo y epitelio olfatorios de diversos vertebrados. Además de ser un antioxidante, también se ha considerado que es un agente quelante, atrapador de radicales libres (RL), neutraliza los daños de proteínas glicosiladas y de aldehídos producto de la peroxidación lipídica y además, es un neuromodulador.

En estudios previos se ha observado que la inhalación de V, en un modelo murino, provoca disminución de la densidad espinosa en células granulosas del bulbo olfatorio (BO). Tomando en cuenta que el BO es una de las primeras estructuras en verse alterada en diversas enfermedades neurodegenerativas, posiblemente por efectos del estrés oxidante, fue importante evaluar si la carnosina reduce la alteración de la función olfatoria y la pérdida de la densidad espinosa de las células granulosas del BO de ratones hembras y machos expuestos a  $V_2O_5$  a través de la vía inhalada. Se utilizaron ratones hembras y machos de la cepa CD-1 en cuatro grupos: 1) control, se les expuso a solución salina, durante una hora, dos veces por semana, durante cuatro semanas; 2) expuestos a  $V_2O_5$  (0.02M) bajo las mismas condiciones que los ratones control; 3) grupo control positivo, se les administró vía oral 1mg/kg/día de carnosina durante cuatro semanas y 4) expuestos a  $V_2O_5$  (0.02M) con administración de carnosina (1mg/kg/día), bajo las mismas condiciones que los grupos anteriores. A todos los grupos se les evaluó la función olfatoria una semana antes de iniciar el tratamiento correspondiente (inicial), a las dos semanas y a las cuatro semanas de tratamiento; por medio de la prueba de percepción olfatoria, usando como odorante chocolate, realizada por Yan y Crawley (2009) y al concluir las cuatro semanas de tratamiento los ratones se sacrificaron y perfundieron vía aorta; posteriormente, se extrajeron los cerebros y se procesaron con la técnica rápida de Golgi. El análisis citológico consistió en contar las espinas de dendritas secundarias, en 20  $\mu$ m, de 25 células granulosas del bulbo olfatorio. Los resultados obtenidos en la prueba de percepción olfatoria fueron analizados por medio de la prueba de *U* de Mann-Whitney ( $P < 0.05$ ) por no ser paramétricos y a los del análisis citológico se les realizó una prueba de ANOVA ( $P < 0.05$ ).

Los resultados obtenidos en la prueba de percepción olfatoria mostraron que a las cuatro semanas ambos grupos expuestos a  $V_2O_5$  (hembras y machos) tardaron

significativamente más tiempo en encontrar el chocolate en comparación con los grupos control (hembras y machos) correspondientes y que los grupos de ratones macho expuesto a  $V_2O_5$  inicial y expuesto a  $V_2O_5$  durante cuatro semanas realizaron un tiempo significativamente menor con respecto a los tiempos realizados por los grupos de hembras expuesto a  $V_2O_5$  inicial y expuesto a  $V_2O_5$  durante cuatro semanas, respectivamente. El grupo de machos expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina tardó significativamente más tiempo en encontrar el chocolate en comparación con el grupo control de machos, a las cuatro semanas de tratamiento; en cambio, el grupo de hembras expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina durante cuatro semanas no realizó un tiempo significativamente diferente con respecto al grupo control de hembras. A las cuatro semanas de tratamiento, los dos grupos con administración de carnosina (hembras y machos) no presentaron diferencia significativa con respecto a los grupos control correspondientes.

En el análisis citológico se observó que los grupos de hembras y machos expuestos a  $V_2O_5$  presentaron disminución significativa de la densidad espinosa de las células granulosas del BO en comparación con los grupos control (hembras y machos) respectivamente, asimismo la densidad espinosa de las hembras expuestas fue significativamente mayor en comparación con la de los machos expuestos. En cambio, los grupos expuestos a  $V_2O_5$  pero tratados con carnosina (hembras y machos) presentaron una densidad espinosa significativamente mayor en comparación con los grupos expuesto a  $V_2O_5$ ; sin embargo, esta densidad fue significativamente menor en comparación con los grupo control; además, la densidad espinosa de las hembras expuestas a  $V_2O_5$  y tratadas con carnosina fue significativamente mayor en comparación con los machos expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina. Los grupos tratados únicamente con carnosina (hembras y machos) no presentaron diferencias significativas comparadas con los grupos control.

Con base en los resultados se puede decir que la carnosina es un agente neuroprotector de las células granulosas del BO de ratones hembras y machos, ya que logró reducir la pérdida de espinas dendríticas de estas células, provocada por la inhalación de  $V_2O_5$ . Sin embargo, la carnosina no evita en su totalidad los efectos del vanadio que provocan dicha pérdida. Además se demostró que la administración de carnosina a ratones hembra, disminuye la alteración de la función olfatoria provocada por la inhalación de  $V_2O_5$ , pero no evita la alteración de esta función en ratones machos expuestos a este compuesto.

# I. INTRODUCCIÓN

## I.1 Contaminación Atmosférica

A lo largo de su existencia, el ser humano ha propiciado el deterioro del ambiente por la contaminación atmosférica (Vallejo *et al.*, 2002). La contaminación atmosférica es la presencia de sustancias en el aire, en cantidades que pueden ser perjudiciales para la vida, afectan estructuras y materiales de edificios, esculturas y monumentos, entre otros y ocasionan cambios en las condiciones meteorológicas o climáticas (Cooper y Alley, 1986; Elsom, 1987; Uruchurtu, 1997; Alonso *et al.*, 2006).

Los contaminantes del aire se han clasificado como contaminantes no criterio y contaminantes criterio, estos últimos se han identificado como perjudiciales para la salud y el bienestar de los seres humanos (INECC, 2013). La exposición a los contaminantes atmosféricos, en especial a las partículas suspendidas, han generado una creciente preocupación, ya que estudios durante la última década muestran una clara asociación entre la exposición de la población y el aumento en indicadores de morbilidad y mortalidad (Tzintzun *et al.*, 2005). Además, no se ha identificado la concentración mínima de los contaminantes atmosféricos por debajo de la cual no se detecten impactos a la salud (Tzintzun *et al.*, 2005).

### I.1.1 Contaminación atmosférica en la Zona Metropolitana del Valle de México

Actualmente las grandes zonas metropolitanas de México, como son el Valle de México, Guadalajara y Monterrey, presentan problemas de contaminación atmosférica, producto de las emisiones vehiculares, industriales, domésticas y naturales (Tzintzun *et al.*, 2005). Aunado a esto, algunas de las características geográficas y climáticas de la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), son consideradas como uno de los principales factores que condicionan la acumulación de contaminantes atmosféricos (Armenta *et al.*, 2010).

Entre las características de la ZMVM que favorecen la acumulación de contaminantes se encuentran que: a) Al ser una cuenca hidrológica, situada a 2,240 msnm y rodeada por montañas, la concentración de oxígeno se ve disminuida (-23%) con respecto al nivel del mar, lo que reduce la eficiencia de los motores de combustión interna y aumenta la emisión de hidrocarburos (SEMARNAP, 1996); b) La dirección de los vientos predominantes de noreste a suroeste hace que la mayor concentración de contaminantes atmosféricos esté en la zona sur de la ciudad, donde la Sierra del Ajusco, al ser la sierra más alta de la zona, obstaculiza su dispersión (Ponciano-Rodríguez y Rivero-Serrano, 1996; Onursal y Gautam, 1997); c) La presencia de inversiones térmicas provoca la acumulación temporal de los contaminantes conocida como “capa de smog” de color ocre, debido a la

presencia de óxidos de nitrógeno y partículas suspendidas, la cual únicamente se rompe cuando el sol iguala las temperaturas entre la capa de smog y la capa caliente que se encuentra por encima y d) Por su posición continental entre dos océanos, son frecuentes los sistemas anticiclónicos que generan grandes masas de aire inmóvil, que a su vez provocan un aumento resultante en la concentración de los contaminantes (Lara *et al.*, 2005).

### **I.1.2 Partículas suspendidas y sus efectos en la salud**

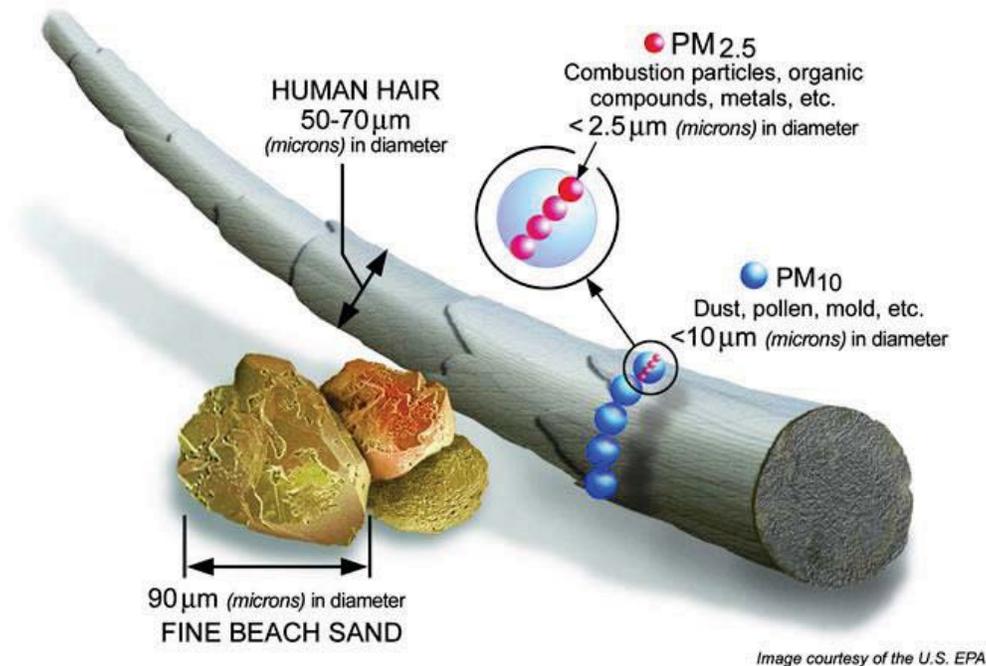
En la ZMVM los principales contaminantes criterio emitidos al ambiente son dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), compuestos orgánicos totales (COT), compuestos orgánicos volátiles (COV), amoníaco (NH<sub>3</sub>) y partículas suspendidas menores a diez y dos punto cinco micrómetros (µm; PM10 y PM2.5 respectivamente) (Hernández *et al.*, 2010).

Las partículas suspendidas, también conocidas como partículas, aeropartículas, material particulado o aerosoles, son una mezcla constituida por materiales líquidos y sólidos de diversos tamaños que se encuentran suspendidos en el aire y son producto de una gran cantidad de procesos naturales y antropogénicos (Tzintzun *et al.*, 2005; Fortoul y Rojas-Lemus, 2007; INE, 2011). Por su origen, las partículas suspendidas se clasifican en primarias y secundarias. Las primarias son aquellas que se emiten directamente a la atmósfera por diversas fuentes y las secundarias son aquellas que se forman en la atmósfera como resultado de reacciones químicas a partir de la transformación y/o mezcla de gases y/o partículas suspendidas (ECHE, 2000; EC, 2004; INE, 2011; Tzintzun *et al.*, 2005).

Las partículas suspendidas también se pueden clasificar por su tamaño con base en su diámetro aerodinámico (Fig. 1). Originalmente, el indicador de la calidad del aire referente a las partículas era sólo para las partículas suspendidas totales (PST) que comprenden un diámetro aerodinámico que va de 0.005 a 100 µm (EPA, 1996; Romieu y Borja-Aburto, 1997; INECC, 2013). Posteriormente se realizó otra clasificación de tamaño que considera a las partículas suspendidas que pueden ser inhaladas, dentro de ésta se encuentran las partículas que miden menos de 10 µm (PM10), o también conocidas como fracción inhalable o respirable, las cuales, dependiendo de sus propiedades, se depositan en diferentes sitios del árbol respiratorio (Lippmann, 1989).

Dentro de la fracción inhalable se encuentran la fracción gruesa o burda que incluye a las partículas con diámetros entre 2.5 a 10 µm (PM 2.5-10) y se sedimentan en vías respiratorias superiores; la fracción fina, compuesta por partículas menores a 2.5 µm (PM 2.5), conocidas también como fracción respirable, penetran hasta vías respiratorias inferiores; y las partículas ultrafinas comprenden a partículas menores a 1µm (PM 1) (INE, 2011; EPA, 2002; Lippmann, 1989; Rojas-Bracho y Garibay-Bravo, 2003), estas se depositan en los alveolos y pasan directamente al sistema circulatorio lo que les permite diseminarse gradualmente (Geiser *et al.*, 2005). Además, el transporte a través del epitelio

olfatorio y la acumulación en el cerebro también ha sido reportada para varios tipos de partículas ultrafinas (Geiser *et al.*, 2005).



**Figura 1.** Diferentes tamaños de las partículas suspendidas (EPA, 2013).

Las políticas en salud pública, en términos de estándares o niveles máximos permisibles de concentración de partículas ambientales, se ha enfocado en los últimos años en las partículas finas PM 2.5, ya que diversos estudios sugieren que tienen un efecto mayor en la salud humana debido principalmente a su composición, que puede ser más tóxica y se caracteriza por la presencia de sulfatos, nitratos, ácidos, metales y carbón negro (INE, 2011). Además, al ser una fracción respirable pueden llegar a los conductos más bajos de las vías respiratorias y provocar importantes afectaciones a la salud humana (INE, 2011). Y las partículas en este rango de tamaño permanecen durante periodos más largos suspendidas en la atmósfera, viajando largas distancias, por lo que la población puede estar expuesta durante periodos más prolongados (INE, 2011).

### **I.1.2.1 Metales y sus efectos en la salud**

Las partículas suspendidas se encuentran conformadas, por lo general, por un núcleo de carbón al cual se adhieren principalmente compuestos orgánicos, material biológico, iones, gases reactivos o metales (EPA, 1999). En ZMVM en el año 2010 se generaron más de

190 mil toneladas de contaminantes tóxicos de las cuales el 1% son metales contenidos en las partículas suspendidas y se estimó que poco más de 260 mil kg anuales de metales tóxicos provienen de procesos del sector industrial y sobretodo de la quema de combustibles fósiles (Camacho *et al.*, 2012).

Se considera que la contaminación por metales puede derivar en diversos efectos a la salud y al ambiente, dependiendo del elemento en particular (INECC, 2012). Con relación a la contaminación por metales unidos a las partículas suspendidas se ha observado una serie de efectos, tales como: taquicardias, incremento de la presión sanguínea y anemia debido al efecto inhibitorio de la hematopoyesis, además de un incremento en los niveles de triglicéridos, neurotoxicidad, daños al riñón (Krewski y Rainham, 2007), inflamación de tejidos, daños celular, pueden ser genotóxicos y carcinogénicos (Leonard *et al.*, 2004).

## **I.2 Vanadio**

El vanadio (V) es un metal adosado a las PM<sub>2.5</sub> que se derivan principalmente por la quema de combustibles fósiles (Ryan, 2013). El V es un metal de transición, dúctil, de color gris-plata (Mukherjee *et al.* 2004; Chatterjee *et al.*, 2013) y es el elemento número 23 de la tabla periódica (Chatterjee *et al.*, 2013). Está ampliamente distribuido a lo largo del planeta (Chatterjee *et al.*, 2013), ocupa el lugar 22 entre los elementos más abundantes en la corteza terrestre, con una presencia de 0.014 a 0.02 % (Lagerkvist *et al.*, 1986) y es el quinto metal de transición más abundante en la corteza terrestre, que se encuentra en minerales, carbones y depósitos de petróleo (Emsley, 1991).

La mayoría de los seres vivos contienen V (Chatterjee *et al.*, 2013). Algunos organismos en los que el V juega un papel importante son: bacterias (*Azotobacter*, *Anabaena*, *Rhodospseudomonas* y *Methanosarcina*), algas, hongos (*Amanita muscaria*, *A. regalis* y *A. velatipes*), plantas superiores, ascidias (*Ascidia gemmata*, *Perkinsiana littoralis*, *Phallusia mammillata* y *Pseudopotamilla ocellata*) tunicados, holotúridos (Antipov, 2013; Mukherjee *et al.*, 2013), ratas y pollos (Mwakikunga, 2013).

### **I.2.1 Fuentes de exposición al vanadio**

Como se mencionó anteriormente, la principal fuente de exposición a V para los seres humanos es la contaminación atmosférica producida por la quema de combustibles fósiles (carbón, aceites pesados y petróleo), ya que cerca de 110,000 toneladas de V es liberado al año a la atmósfera por dicho proceso (Mukherjee *et al.*, 2013) y las cenizas de la combustión del petróleo contienen más de un 80% de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Wenning, 1988; IPCS, 2001; García, 2006). La concentración de V en los petróleos crudos varía dependiendo de su origen. Los petróleos de América son los que contienen más V, siendo los principales los provenientes de Venezuela, el maya de México y el de Canadá (IPCS, 1988; Crans *et al.*, 1998).

Las fuentes naturales de exposición al V son la erosión del suelo, emisiones volcánicas, incendios forestales, la brisa marina y proceso biogénicos (IPCS, 2001; Fortoul y Rojas-Lemus, 2007). También se encuentra en diversos alimentos como son: hongos, mariscos, semillas de eneldo, perejil, pimienta negra, arroz, avena, habas, rábanos, cebada, trigo, lechuga, chicharos, papas, carne, setas, soya, aceitunas, grasas y aceites vegetales insaturados, manzanas, huevo, edulcorantes y bebidas como la cerveza y el vino (Mukherjee *et al.*, 2004; Antipov, 2013; Mukherjee *et al.*, 2013).

Además, este elemento es utilizado en la industria metalúrgica, en la fabricación de vidrios, plásticos, ácido sulfúrico, cauchos, pinturas y colorantes para fotografía y cinematografía; también se utiliza en fungicidas, insecticidas y fertilizantes (Lagerkvist *et al.*, 1986; Carson *et al.*, 1987; Alessio *et al.*, 1988; IPCS, 1988, 2001).

## **1.2.2 Toxicocinética del vanadio**

El V ingresa al organismo de los mamíferos a través de la piel, el tracto gastrointestinal y el sistema respiratorio (Hansen *et al.*, 1982; Bracken *et al.*, 1985; Barceloux, 1999). Otra posible vía por la que el V podría ingresar al organismo directamente hacia el cerebro es a través del transporte transneuronal, el cual consiste en que diversos materiales y sustancias que penetran en la cavidad nasal sean transportados desde la mucosa olfatoria hacia el bulbo olfatorio (Weiss y Buchner, 1988; Baker, 1995;).

Cooper (2007) considera que la principal vía por la que ingresa el V es la vía aérea e ingresar en menor proporción a través de la ingesta y la exposición dérmica. Debido a que el V se encuentra adosado a partículas cuyo tamaño aerodinámico es igual o menor a 2.5  $\mu\text{m}$ , al ser inhaladas, el V puede entrar fácilmente a las vías respiratorias bajas (RILLC, 1997) donde difunde hacia el flujo sanguíneo, debido a que la distancia de difusión es muy pequeña y la irrigación sanguínea es muy alta (Antonio *et al.*, 2011).

Una vez que el V alcanza el flujo sanguíneo, puede encontrarse en estados de oxidación III, IV y V. El V<sup>V</sup> es reducido a V<sup>IV</sup> por medio de agentes reductores tales como la glutatión, NADH, ácido ascórbico, L-cisteína, catecolaminas y otras sustancias reductoras del plasma (Rehder, 2003; Valko *et al.*, 2005). La albumina sérica y la transferrina son las proteínas que contienen hierro a las que se les unen el V en el plasma sanguíneo (Mukherjee *et al.*, 2004; Pessoa y Tomaz, 2010). En condiciones fisiológicas el V<sup>V</sup> predomina como anión vanadato ( $\text{H}_2\text{VO}_4^-$ ) y V<sup>IV</sup> como catión vanadilo ( $\text{VO}^{2+}$ ) (Crans *et al.*, 2004), el primero es transportado a través del torrente sanguíneo hacia otros tejidos por medio de la transferrina y el segundo es transportado por la albúmina y la transferrina (Fantus *et al.*, 1995; Mukherjee *et al.*, 2004).

Los órganos y tejidos a los que llega y se acumula el V son el hígado, riñón, bazo, huesos y en menor medida en los pulmones y testículos. (Hansen *et al.*, 1982; Bracken *et al.*, 1985; Barceloux, 1999). También se ha detectado en cerebro, corazón, tiroides, músculo esquelético, médula ósea y tejido graso, entre otros (Sharma *et al.*, 1987; Alessio *et al.*, 1988, Elinder *et al.*, 1988, French y Jones, 1993). Dentro de los tejidos, los cationes

vanadilo ( $V^{IV}$ ) probablemente se vuelven a convertir en aniones vanadato ( $V^V$ ) por medio del sistema de oxidación NADPH en presencia de oxígeno. Por lo tanto, los agentes reductores endógenos y el oxígeno disuelto regulan el vanadilo y las concentraciones de vanadato en el suero, tejidos, y células (Mukherjee *et al.*, 2013).

La manera en que el V ingresa a la célula se da en dos etapas, en la inicial el  $V^V$  cruza la membrana celular a través del transporte por canales aniónicos, mientras que en la segunda etapa el cruce es más lento e involucra el V reducido ( $V^{IV}$ ) y un mecanismo de paso semejante al de los cationes divalentes (Heinz *et al.*, 1982). En el interior de la célula el  $V^V$  puede ser nuevamente reducido a  $V^{IV}$  por agentes reductores biológicos, como son el glutatión intracelular, ácido ascórbico y otros sustratos donde permanece unido (Yang *et al.*, 2004).

El V absorbido es rápidamente desechado principalmente por los riñones a través de la orina o a través de la bilis en las heces. La cinética de eliminación por la orina sigue un comportamiento bifásico, en las 20 primeras horas se excreta la mayor cantidad de V y de 40 a 50 días se desecha el resto del metal (Elinder *et al.*, 1988; Mukherjee *et al.*, 2004; Fortoul y Rojas-Lemus, 2007).

### **1.2.3 Estados de oxidación y sus compuestos derivados**

La absorción del V depende de sus diferentes estados de oxidación (Mukherjee *et al.*, 2013). Este elemento presenta diversos estados  $1^+$ ,  $2^+$ ,  $3^+$ ,  $4^+$  y  $5^+$ , siendo los más comunes los tres últimos (Valko *et al.*, 2005; Ryan, 2013). Debido a sus diversas valencias y a que tiende a ser un elemento propenso a oxidarse (Mukherjee *et al.*, 2013), el V puede formar un gran número de compuestos (OMS, 1995). Se conocen alrededor de 65 compuestos de este metal en la naturaleza (Mukherjee *et al.*, 2013; Mwakikunga, 2013). Los óxidos de V suelen ser más tóxicos que las sales de V y los compuestos de  $V^{5+}$  suelen ser más tóxicos que aquellos con  $V^{4+}$  (Valko *et al.*, 2005).

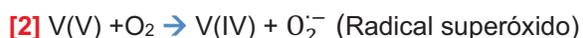
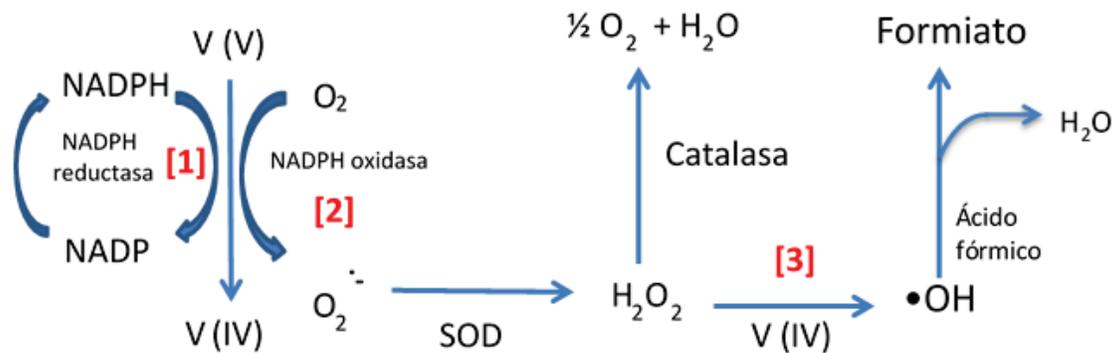
Los efectos de los compuestos de V en la salud pueden ser perjudiciales dependiendo de su estado de valencia, solubilidad, vía de exposición, absorción y concentración del compuesto (Ryan, 2013). El pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ ) es uno de los compuestos más comunes del V, es la principal forma de este metal en las PM generadas por la ignición de combustibles fósiles (Ghio *et al.*, 2002; Cohen, 2004), es de color amarillo-rojizo (Baroch, 1983; Lagerkvist *et al.*, 1986) y representa un riesgo para la población cuando hay una sobreexposición aguda o crónica (García, 2006). Este compuesto promueve la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO), debido a que en el último orbital tienen un electrón no apareado (radical libre) que le confiere inestabilidad física. (Byczkowski y Kulkarni, 1996).

#### 1.2.4 Estrés oxidante inducido por vanadio

Debido a sus múltiples estados de oxidación, uno de los efectos negativos del V es que promueve la formación endógena de radicales libres (RL) y de ERO (Mussali-Galante *et al.*, 2007). Los radicales libres son moléculas que contienen un electrón no apareado en su orbital más externo, por lo que son sumamente reactivos, pues su inestabilidad les confiere una avidez física por la captura de un electrón de cualquier molécula de sus entorno y en consecuencia, son capaces de dañar a otras moléculas a las que transforman, a sus vez, en moléculas muy reactivas (Dorado-Martínez *et al.*, 2003; Velázquez-Paniagua *et al.*, 2004). Las ERO son moléculas oxidantes, que en su composición contienen al menos una molécula de oxígeno y que son RL o suelen transformarse fácilmente en ellos (Dorado-Martínez *et al.*, 2003).

El V promueve la formación de RL y ERO intracelularmente por medio de reacciones tipo Fenton y/o durante la reducción intracelular de  $V^{V}$  a  $V^{IV}$ , por medio de agentes reductores, principalmente la NADPH (Shi y Dalai, 1993b; Capella *et al.*, 2002). Cuando el V ingresa a la célula en forma de vanadato ( $V^{V}$ ) es reducido ya sea de manera enzimática (por ejemplo por la NADPH) o no enzimática (por ejemplo ácido ascórbico) a vanadilo ( $V^{IV}$ ). Cuando el vanadato es reducido en presencia de oxígeno ( $O_2$ ) y el  $O_2$  recibe un electrón, se forma el radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ). El vanadato cuando es reducido a vanadilo en presencia de  $O_2^{\cdot-}$  puede formar el radical peroxovanadilo [ $V(IV) - OO^{\cdot}$ ] o el hidroperóxido de vanadilo [ $V(IV) - OH^{\cdot}$ ]. Al ser reducido el radical superóxido en presencia de la superóxido dismutasa (SOD) éste se transforma en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), que a su vez puede ser transformado en agua ( $H_2O$ ) cuando recibe dos electrones a través de la catalasa, o el  $H_2O_2$  participa en la reacción de Fenton cuando el vanadilo es oxidado a vanadato y se genera el radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ) (Shi y Dalai, 1992; 1993a; Capella *et al.*, 2002; Mussali-Galante *et al.*, 2007; Astiz, 2009) (Fig. 2).

Los RL y las ERO pueden ocasionar daño a los organismos por diversos procesos (Astiz, 2009). El radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) puede interferir con enzimas del sistema de defensa antioxidante tales como la catalasa y la glutatión reductasa (Tabatabaie y Floyd, 1994; Franceschutti *et al.*, 1996) y aunque no resulta ser muy reactivo, en su forma protonada ( $HO_2^{\cdot}$ ) es capaz de atravesar membranas y puede iniciar reacciones de peroxidación de ácidos grasos (Astiz, 2009). El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) es una ERO pero no es un RL, al ser muy soluble en agua, por su neutralidad eléctrica y pequeño tamaño, es capaz de atravesar las membranas celulares y puede promover la formación de radicales OH, a través de la reacción de Fenton, al estar en presencia de un metal (Astiz, 2009). El radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ) es capaz de reaccionar con carbohidratos, aminoácidos, fosfolípidos, bases púricas o pirimidínicas y ácidos orgánicos, entre otras (Buettner, 1993), lleva a cabo reacciones de peroxidación lipídica (Astiz, 2009) y puede inducir rompimientos de las cadenas de los ácidos nucleicos (Halliwell y Gutteridge, 1999). Se sugiere que la peroxidación lipídica es uno de los mecanismos de la toxicidad del V causando alteraciones en las vías de señalización del calcio ( $Ca^{2+}$ ) la cual conlleva a la muerte celular (Stohs y Ragchi, 1995; García *et al.*, 2005).



**Figura 2.** Representación esquemática de los posibles mecanismos del vanadato induciendo estrés oxidante (Modificado de Stohs y Ragchi, 1995; Mussali-Galante *et al.*, 2007).

Al haber un incremento en la generación de pro-oxidantes (RL y ERO, entre otros), un decremento de la protección de los antioxidantes debido a que el vanadio es capaz de disminuir la actividad de enzimas antioxidantes como son la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX) y/o al haber falla en la reparación del daño oxidante, se genera en los organismos estrés oxidante (Mussali-Galante *et al.*, 2007; Cui *et al.*, 2012; Farid *et al.*, 2012).

### I.3 Efectos del vanadio en el organismo (Toxicodinamia)

El V puede ser tóxico para el humano y para algunos animales, ya que puede afectar diversas funciones celulares (Altamirano-Lozano *et al.*, 1993) como el ciclo celular, rutas de señalización, proliferación y la sobrevivencia celular tanto *in vitro* como *in vivo* (SCF, 2004), tiene un efecto insulino-mimético, disminuye los niveles del colesterol y de las grasas en la sangre, juega un papel en la formación de huesos, dientes, eritrocitos y participa en la función de la tiroides (Williams, 2002; Pacheco-Calderón, 2006; Mukherjee *et al.*, 2013).

Aunado a lo anterior, el ion vanadio ( $VO_4^{3-}$ ) tiene una similitud estructural y electrónica con el ion fosfato ( $PO_4^{3-}$ ) (Mukherjee *et al.*, 2013), por lo que este elemento aparentemente interfiere con enzimas como: diferentes ATPasas, proteínas cinasas, ribonucleasas y fosfatasa. Además, las sales y iones de V posiblemente regulan diversos genes como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina-8 (IL-8), factor de

transcripción AP-1, ras, c-raf1, proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK) y p53, entre otros (Mukherjee *et al.*, 2013). Asimismo, tanto en el fluido intracelular y extracelular, los cationes y aniones de V normalmente se comportan como iones metálicos de transición y compiten con otros iones metálicos para combinarse con diferentes ligandos biológicos o compuestos, tales como nucleótidos, carbohidratos y fosfatos; para producir sus efectos biológicos (Mukherjee *et al.*, 2013).

El V aún no ha sido considerado en definitiva como un agente carcinogénico o anticarcinogénico, pues la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) clasifica al  $V_2O_5$  como un posible carcinógeno para los humanos (Grupo 2B; IARC, 2003). Sin embargo, existen otros estudios que demuestran su efecto anticarcinogénico, por ejemplo López-Valdez (2008) observó disminución en el tamaño y frecuencia de los adenomas pulmonares inducidos por uretano en ratones cuando éstos inhalaban  $V_2O_5$ .

Dentro de los síntomas reportados en humanos cuando hay una exposición a  $V_2O_5$  por la vía inhalada se encuentran: tos con flemas, irritación de nariz, garganta y ojos, rinitis, coloración verde en la lengua, aumento de células inflamatorias nasales (Barceloux, 1999) y se ha asociado a enfermedades respiratorias como bronquitis, fibrosis, asma, laringitis y faringitis después de exposiciones ambientales u ocupacionales (Ghio *et al.*, 2002; Cohen, 2004; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Además, una exposición aguda a V ocasiona irritación sensorial, fiebre, conjuntivitis, aumento del movimiento intestinal, dermatitis, vómito, diarrea, problemas respiratorios, temblores y daño renal (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Asimismo, se ha reportado que este metal produce fatiga, palpitaciones, malestar gastrointestinal, daño hepático, cardíaco y renal y desórdenes neurológicos como convulsiones, temblor y deterioro en reflejos condicionados (Baran, 1998, 2008; García, 2006).

En ratones expuestos a la inhalación de  $V_2O_5$  se han observado alteraciones en diversos órganos, estructuras y sistemas como: cambios morfológicos y aumento de interleucina-6 (IL-6) en el epitelio bronquiolar (Falcón-Rodríguez, 2008); necrosis de espermatogonias, espermatoцитos y células de Sertoli (Fortoul *et al.*, 2007); decremento en el porcentaje de gamma-tubulina en células testiculares (Mussali-Galante *et al.*, 2005); atrofia del epitelio vaginal, aumento de la atresia de folículos en estadios avanzados y disminución de la marca para el receptor de estrógenos- $\beta$  (Martínez-Pedraza, 2007); daño genotóxico en eritrocitos y leucocitos (Rojas-Lemus, 2006 y 2009) y en células de médula ósea (Pérez de Gante, 2008); disminución de la expresión del CD11c y MHCII (Ustarroz-Cano, 2012), cambios morfológicos y de la relación corteza-médula en el tímo (Piñón-Zárate, 2008); cambios en la morfología del bazo, alteraciones en los megacariocitos (Piñón-Zárate, 2005) y alteraciones en proteínas profibrogénicas y antifibrogénicas en megacariocitos del bazo (Martínez-Báez, 2011); alteraciones nucleares y cambios en los diferentes tipos de láminas nucleares de linfocitos de bazo (Rodríguez-Lara, 2008); anemia (Zapata-Alfaro, 2012) y alteración de la megacariopoyesis e inhibición de la agregación plaquetaria (González-Villalva, 2012).

### **I.3.1 Efectos del vanadio en el sistema nervioso central**

En el sistema nervioso central (SNC) también se presentan alteraciones morfológicas y fisiológicas resultado de la exposición a V. En humanos se observó que el nivel de V en el suero de pacientes con depresión es mayor que el de pacientes control (Conri *et al.*, 1986) y en personas expuestas a V se vieron trastornos en habilidades visuo-espaciales y en la atención (Barth *et al.*, 2002).

En ratas expuestas a metavanadato de sodio ( $\text{NaVO}_3$ ) Sasi y cols. (1994) observaron altos niveles de peroxidación lipídica con disminución de los niveles de lípidos y proteínas en diferentes áreas cerebrales. Sánchez y cols. (1998) demostraron que la administración de  $\text{NaVO}_3$  produce reducción en la actividad en general y en el aprendizaje en ratas. García y cols. (2004 y 2005) observaron en ratas a las que se les había inyectado  $\text{NaVO}_3$ , niveles elevados de lipoperoxidación en hipocampo y cerebelo, disminución de la mielina y alteraciones en el comportamiento. Además, utilizando marcadores histológicos de neurotoxicidad, vieron astrogliosis, expresión de proteínas del choque térmico (Hsp 70) y activación de las especies reactivas de nitrógeno (NOS) particularmente en cerebelo e hipocampo.

En un modelo murino por inhalación de  $\text{V}_2\text{O}_5$  (0.02M) se demostró que la concentración de V en el cerebro de ratón se estabiliza entre 0.10 y 0.15 mg/g de tejido de peso seco después de una semana de exposición a dicho metal y esta concentración se mantiene durante un periodo de cuatro semanas de exposición. Las alteraciones histológicas, fisiológicas y funcionales que se vieron en el SNC, después de cuatro semanas de exposición, fueron: pérdida de neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra y de espinas dendríticas de neuronas espinosas medianas del cuerpo estriado (Ávila-Costa *et al.*, 2004); pérdida de cilios, descamación celular, desprendimiento de la capa de células ependimales, desprendimiento de la membrana basal de las células del epéndimo y rompimiento de las uniones estrechas que se encuentran entre las células ependimales del cuarto ventrículo cerebral (Ávila-Costa *et al.*, 2005; Jiménez-Martínez, 2009); peroxidación lipídica en neuronas piramidales de la corteza cerebral y en el plexo coroideo (Jiménez-Martínez, 2009); disminución de la densidad espinosa de neuronas piramidales de la región CA1 y de las neuronas granulares del Giro dentado, muerte celular por necrosis, disminución de la neurogénesis de las neuronas granulares del Giro dentado y deterioro de la memoria espacial (Ávila-Costa *et al.*, 2006; Vega-Bautista, 2012); aumento de los niveles de metaloproteinasas de matriz nueve (MMP-9) en el bulbo olfatorio, corteza prefrontal, hipocampo, estriado y plexo coroideo y aumento de la metaloproteinasas de matriz dos (MMP-2) en la corteza prefrontal, hipocampo, estriado y plexo coroideo (Colín-Barenque *et al.*, 2008; Cortés-Torres, 2009).

### **I.3.1.1 Efectos del vanadio en el sistema olfatorio**

En el modelo murino, antes mencionado, se observaron alteraciones en el bulbo y epitelio olfatorios. En el epitelio olfatorio (EO), después de cuatro semanas de exposición, Arenas-Amaya (2012a) observó alteraciones morfológicas (picnosis, muerte celular y desorganización celular en el EO), vacuolización en las glándulas de Bowman y en las fibras nerviosas que proyectan hacia el bulbo olfatorio (BO), siendo estas alteraciones más evidentes en ratones machos que en hembras. En el BO, por periodos de exposición de una a 12 semanas, se observó decremento en el tamaño de los somas y en la densidad espinosa de células granulosas del BO de ratones macho (Aguirre *et al.*, 2002; Mondragón *et al.*, 2003). Colín-Barenque y cols. (2003) vieron, después de la segunda semana de exposición en ratones macho, que las células granulosas del BO presentaron invaginaciones nucleares, aparato de Golgi y retículo endoplásmico dilatados, gránulos de lipofucsina, mitocondrias electrodensas y muerte celular por necrosis. En el mismo modelo murino de exposición a  $V_2O_5$  después de cuatro semanas de exposición, Cervantes-Piza (2009) observó aumento de la MMP-2 y MMP-9 en la zonas glomerular y granulosa del BO de ratones macho; Jiménez-Martínez (2012) reportó disminución de la densidad celular en la capa glomerular y granulosa del BO en ratones macho y Moscoso-Caballero (2010) observó pérdida de espinas dendríticas de las células granulosas tanto en ratones hembras como en machos, sin embargo esta pérdida fue mayor en los machos en comparación con las hembras. La inhalación de  $V_2O_5$  pero a menor dosis (182  $\mu$ g) produce reducción de los niveles de la proteína tirosina hidroxilasa, de dopamina, de su precursor el ácido 3,4-dihidroxifenilacético y del peso de los bulbos olfatorios; así como incremento de astrocitos en la capa glomerular del BO (Afeseh *et al.*, 2014)

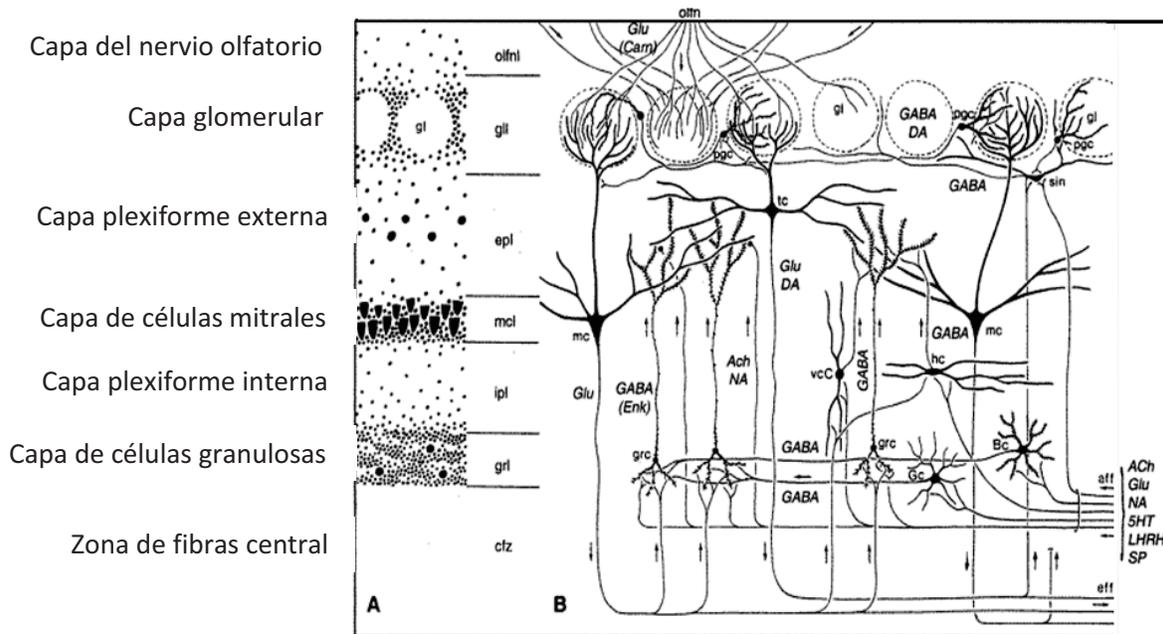
La función olfatoria de ratones también se ha visto afectada por la inhalación  $V_2O_5$ , después de cuatro semanas de exposición, se observó disminución de la discriminación y percepción olfatoria de ratones hembras y macho, sin embargo, tanto la disminución de la discriminación como de la percepción olfatoria fue más evidente en los machos en comparación con las hembras (Cervantes-Piza, 2009 Moscoso-Caballero, 2010, Jiménez-Martínez 2012). Además, se ha observado disminución de la capacidad de ratones machos para detectar feromonas de hembras gestantes y deficiencias en la locomoción (Afeseh *et al.*, 2014).

### **I.3.1.2 Bulbo olfatorio**

La olfacción es la percepción de olores que resulta de la detección de odorantes dispersos en el ambiente. Para muchos mamíferos el olfato es el medio principal para recibir información del medio que los rodea (Osuna y Rubiano, 2010).

El BO es una extensión del prosencéfalo especializado en procesar las señales moleculares que dan lugar al sentido del olfato. Este recibe impulsos olfatorios aferentes a través de las neuronas sensoriales olfativas y envía información eferente directamente a la corteza olfativa (Shepherd y Greer, 1998). El BO tiene una organización laminar que está

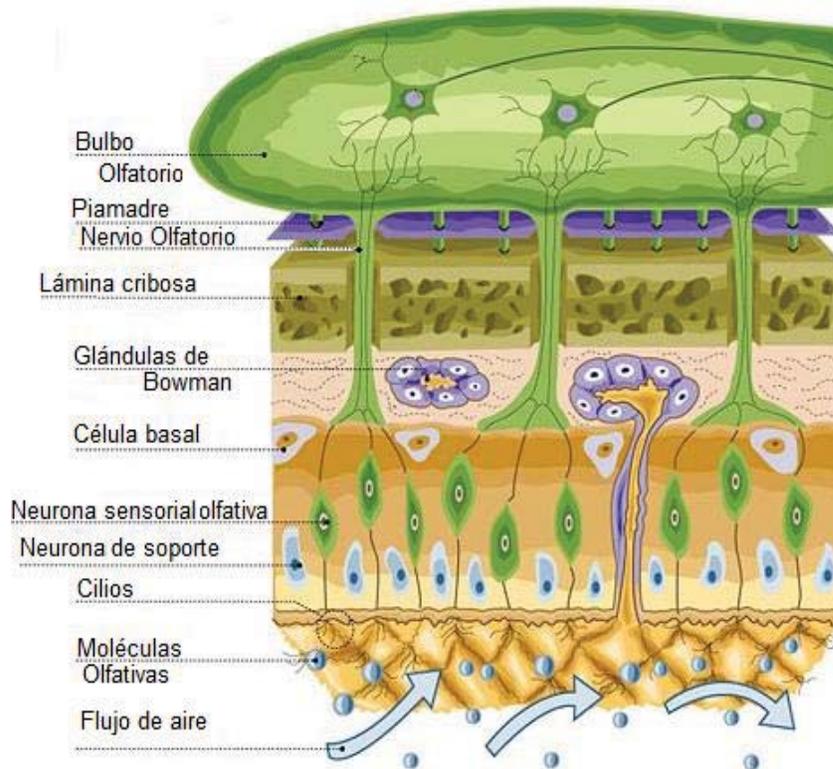
bien definida, de la superficie a la profundidad, estas capas son: capa del nervio olfatorio, capa glomerular, capa plexiforme externa, capa de células mitrales, capa plexiforme interna, capa de células granulosas y una zona central de fibras (Nieuwenhuys *et al.*, 2009; Lepousez *et al.*, 2013) (Fig. 3)



**Figura 3. A.** Citoarquitectura; **B.** neuronas y fibras observadas con la técnica de Golgi. *Ach*, acetilcolina; *aff*, aferentes centrifugos; *Bc*, células de Blanes; *Carn*, carnosina; *cfz*, zona de fibras central; *DA*, dopamina; *eff*, fibras eferentes, *epi*, capa plexiforme externa; *Gc*, célula de Golgi; *gl*, glomérulo; *gll*, capa glomerular; *Glu*, ácido glutámico; *gri*, células granulosas; *hc*, célula horizontal; *ipl*, capa plexiforme interna; *mc*, célula mitral; *mcl*, capa de células mitrales; *NA*, noradrenalina; *olfn*, nervio olfatorio; *olfnl*, capa del nervio olfatorio; *pgc*, células periglomerulares; *sin*, interneuona superficial; *SP*, sustancia P; *tc*, células en penacho; *vcC*, célula vertical de Cajal (Modificado de Nieuwenhuys *et al.*, 2009).

Los receptores responsables para la transducción de odorantes se encuentran en la mucosa olfatoria, que se localiza en la parte superior de la cavidad nasal recubierta por el EO. El EO presenta una capa de moco superficial y el epitelio está constituido por diferentes tipos de células: neuronas de soporte, células basales, neuronas inmaduras y neuronas sensoriales olfativas (Osuna y Rubiano, 2010). Las neuronas sensoriales olfativas son neuronas bipolares delgadas receptoras de odorantes, cada una de estas neuronas tiene una dendrita apical la cual se dirige al EO donde termina en forma de vesícula olfatoria de la cual se proyectan cilios que protruyen de la capa de moco. La información aferente captada por los receptores que se encuentran en los cilios es transmitida a través de los

axones amielínicos y basales de las neuronas sensoriales, los cuales se agrupan en pequeños haces o filamentos olfatorios, que atraviesan la lámina cribosa y forman la capa más externa del BO, denominada capa del nervio olfatorio (Shepherd y Greer, 1998; Osuna y Rubiano, 2010) (Fig. 4).



**Figura 4.** Mucosa olfatoria y su relación con el bulbo olfatorio (Modificado de Zonagratuita, 2013).

Los axones de la capa del nervio olfatorio se acomodan e inervan a los glomérulos, que en conjunto forman la segunda capa del bulbo olfatorio denominada capa glomerular (Nieuwenhuys *et al.*, 2009; Fig. 3). En los glomérulos, los axones de las neuronas sensoriales olfativas hacen sinapsis con tres tipos de neuronas olfatorias secundarias: células mitrales, en penacho y periglomerulares (Osuna y Rubiano, 2010; Fig. 3).

Las células periglomerulares (PG), son un tipo de interneuronas que rodean y dan soporte a los glomérulos. El cuerpo neuronal de las PG tiene un diámetro de 6-8  $\mu\text{m}$ , cada PG tienen una dendrita gruesa y corta, que arboriza dentro de los glomérulos y se entremezcla con los axones de las neuronas sensoriales olfativas y las dendritas de las células mitrales y en penacho (Shepherd y Greer, 1998). El axón de cada PG se distribuye lateralmente en la región extraglomerular y se extiende hasta cinco glomérulos de distancia (Pinching y Powell, 1971a, b; Fig. 3). La mayoría de estas interneuronas son GABAérgicas,

otras son dopaminérgicas y algunas de ellas son GABA- y dopaminérgicas (Nieuwenhuys *et al.*, 2009).

Seguida de la capa glomerular se encuentra la capa plexiforme externa, la cual está formada principalmente de dendritas primarias y secundarias de las células mitrales y en penacho que se dirigen hacia los glomérulos y que interactúan con las espinas dendríticas de las células de la granulosa (Lepousez *et al.*, 2013). Sin embargo, esta capa también contiene cuerpos de PG y de las células en penacho (Nieuwenhuys *et al.*, 2009; Fig. 3). Las células en penacho (CP) son células eferentes, que se localizan en una posición más superficial en comparación con las células mitrales. Estas utilizan ácido glutámico (o en su forma ionizada glutamato) como neurotransmisor en sus terminaciones axónicas y puntos de contacto dendrodendríticos, aunque algunas CP son dopaminérgicas (Nieuwenhuys *et al.*, 2009).

Posteriormente, sigue la capa de células mitrales, compuesta principalmente por los somas de las células mitrales (CM) (Nieuwenhuys *et al.*, 2009; Fig. 3). Las CM son células eferentes que transmiten la información del BO hacia la corteza olfatoria, sus somas miden de 15- 30  $\mu\text{m}$  de diámetro, presentan una dendrita apical que atraviesa la capa plexiforme externa y se dirige a los glomérulos y dendritas basales que se extienden de forma lateral en la capa plexiforme externa. Las dendritas de estas células no presentan espinas (Shepherd y Greer, 1998; Fig. 3). Los axones de las CM proyectan al interior del bulbo olfatorio, donde se juntan para formar el tracto lateral olfatorio, aunque hay algunos axones que terminan en la capa plexiforme externa, en la interna o en la capa de las granulosas. La eferencia de axones al tracto lateral olfatorio provee numerosas ramas que terminan en la primera capa de la corteza olfatoria (Shepherd y Greer, 1998). Las CM utilizan ácido glutámico (o en su forma ionizada glutamato) como neurotransmisor en sus terminaciones axónicas y puntos de contacto dendrodendríticos (Nieuwenhuys *et al.*, 2009).

Seguida de la capa de células mitrales se encuentra la capa plexiforme interna, formada por un plexo en el que participan las dendritas ascendentes de las células granulosa, los axones de las CM y CP y sus colaterales axonales, axones de fibras centrífugas de otras partes del encéfalo, cuerpos de algunas células granulosas (Fig. 3) y de otras interneuronas (Nieuwenhuys *et al.*, 2009).

A continuación sigue la capa de células granulosas que está conformada por varias zonas de células granulosas densamente agrupadas, separadas entre sí por haces de fibras nerviosas (Fig. 3) y otras interneuronas (Nieuwenhuys *et al.*, 2009). Las células granulosas (CG) son interneuronas, amácrinas, con un soma que mide de 6-8  $\mu\text{m}$  de diámetro y sus dendritas son notables por poseer numerosas espinas dendríticas (gémulas). Estas interneuronas liberan GABA en sus puntos de contacto dendrodendríticos con las CM y CP, por lo que estas sinapsis son inhibitorias, gracias a lo cual intervienen en la integración y modulación de la información de la función olfatoria (Shepherd y Greer, 1998; Nieuwenhuys *et al.*, 2009; Osuna y Rubiano, 2010; Lepousez *et al.*, 2013).

La última capa del BO se denomina zona central de fibras (Fig. 3), ocupada por eferentes y aferentes bulbares (Nieuwenhuys *et al.*, 2009).

### 1.3.1.2.a Espinas dendríticas

Las espinas dendríticas son protuberancias neuronales que se componen de una cabeza conectada a la dendrita por un delgado cuello, es un sitio donde se lleva la mayor comunicación excitatoria electroquímica entre neuronas e interneuronas vía sinapsis. En la mayoría de las regiones del cerebro, más del 90% de todas las sinapsis excitatorias se realizan en las espinas dendríticas (Nimchinsky *et al.*, 2002; Bourne y Harris, 2007).

Las espinas dendríticas presentan una amplia variedad de tamaños, formas (cortas, hongo y delgadas) y componentes subcelulares. Además, contienen receptores de neurotransmisores que se encuentran en la superficie de la espina donde se lleva la sinapsis y un sistema de señales esenciales para la función sináptica y la plasticidad (Nimchinsky *et al.*, 2002).

Dentro de los componentes subcelulares que contienen las espinas se encuentran el retículo endoplásmico liso, poliribosomas, mitocondrias (suelen presentarse sólo en espinas largas) y citoesqueleto (Bourne y Harris, 2007). El citoesqueleto de las espinas dendríticas carece de microtubulos, a excepción de las espinas largas, el cual se dispone en el citoplasma como una red flexible de filamentos formados por actina y por proteínas de unión a la actina. Los filamentos de actina están situados longitudinalmente en el cuello de la espina, mientras que en la cabeza están organizados en una red. Se piensa que los filamentos de actina proporcionan el andamiaje para soportar la forma de la espina y el mecanismo por el cual la forma de la espina puede ser alterada rápidamente por acción del calcio (Bourne y Harris, 2007).

Las espinas son estructuras dinámicas que sufren cambios morfológicos y en su densidad (ausencia/presencia), en un amplio rango de escalas espaciales y temporales y bajo diversas condiciones fisiológicas (Nimchinsky *et al.*, 2002), como son la sinaptogénesis durante el desarrollo, cambios en el comportamiento asociados con el aprendizaje y la memoria, condiciones patológicas asociadas con la disfunción neuronal, como enfermedades mentales y neurodegenerativas (Bourne y Harris, 2007) y la deaferentación (Nimchinsky *et al.*, 2002).

La pérdida de espinas debida a la deaferentación sugiere de alguna manera que éstas son mantenidas por los impulsos aferentes, por lo que la neurotransmisión glutamatérgica (aferencia), que presentan las espinas, actúa como una señal para mantenerlas y la interferencia con la actividad sináptica normal puede afectar la forma o densidad de las espinas. Sin embargo, la excitotoxicidad ocasionada por un exceso de glutamato puede dar lugar a la retracción de las espinas dendríticas (Bourne y Harris, 2007).

### I.3.1.3 Anosmia y enfermedades neurodegenerativas

La pérdida total de la capacidad olfativa se conoce como anosmia, pero si la pérdida no es completa y lo que ocurre es una disminución cuantitativa del umbral olfativo, a ésta se le conoce como hiposmia (Gatcum y Jacob, 2001; Chacón *et al.*, 2011). Algunas de las causas que pueden provocar estos trastornos son: gripa, rinitis, patologías inflamatorias de la mucosa nasal, tumores, lesiones a nivel del SNC, por herencia o por exposición a contaminantes atmosféricos (Gatcum y Jacob, 2001; Chacón *et al.*, 2011;  $\alpha$  *et al.*, 2001, 2004, 2010, 2013). Estas alteraciones pueden ser señal de la existencia de enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer (Gatcum y Jacob, 2001).

La alteración de la olfacción es una característica temprana de la enfermedad de Alzheimer (Luzzi *et al.*, 2007), ya que puede haber pérdida de la detección del odorante y/o de la discriminación de olores (Lafreniere y Mann, 2009), hay alteraciones del BO en etapas tempranas de la enfermedad (Kovács *et al.*, 2001; Thomann *et al.*, 2009) y en un modelo murino se observó acumulación de la proteína A- $\beta$ -amiloide en el BO antes de que se acumulara en otras partes del cerebro (Wesson *et al.*, 2010). En el caso de la enfermedad de Parkinson la pérdida de esta función es una característica significativa (Lafreniere y Mann, 2009) pues 96% de los pacientes que padecen esta enfermedad presentan dicha alteración (Haehner *et al.*, 2009), hay pérdida en el reconocimiento de los odorantes (Lafreniere y Mann, 2009) o se requiere una mayor concentración de éstos para que los pacientes puedan reconocerlos (Masaoka *et al.*, 2007), hay aumento de células dopaminérgicas y presencia de cuerpos de Lewis en el BO de pacientes que padecen esta enfermedad y pérdida de volumen de dicha estructura (Huisman *et al.*, 2004; Pearce *et al.*, 2004; Brodoehl *et al.*, 2012)

La enfermedad de Alzheimer es un proceso neurodegenerativo que se caracteriza por la pérdida progresiva de la memoria que concluye en demencia profunda, debido a la pérdida significativa de contactos sinápticos y células neuronales en el hipocampo, en el córtex entorrinal y en las áreas de asociación del neocórtex (Martínez y Moya, 2002; Mungarro-Menchaca, 2009). Los principales signos y síntomas que presentan los pacientes con Alzheimer son: pérdida de memoria, demencia, déficit en el lenguaje, déficit en la percepción visuoespacial, síndrome disejecutivo, apraxia, depresión, agitación, ansiedad, irritabilidad y apatía (Minati *et al.*, 2009).

La enfermedad de Parkinson es un desorden neurodegenerativo que se produce por la degeneración y pérdida de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra pars compacta que proyectan al núcleo caudado y putamen. Al disminuir el contenido de dopamina en los núcleos basales, resulta en una inhibición de las neuronas motoras corticales (Orozco, 2002; Dauer y Przedborski, 2003; Davie, 2008). La causa de esta muerte o deterioro celular se desconoce, sin embargo se consideran como posibles causas al estrés oxidante inducido por metales (como zinc, hierro y cobre), toxinas ambientales, predisposición genética, envejecimiento, agregación anormal de proteínas y disfunción mitocondrial. (Orozco, 2002; Dauer y Przedborski, 2003; Davie, 2008).

Los principales signos y síntomas que presenta la enfermedad de Parkinson son: temblor, rigidez muscular, bradicinesia (o hipocinesia, es la lentitud para realizar movimientos), disfunción olfatoria, dificultad para la deglución, cambios en el habla y la escritura, depresión, problemas urinarios, estreñimiento, problemas al dormir y demencia (Orozco, 2002; Dauer y Przedborski, 2003; Davie, 2008).

Una característica común de estas enfermedades es la presencia de estrés oxidante, el cual podría ser un factor de riesgo que genera la disfunción o muerte neuronal que contribuye a la patogénesis de las enfermedades (Barnham *et al.*, 2004). Existen evidencias que apoyan la presencia de estrés oxidante en estas enfermedades, por ejemplo en ambas se ha observado en cerebros, sobre todo en aquellas zonas susceptibles a la neurodegeneración (Barnham *et al.*, 2004), niveles elevados de hierro y zinc, los cuales, al generar ERO y especies reactivas de nitrógeno, pueden producir estrés oxidante (Barnham y Bush, 2008). Otra evidencia es que en tejidos cerebrales de pacientes con Alzheimer (Butterfield *et al.*, 2002; Selley *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2003) y Parkinson (Dexter *et al.*, 1989) se ha observado elevados niveles de 4-hidroxi-nonenal y HNE-pirrol, los cuales son productos secundarios de la peroxidación lipídica. Otros biomarcadores de peroxidación lipídica cuyos niveles son altos en Alzheimer son la acroleína, malondialdehído y F<sub>2</sub>-isoprostanos (Arlt *et al.*, 2002) y en Parkinson es el malondialdehído (Dexter *et al.*, 1989). También se ha comprobado que en Alzheimer hay hidroxilaciones en el DNA y carbonilación y nitración en proteínas; mientras que los mayores niveles de 8-hidroxi-guanina y 8-hidroxi-desoxiguanina (marcadores de oxidación de ácidos nucleicos) se observaron en cerebros de pacientes con Parkinson (Gabbita *et al.*, 1998; Alam *et al.*, 1997).

#### **I.4 Antioxidantes**

Una opción terapéutica para las enfermedades de Alzheimer y Parkinson con un gran potencial son los antioxidantes (Barnham *et al.*, 2004). Los antioxidantes son sustancias cuya acción consiste en inhibir o retrasar la tasa de oxidación provocada por los RL y las ERO (Elliot, 1999; Martínez *et al.*, 2000). Sus mecanismos de acción se pueden deber ya sea a que al interactuar con el RL, el antioxidante cede con facilidad un electrón, se oxida, se transforma en un radical débil no tóxico y neutraliza a los RL y ERO (Velázquez-Paniagua *et al.*, 2004), aumentan la velocidad de ruptura de RL y ERO, previenen la participación de iones metálicos de transición en la generación de RL y ERO y/o desactivan o secuestran RL y ERO (Martínez *et al.*, 2000).

Los antioxidantes se pueden clasificar en endógenos y exógenos (Velázquez-Paniagua *et al.*, 2004). Los exógenos son un grupo de vitaminas, minerales y fitoquímicos tomados de la dieta entre estos se encuentran las vitaminas A, C y E,  $\beta$ -carotenos, compuestos fenólicos, selenio, magnesio, zinc y la N-acetil cisteína, entre otros (Elliot, 1999; Martínez *et al.*, 2000; Guerra, 2001; Velázquez-Paniagua *et al.*, 2004). Los endógenos son producidos naturalmente por el propio sistema biológico, como son la SOD, CAT, GPX, glutatión reductasa, ácido úrico, bilirrubina, albúmina, melatonina, estrógenos y carnosina, entre otros. (Martínez *et al.*, 2000; Venereo, 2002; Velázquez-Paniagua *et al.*, 2004).

### **I.4.1 Estrógenos**

Los estrógenos son hormonas esteroideas que se producen principalmente en los ovarios, aunque también son sintetizados en las glándulas suprarrenales, en la placenta y en los testículos (Mendoza, 2008).

Los principales estrógenos endógenos en el humano son estradiol (E2), estrona (E1) y estriol (E3). Su biosíntesis se lleva a partir del colesterol, siguiendo la ruta metabólica del colesterol y teniendo como intermediario común a la pregnenolona, que después de algunas biotransformaciones conduce a androsteriodiona o testosterona que puede aromatizarse a E2 o E1 respectivamente (Mendoza, 2008). La acción de la 16- $\alpha$ hidroxilasa sobre estas dos últimas podrá generar E3 (Mendoza, 2008).

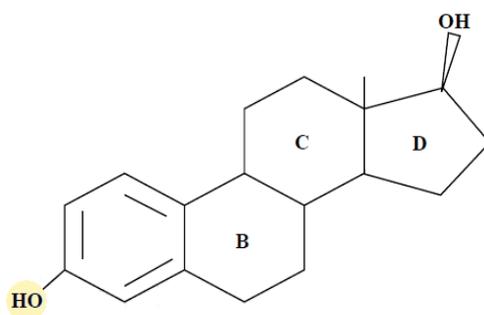
Las principales funciones de los estrógenos son la participación en el desarrollo y mantenimiento de las características sexuales secundarias de las hembras y control del ciclo menstrual-ovulatorio o estral. Además, modulan algunos procesos metabólicos de minerales, lípidos, carbohidratos y proteínas; favorecen la formación de tejido y promueven el balance positivo de sodio, calcio, potasio y nitrógeno. En los machos participan en la espermatogénesis (Mendoza, 2008).

Las acciones de los estrógenos incluyen diferentes efectos, tales como:

- Efectos genómicos. Asociados a receptores de estrógeno que accionan la síntesis de ciertas proteínas, regulan la transcripción de genes e inducen la transcripción de genes maestros como FOS y MYC que codifican para factores de transcripción que, a su vez, regulan a un amplio número de genes que pueden no tener elementos de respuesta a estrógenos en su región reguladora (Angoa y Rivas, 2006; Mendoza, 2008).
- Efecto no genómico. Involucran sistemas de segundos mensajeros, vías de proteínas cinasas y efectos antioxidantes independientes de receptores. Son efectos extremadamente rápidos sobre la excitabilidad de la membrana, la apertura de canales iónicos, la señalización de neurotransmisores con receptores acoplados a proteínas G y la activación de distintas cinasas como PKA, PKC y PI3K, entre otros (Angoa y Rivas, 2006; Mendoza, 2008).

Los receptores de estrógenos (ER) se dividen en nucleares y de membrana. Los primeros residen en el núcleo de las células blanco y estos a su vez se dividen en ER- $\alpha$  y ER- $\beta$  (Angoa y Rivas, 2006). Los segundos se encuentran en la membrana plasmática celular y en el citoplasma (Angoa y Rivas, 2006). Los ER intracelulares pueden encontrarse en neuronas y células gliales como astrocitos, oligodendrocitos y microglia (Angoa y Rivas, 2006).

Los estrógenos pueden funcionar como antioxidantes gracias a la presencia de un grupo OH en un anillo fenólico de la molécula esteroidea, el cual puede actuar como un atrapador de RL y, a la vez, permite donar un átomo de H<sup>+</sup> (Fig. 5) (Subbiah *et al.*, 1993; Wen *et al.*, 2000; Thibodeau *et al.*, 2002; Angoa y Rivas, 2006; Escalante-Gómez *et al.*, 2009). Estudios han evidenciado la capacidad antioxidante de los estrógenos al disminuir la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (Wen *et al.*, 2000), la peroxidación lipídica (Subbiah *et al.*, 1993) y la peroxidación de fosfolípidos de la membrana celular (Sugioka *et al.*, 1987). Ayres y cols. (1996) demostraron que el estradiol es igual de efectivo que la vitamina E en términos de peroxidación de ácido grasos y muchos más eficaz en términos de peroxidación del colesterol. Ciertos metabolitos derivados de los estrógenos, además de funcionar como atrapadores de RL, también reducen y mantienen reducidas las moléculas de hierro y cobre, lo que previene que estas moléculas actúen como oxidantes (Markides *et al.*, 1998; Escalante-Gómez *et al.*, 2009).



**Figura 5.** Estructura química del 17-estradiol. El grupo OH del anillo fenólico confiere la actividad antioxidante directa a la molécula. Modificado de Angoa y Rivas, 2006.

Los estrógenos también pueden modular procesos oxidativos y antioxidativos, ya que disminuyen la producción de RL y aumentan la expresión de enzimas antioxidantes (Strehlow *et al.*, 2003; Wassmann *et al.*, 2005). Se ha demostrado que el estradiol disminuye la producción de RL inducidos por la angiotensina II en cultivos celulares de músculo liso y que aumenta la transcripción, expresión y actividad de la manganeso superóxido dismutasa (MnSOD) y de la superóxido dismutasa extracelular (ecSOD) (Strehlow *et al.*, 2003; Wassmann *et al.*, 2005). Bellanti y cols. (2013) observaron, en mujeres sometidas a una ooforectomía total, que al disminuir los niveles de estrógenos había una reducción en la expresión de la SOD y de la GPX.

#### I.4.1.1 Estrógenos en el SNC

Los estrógenos también pueden funcionar como antioxidantes en el SNC. En células y tejidos del SNC se observó que la peroxidación lipídica inducida por hierro disminuía por acción de los estrógenos (Vedder *et al.*, 1999). El 17-β-estradiol y algunos derivados del

estradiol evitaron la acumulación de peróxido intracelular y la degradación de neuronas primarias y células de hipocampo (Behl *et al.*, 1997). En un modelo de rata con discapacidad olfatoria, la cual había sido provocada por el estrés oxidante generado por la administración de A- $\beta$ -amiloide, se observó que la administración de 17- $\beta$ -estradiol previno y mejoró la insuficiencia olfativa, disminuyó el estrés oxidante y la neurodegeneración (Bernal-Mondragón *et al.*, 2013). En un modelo de ratas expuestas a la inhalación crónica de ozono se observó que la administración de 17- $\beta$ -estradiol previene el deterioro de la percepción olfativa y de la memoria de reconocimiento social, así como la reducción de la actividad de receptores noradrenérgicos y de estrógenos (Guevara-Guzmán *et al.*, 2009).

Otras acciones que los estrógenos ejercen en diversas regiones del sistema nervioso son: influyen en la modulación de la excitabilidad neuronal (Kelly y Rønnekleiv, 2009), participan en la plasticidad sináptica ya que regula la sinaptogénesis (Bender *et al.*, 2010), regulan los procesos de apoptosis e inducen de la sobrevivencia neuronal (Chiueh *et al.*, 2003; Wise *et al.*, 2005), influyen en la expresión de respuestas regenerativas, neurogénesis, regulación de la diferenciación y desarrollo neuronal (Suzuki *et al.*, 2007), participan en mecanismos del dolor y habilidades motoras finas (Mc Ewen, 2001) y presenta acciones neuroprotectoras en relación con el daño por enfermedades neurodegenerativas (Tang *et al.*, 1996; Birge, 1997; Kawas *et al.*, 1997; Saunders-Pullman *et al.*, 1999). También se ha demostrado su participación en el control de la actividad neuronal relacionada con los procesos de cognición (Schmidt *et al.*, 1996), la modulación del estado de ánimo y otros estados mentales, así como el mejoramiento del aprendizaje y la memoria (Luine *et al.*, 1998; Angoa y Rivas, 2006).

#### 1.4.2 Carnosina

La carnosina es un dipéptido natural que contiene  $\beta$ -alanina unida por su grupo carbonilo al grupo amino de la L-histidina (Fig. 6). Es un compuesto altamente hidrofílico por lo que puede penetrar con facilidad a la barrera hematoencefálica (Boldyrev *et al.*, 2008) Se sintetiza por medio del enzima carnosina sintetasa y se degrada por las carnosinasas, ambas enzimas se encuentran presentes en el suero o el líquido intracelular y en el cerebro (Quinn, 1992; Prieto, 2010).

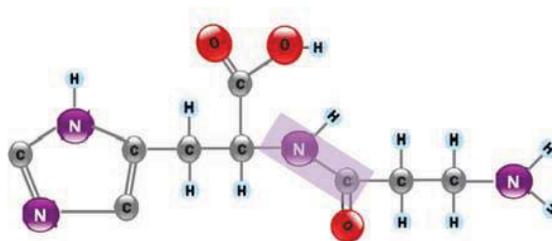


Figura 6. Molécula de L-carnosina (Prieto, 2010)

Dentro de sus funciones se encuentra que posee un potente efecto antioxidante (Koen *et al.*, 1987; Boldyrev *et al.*, 1997; Corona *et al.*, 2011), ya que suprime las modificaciones de las proteínas mediadas por las ERO gracias a su valencia libre (Prieto, 2010); también es un agente quelante de cationes divalentes, debido a su gran cantidad de

residuos de histidina (Koen *et al.*, 1987; Prieto, 2010; Corona *et al.*, 2011); es un atrapador de RL especialmente del radical  $\cdot\text{OH}$  (Koen *et al.*, 1987; Boldyrev *et al.*, 1997; Corona *et al.*, 2011), pero no de radicales superóxido, peróxido de hidrógeno o ácido hipocloroso (Boldyrev *et al.*, 1997); neutraliza los daños de proteínas glicosiladas (Hobart *et al.*, 2004; Corona *et al.*, 2011) y aldehídos producto de la peroxidación lipídica, lo que le confiere la función de agente antienvjecimiento (Corona *et al.*, 2011); es un neuromodulador (Trombley *et al.*, 2000) y protege a las neuronas contra efectos de excitotoxicidad del glutamato (Boldyrev *et al.*, 1999).

Este dipéptido se encuentra en mayor concentración (1-20mM) en el músculo esquelético de diversos vertebrados, excepto en algunos peces (Crush, 1970); también está presente en células gliales del cerebro de reptiles y anfibios anuros (Artero *et al.*, 1991a y b), en el sistema olfatorio de reptiles (Artero *et al.*, 1991a), en los fotoreceptores y células bipolares de la retina de anfibios (Margolis y Grillo, 1984), en las células gliales de cerebro y en las neuronas receptoras olfatorias de aves (Biffo *et al.*, 1990) y en mamíferos se encuentra, dentro del SNC, en cerebro (se expresa en neurona y células gliales) (Biffo *et al.*, 1990), médula espinal (Pisano *et al.*, 1961; Margolis, 1974), epitelio nasal y en mayor cantidad en el bulbo olfatorio (Wideman *et al.*, 1978; Margolis, 1974; De Marchis *et al.*, 1999).

#### **I.4.2.1 Carnosina en el SNC**

La concentración de carnosina en el cerebro es de 1.7-2.5 mM, en la médula oblonga oscila entre 0.15-0.25 mM y en el bulbo olfatorio varía de 0.3-5mM (Ferriero y Margolis, 1975; Margolis, 1974; Quinn, 1992). En el SNC la carnosina actúa como un agente neuromodulador, ya que, por su propiedad quelante puede modular los efectos del zinc y del cobre en la excitabilidad neuronal y modula la actividad de receptores NMDA y AMPA que participan en la transmisión de estímulos olfatorios (Trombley *et al.*, 2000) y actúa como un agente neuroprotector debido a que: **a)** presenta propiedades antiglicantes, pues en el lóbulo olfatorio puede reaccionar con el metilglioxal, un agente glicante altamente tóxico que daña proteínas (Hipkiss, 2010); **b)** actúa como un agente antiexcitotoxicidad, ya que protege contra la neurotoxicidad inducida por NMDA e inhibe la liberación de glutamato; **c)** aumenta la viabilidad y disminuye la apoptosis y necrosis celular (Shen *et al.*, 2007) y **d)** presenta propiedades antioxidante, ya que la carnosina reduce o previene la neurotoxicidad ocasionada por metales como el zinc y el cobre (Horning *et al.*, 2000); disminuye la pérdida de la función de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPasa}$  causada por  $\text{H}_2\text{O}_2$  y reduce la actividad de la tirosina hidroxilasa del cerebro (enzima activada por RL), en ratas sometidas a condiciones de hipoxia se demostró que la carnosina aumentó el tiempo necesario para la pérdida de la coordinación y el cese de la respiración y redujo el tiempo de recuperación (Boldyrev *et al.*, 1997); en cerebros de ratas expuestas a estrés se observó, que después de administrarles carnosina (250mg/kg) los niveles de indicadores de estrés oxidante (malondialdehído (MDA), dienos conjugados y proteínas carboniladas) disminuían, mientras los niveles de antioxidantes (vitamina C) aumentaban y se restauró la actividad de la SOD, CAT GPX (Cheng *et al.*, 2011; Kalaz *et al.*, 2012); en ratas expuestas a etanol y a las que se les

administró carnosina 1mg/Kg/día vía oral, se observó que el grupo expuesto a etanol y tratado con carnosina presentó aumento de la actividad de la SOD y de los niveles de carnosina y disminución de los niveles de la MDA y de proteínas carboniladas (Ozel *et al.*, 2010).

Margolis (1980) determinó que la concentración de la carnosina presente en el bulbo y epitelio olfatorios es mayor en comparación con otras regiones del cerebro y sugirió a la carnosina como un neuromodulador de las neuronas de la vía olfatoria primaria. La carnosina se ha localizado en el citosol del EO y del BO (Harding y O'Fallon, 1979), principalmente en el nervio olfatorio, en la capa glomerular y en la terminales axónicas de las neuronas sensoriales olfativas que hacen sinapsis con las CM, CP y PG (Sakai *et al.*, 1988). Se ha propuesto a la carnosina como posible neurotransmisor de las neuronas sensoriales olfativas, ya que existe síntesis a partir de precursores por medio de la glía envolvente olfatoria, hay presencia de enzimas metabólicas (carnosina sintasa y carnosinasa), y de sitios de unión de alta afinidad en el BO (Hirsch *et al.*, 1978; Harding y O'Fallon, 1979; Rochel y Margolis, 1982; Riesgo-Escovar, 1995; Bakardijev, 1997).

Debido a sus propiedades, la carnosina ha sido propuesta como un tratamiento contra enfermedades neurodegenerativas. En un modelo animal con Alzheimer (ratón 3xTg-AD) se demostró que al administrar la carnosina como suplemento alimenticio, ésta promovió la reducción de la acumulación intraneuronal de A $\beta$  en el hipocampo y restauró la función de las mitocondrias cerebrales (Corona *et al.*, 2011). En pacientes con Alzheimer se observó que la concentración de la carnosina disminuyó en el plasma sanguíneo y aumentó en la orina, esto sugiere una menor biosíntesis y una mayor excreción (Fonteh *et al.*, 2006). En pacientes con Parkinson se observó, después de administrarles carnosina (1.5 g/día), mejora en el estado neurológico y del sistema de locomoción, incremento de la Cu/Zn-SOD y decremento de proteínas carboniladas e hidroperóxidos lipídicos en el plasma sanguíneo (Boldyrev *et al.*, 2008).

En estudios recientes, realizados en nuestro laboratorio utilizando el mismo modelo de inhalación de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (0.02M) con administración oral de carnosina (1mg/kg/día) durante cuatro semanas, se demostró que: ratones machos expuestos a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y tratados con carnosina comparado con ratones expuestos a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> mejoraron su capacidad olfatoria; en el BO aumentó la actividad de la glutatión reductasa, en la región CA1 del hipocampo se detectó que las neuronas piramidales presentaron menor daño ultraestructural y en la mucosa olfatoria hubo disminución en el número de células con necrosis y picnosis (Arenas-Amaya *et al.*, 2012b; Colín-Barenque *et al.*, 2011a; 2012). Además, los grupos expuestos a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y tratados con carnosina tanto de hembras como de machos, comparados con sus grupos expuestos a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> respectivamente, presentaron: menor daño ultraestructural del neuropilo, de las CG y CM del BO, siendo éste daño menos evidente en las hembras en comparación con los macho y en la región CA1 del hipocampo se detectó que las neuronas piramidales presentaron pérdida de espinas dendríticas, siendo está pérdida mayor en los machos comparado con las hembras (Colín-Barenque *et al.*, 2011b; 2012; 2013; Valencia-Segura *et al.*, 2012; 2013).

## II. JUSTIFICACIÓN

Debido a que el vanadio es un contaminante ambiental ampliamente distribuido, que promueve la formación de ERO y la inhalación de dicho metal induce alteraciones de la función y citología del bulbo olfatorio de ratones hembras y machos, es importante evaluar si el tratamiento con antioxidantes como la carnosina evita o reduce las alteraciones producidas por el vanadio.

## III. HIPÓTESIS

Al ser la carnosina un antioxidante, entonces reducirá o evitará la alteración de la función olfatoria y la pérdida de espinas dendríticas de células de la granulosa del bulbo olfatorio de ratones hembras y machos, causadas por la inhalación de vanadio.

## IV. OBJETIVOS

### IV.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la carnosina en la alteración de la función olfatoria y en la pérdida de espinas dendríticas de las células granulosas, del bulbo olfatorio de ratones hembras y machos expuestos a  $V_2O_5$  a través de la vía inhalada.

### IV.2. OBJETIVOS PARTICULARES

En tanto que los objetivos particulares, derivados del objetivo general son:

- Evaluar la capacidad olfatoria de ratones hembras y machos expuestos a  $V_2O_5$  durante cuatro semanas con y sin tratamiento de carnosina, mediante una prueba de percepción olfatoria, utilizando como odorante chocolate.
- Cuantificar la densidad espinosa en las células granulosas del bulbo olfatorio de ratones hembras y machos expuestos a  $V_2O_5$  durante cuatro semanas con y sin tratamiento de carnosina, mediante la técnica de Golgi rápido.

## V. MÉTODO

### V.1 Características del sistema de estudio

Se utilizaron 40 ratones hembras y 40 ratones machos de la cepa CD-1, entre 8 y 12 semanas de edad, con un peso aproximado de 30 y 35 g, los cuales permanecieron en cajas de acrílico (36.5x26.5x15.5) bajo un fotoperiodo de 12 h de luz / 12 h de oscuridad, con alimentación y agua *ad Libitum*.

### V.2 Tratamientos

Los ratones se clasificaron por sexo en los siguientes grupos (n=10 por cada grupo):

#### a) **Controles**

A los 20 ratones de ambos grupos (hembras y machos) se les colocó, por separado, en una caja de acrílico (45.5x35.5x20.5) conectada a un nebulizador ultrasónico (Yue Hua ® modelo: WH-802), donde inhalaban solución salina durante una hora, dos veces por semana, durante cuatro semanas.

#### b) **Expuestos a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sin tratamiento de carnosina**

A los 20 ratones de ambos grupos (hembras y machos) únicamente se les colocó, por separado, en la caja de acrílico conectada al ultra nebulizador, donde inhalaban 0.02 M de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (equivalente a 1436 µg/m<sup>3</sup> de V) (González-Villalva, 2014) durante una hora, dos veces por semana, durante cuatro semanas.

#### c) **Expuestos a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> con tratamiento de carnosina**

A los 20 ratones de ambos grupos (hembras y machos) se les colocó, por separado, en la caja de acrílico conectada al ultra nebulizador, donde inhalaban 0.02 M de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (equivalente a 1436 µg/m<sup>3</sup> de V en la caja) (González-Villalva, 2014) durante una hora, dos veces por semana, durante cuatro semanas y se les administró por vía oral una concentración de 1mg/Kg/día (Ozel *et al.*, 2010) de carnosina durante cuatro semanas.

#### d) **Sin exposición a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> con tratamiento de carnosina**

A los 20 ratones de ambos grupos (hembras y machos) únicamente se les administró por vía oral una concentración de 1mg/Kg/día (Ozel *et al.*, 2010) de carnosina durante cuatro semanas.

### V.3 Prueba de la función olfatoria

Para evaluar la función olfatoria de los ratones, a todos los grupos se les realizó una prueba de percepción olfatoria (utilizando como odorante chocolate) realizada por Yan y Crawley (2009) con un tiempo límite de dos minutos, la cual consistió en:

Tres días antes de la realización de la prueba se sustituyó la comida de los ratones por trozos de chocolate (Vaquita Wong's® de 4.5 g), los cuales se les suministraron durante dos días. Un día antes de la realización de la prueba, se les privó del chocolate y de comida durante 18 horas. Transcurrido dicho tiempo, se llevó a cabo la prueba de percepción olfatoria, la cual consistió en colocar durante cinco minutos, para su ambientación, a uno de los ratones en una caja de acrílico (36.5x26.5x15.5), la cual fue previamente limpiada con alcohol 96%, desinfectada con Clidox ® y se le colocaron tres centímetros de aserrín.

Pasados los cinco minutos, se colocó al mismo ratón en otra caja de acrílico (36.5x26.5x15.5, limpia y desinfectada), la cual contenía tres centímetros de aserrín y a un centímetro de profundidad de éste se encontraba escondido, en una de las esquinas de la caja, un trozo de chocolate (Vaquita Wong's®) de 4.5 g. Se registró el tiempo que tardó el ratón en encontrar el chocolate, teniendo como límite de tiempo dos minutos. Este procedimiento se repitió con cada uno de los ratones una semana antes de iniciar el tratamiento correspondiente (inicial), a las dos semanas y a las cuatro semanas de tratamiento. Con los datos obtenidos y al no ser paramétricos se realizó una prueba de **U** de Mann-Whitney.

#### **V.4 Sacrificio y perfusión**

Transcurridas las cuatro semanas del experimento, todos los grupos, se sacrificaron con una dosis letal de Pentobarbital Sódico, fueron perfundidos vía intracardiaca con solución salina (pH 7.4) y fijados con paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos 0.1M (pH 7.4). Posteriormente, se disecaron los bulbos olfatorios del resto del cerebro.

#### **V.5 Análisis citológico**

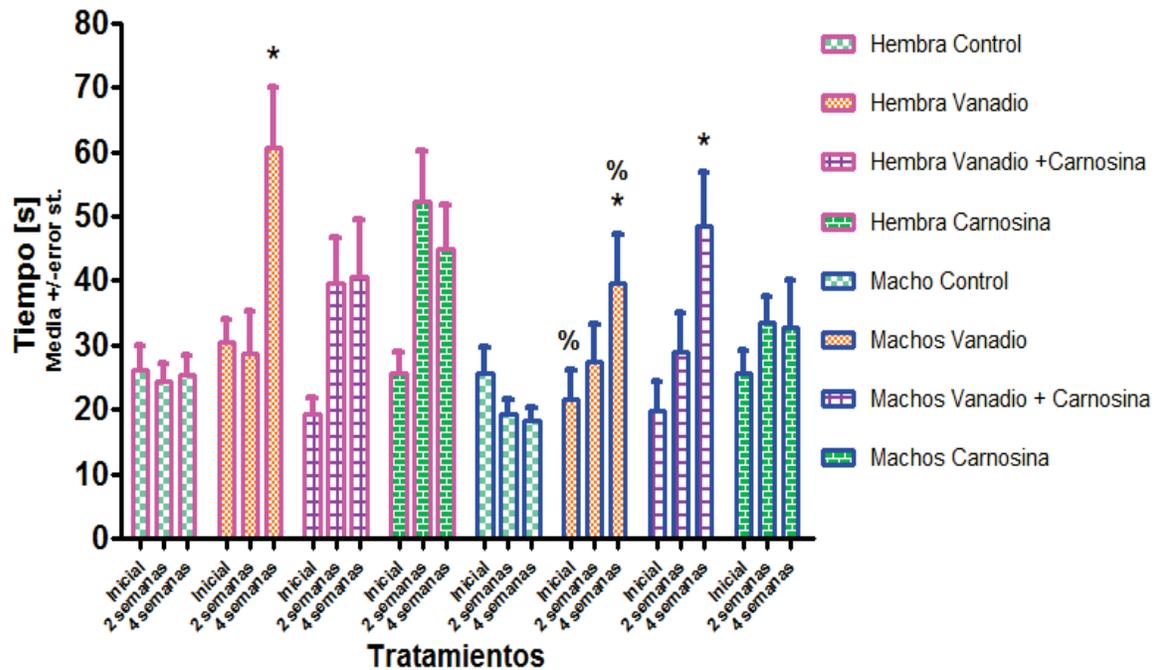
Los bulbos olfatorios obtenidos fueron colocados en fijador con PBS (0.1M, pH 7.4) por dos horas a cuatro grados centígrados. Se mantuvieron durante siete días en solución de Golgi. Después, se dejaron un día en una solución de nitrato de plata al 0.75%, posteriormente fueron encastrados en parafina y se realizaron los cortes histológicos sagitales de 90 µm de grosor, luego se deshidrataron con alcohol y se aclararon en eugenol y xilol y finalmente se montaron y cubrieron con resina.

Se realizó el conteo del número de espinas dendríticas en 20 µm de 50 dendritas secundarias a partir de la primera bifurcación, en 25 células granulosas del bulbo olfatorio por ratón, utilizando el objetivo de 40X y un ocular calibrado. Con los datos obtenidos se realizó una prueba de ANOVA.

## VI. RESULTADOS

### VI.1 Prueba de percepción olfatoria

Los resultados obtenidos en la prueba olfatoria mostraron que, a las cuatro semanas, ambos grupos expuestos a  $V_2O_5$  (hembras:  $\bar{X} = 60.69 \pm 9.35$  s; machos:  $\bar{X} = 39.48 \pm 7.72$  s) tardaron significativamente más tiempo en encontrar el chocolate en comparación con los grupos control (hembras:  $\bar{X} = 25.48 \pm 3.08$  s; machos:  $\bar{X} = 18.23 \pm 2.10$  s) correspondientes y que los grupos de ratones macho expuesto a  $V_2O_5$  inicial ( $\bar{X} = 21.55 \pm 4.53$  s) y expuesto a  $V_2O_5$  durante cuatro semanas realizaron un tiempo significativamente menor con respecto a los tiempos realizados por los grupos de hembras expuesto a  $V_2O_5$  inicial ( $\bar{X} = 34.99 \pm 5.63$  s) y expuesto a  $V_2O_5$  durante cuatro semanas, respectivamente. El grupo de machos expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina ( $\bar{X} = 48.52 \pm 8.33$  s) tardó significativamente más tiempo en encontrar el chocolate en comparación con el grupo control de machos a las cuatro semanas de tratamiento; en cambio, el grupo de hembras expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina durante cuatro semanas ( $\bar{X} = 40.55 \pm 8.92$  s) no realizó un tiempo significativamente diferente con respecto al grupo control de hembras. A las cuatro semanas de tratamiento, los dos grupos con administración de carnosina (hembras:  $\bar{X} = 45.04 \pm 6.82$  s; machos:  $\bar{X} = 32.79 \pm 7.26$  s) no presentaron diferencia significativa con respecto a los grupos control correspondientes (Fig. 7).

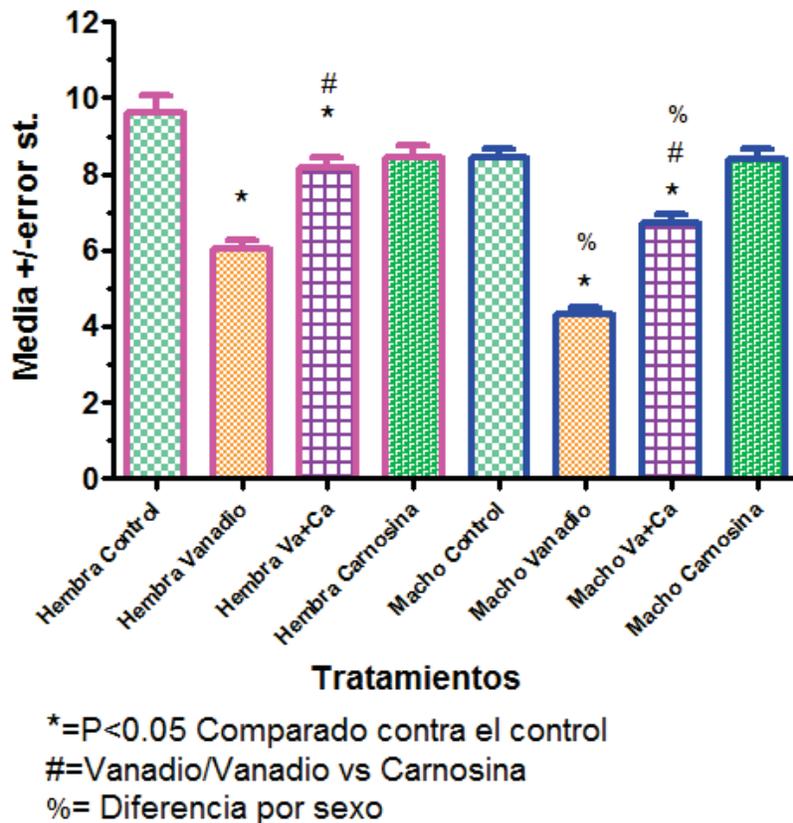


\*=P<0.05 Comparado contra el grupo control a las cuatro semanas  
 %=Diferencia por sexo  
 Prueba U de Mann-Whitney

**Figura 7.** Gráfica que muestra el tiempo promedio (segundos) que tardaron los diferentes grupos de tratamiento en encontrar el chocolate en los tres periodos de evaluación (inicial, 2 semanas y 4 semanas). Prueba **U** de Mann-Whitney pareada no paramétrica (Mann-Whitney; por grupo n=10).

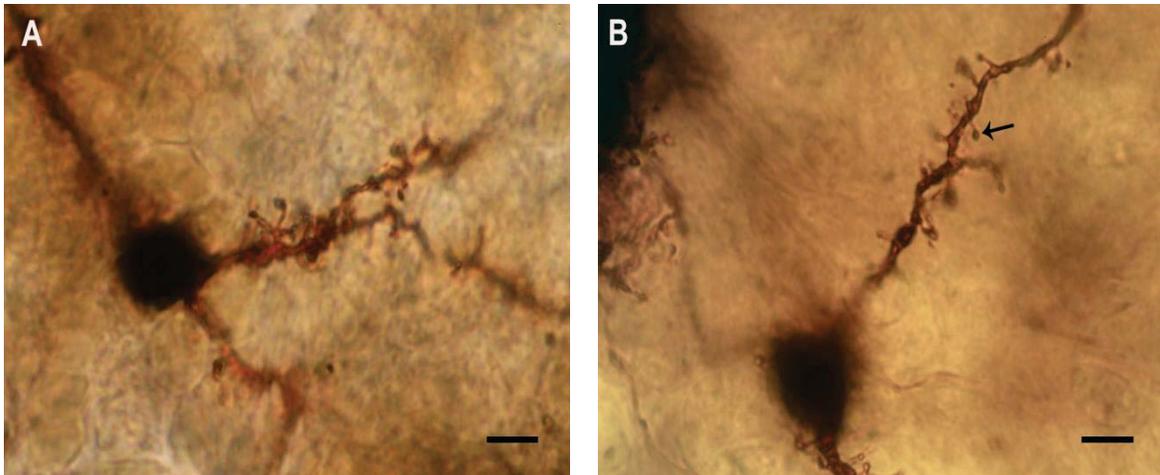
## VI.2 Análisis citológico

En el análisis citológico se observó que ambos grupos expuestos a  $V_2O_5$  (hembras:  $\bar{X} = 6.04 \pm 0.22$  espinas; machos:  $\bar{X} = 4.29 \pm 0.20$  espinas) presentaron disminución significativa de la densidad espinosa de las células granulosas del bulbo olfatorio en comparación con los grupos control (hembras:  $\bar{X} = 9.62 \pm 0.43$  espinas; machos  $\bar{X} = 8.42 \pm 0.23$  espinas) respectivamente y que la densidad espinosa de las hembras expuestas fue significativamente mayor en comparación con la de los machos expuestos. En cambio, los grupos expuestos a  $V_2O_5$  pero tratados con carnosina (hembras:  $\bar{X} = 8.15 \pm 0.25$  espinas; machos:  $\bar{X} = 6.72 \pm 0.20$  espinas) presentaron una densidad espinosa significativamente mayor en comparación con los grupos expuesto a  $V_2O_5$ ; sin embargo, esta densidad fue significativamente menor en comparación con los grupo control; además, la densidad espinosa de las hembras expuestas a  $V_2O_5$  y tratadas con carnosina fue significativamente mayor en comparación con los machos expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina. Los grupos tratados únicamente con carnosina (hembras:  $\bar{X} = 8.43 \pm 0.33$  espinas; machos:  $\bar{X} = 8.37 \pm 0.26$  espinas) no presentaron diferencias significativas comparadas con los grupos control (Fig. 8, 9, 10, 11 y 12).

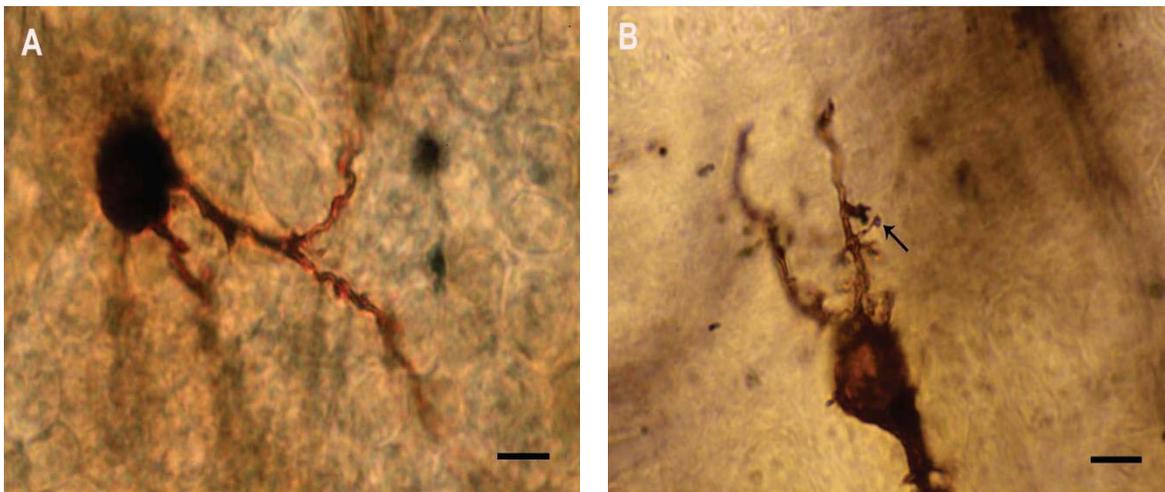


**Figura 8.** Gráfica que muestra el promedio de espinas de las neuronas granulosas de bulbo olfatorio de machos y hembras de los grupos control, los expuestos a  $V_2O_5$ , los expuestos a  $V_2O_5$  y tratados con carnosina y los tratados únicamente con carnosina.

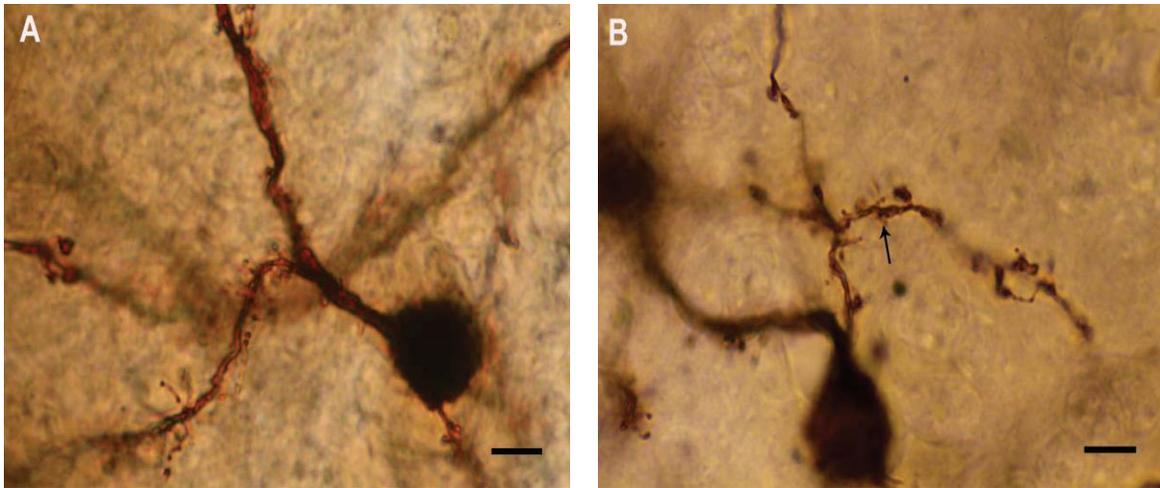
Prueba de ANOVA (por grupo n=10).



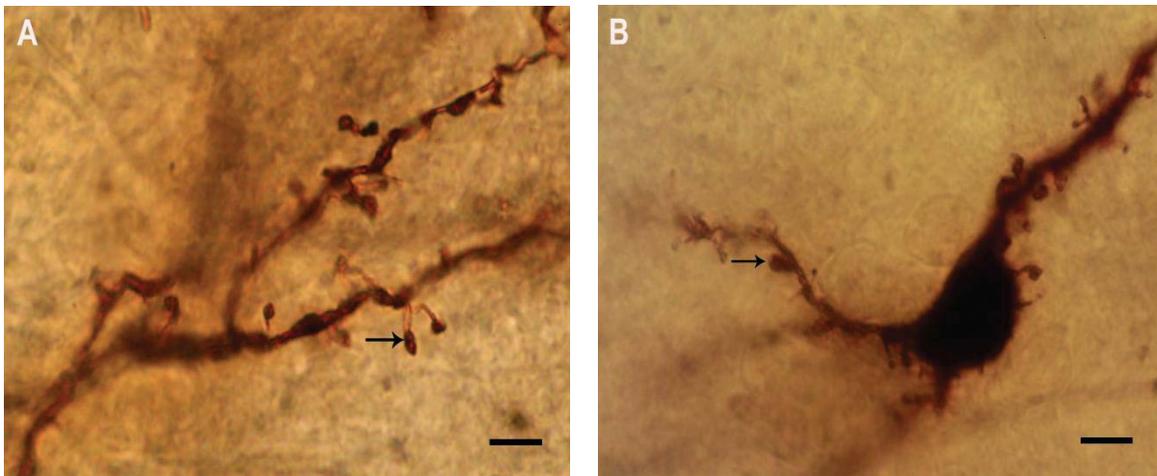
**Figura 9.** Microfotografía de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón macho control **A)** y de un ratón hembra control, la flecha señala una espina dendrítica **B)**. Aumento 100X. Escala 5  $\mu$ m.



**Figura 10.** Microfotografía de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón macho expuesto a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> **A)** y de un ratón hembra expuesto a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, la flecha señala una espina dendrítica **B)**. Aumento 100X. Escala 5  $\mu$ m.



**Figura 11.** Microfotografía de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón macho expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina **A)** y de un ratón hembra expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina, la flecha señala una espina dendrítica **B)**. Aumento 100X. Escala 5  $\mu m$ .



**Figura 12.** Microfotografía de una dendrita secundaria de célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón macho tratado con carnosina, la flecha señala una espina dendrítica **A)** y de una célula granulosa del bulbo olfatorio de un ratón hembra tratado con carnosina, la flecha señala una espina dendrítica **B)**. Aumento 100X. Escala 5  $\mu m$ .

## VII. DISCUSIÓN

En estudios previos se ha observado que la inhalación de vanadio, un contaminante atmosférico, provoca alteraciones morfológicas, fisiológicas y funcionales en el sistema olfatorio (Aguirre *et al.*, 2002; Colín-Barenque *et al.*, 2003; Mondragón *et al.*, 2003; Cervantes-Piza, 2009; Moscoso-Caballero 2010; Arenas-Amaya, 2012a; Jiménez-Martínez 2012; Ryan, 2013; Afeseh *et al.*, 2014). La alteración de la olfacción es una característica temprana de algunas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer (Gatcum y Jacob, 2001; Luzzi *et al.*, 2007; Lafreniere y Mann, 2009) las cuales, a su vez, presentan como posible factor de riesgo la exposición ambiental crónica a metales de transición, los cuales pueden inducir estrés oxidante (Butterfield *et al.*, 2002; Selley *et al.*, 2002; Perry *et al.*, 2003; Dexter *et al.*, 1989; Barnham *et al.*, 2004; Barnham y Bush, 2008; Calderón-Garcidueñas *et al.*, 2013; Afeseh *et al.*, 2014). Debido a sus propiedades, la carnosina ha sido propuesta como un tratamiento contra enfermedades neurodegenerativas (Fonteh *et al.*, 2006; Boldyrev *et al.*, 2008; Corona *et al.*, 2011); además por su efecto antioxidante, al ser un agente quelante y un atrapador de RL podría reducir los efectos del vanadio en el sistema olfatorio (Koen *et al.*, 1987; Boldyrev *et al.*, 1997; Corona *et al.*, 2011).

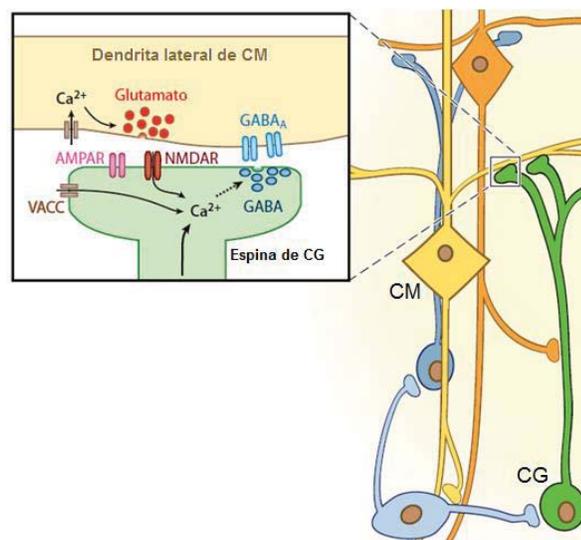
### ✿ Análisis Citológico

#### *Grupos expuestos a V<sub>5</sub>O<sub>5</sub>*

Los grupos de ratones hembras y machos expuestos a pentóxido de vanadio (V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) presentaron, como lo reportado por Moscoso-Caballero (2010), pérdida de espinas dendríticas de las células granulosas (CG) del bulbo olfatorio (BO), debido quizá a que el vanadio (V), al promover la formación de radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO) y al disminuir la actividad de algunas enzimas antioxidantes, genera estrés oxidante (Shi y Dalai, 1993b; Capella *et al.*, 2002; Mussali-Galante *et al.*, 2007; Cui *et al.*, 2012; Farid *et al.*, 2012), el cual, a su vez, promueve el aumento de las metaloproteinasas dos y nueve (MMP-2 y MMP-9) en la zonas glomerular y granulosa del BO (Colín-Barenque *et al.*, 2008; Cervantes-Piza 2009; Cortés-Torres, 2009); el aumento de dichas metaloproteinasas se ha asociado con la pérdida de espinas dendríticas debido a que, al modificar el microambiente pericelular de las neuronas y al participar en el remodelado dendrítico, pueden alterar el mantenimiento y formación de las espinas (Szklarczyk *et al.*, 2002; Michaluk *et al.*, 2011; Szepesi *et al.*, 2013).

La pérdida de espinas dendríticas también podría deberse a la citotoxicidad ocasionada por la liberación excesiva de glutamato de las células mitrales (CM) y de las células en penacho (CP) sobre las espinas dendríticas de las CG (Bourne y Harris, 2007; Lepousez *et al.*, 2013). En estas sinapsis la entrada de calcio local a la CM/CP desencadena la liberación de glutamato de las dendritas de las CM/CP, que activa los receptores glutamatérgicos, como AMPA y NMDA, que se encuentran en las espinas de las CG; esta activación postsináptica puede directa o indirectamente, a través de los canales de calcio

activados por voltaje (VACC), aumentar la concentración de calcio en el interior de las espinas de las CG; este aumento de calcio, a su vez, desencadena la liberación de GABA y la inhibición postsináptica de las dendritas de las CM/CP a través de los receptores GABA (Fig. 13) (Lepousez *et al.*, 2013). El V, al promover la formación de ERO, ocasiona un aumento de estas especies, las cuales probablemente producen que las CM/CP liberen un exceso de glutamato, el cual es captado por los receptores glutamatérgicos de las CG. La entrada de glutamato junto con la presencia de ERO, llevan a un aumento de los niveles intracelulares de calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) que activa fosfolipasas, proteasas, endonucleasas y a la sintasa de óxido nítrico. El  $\text{Ca}^{+2}$  y óxido nítrico, a través de una serie de reacciones químicas intracelulares, promueven la muerte neuronal por necrosis y apoptosis (Colín-Barenque y Fortoul, 2007). Debido a esto, la pérdida de espinas dendríticas podría ser un mecanismo para evitar la muerte neuronal, ya que cuando se reduce el número de espinas se reducen los contactos sinápticos y con esto la posible citotoxicidad (Ávila-Costa *et al.*, 2004 y 2006).



**Figura 13.** Sinapsis excitatoria entre dendrita lateral de una célula mitral (CM) y la espina de una célula granulosa (CG) y sinapsis inhibitoria entre espina de una CG y la dendrita lateral de una CM (Modificado de Lepousez *et al.*, 2013).

Otra posible explicación a la disminución de la densidad espinosa es que el V altera ciertos componentes del citoesqueleto (Mussali-Galante *et al.*, 2007) y consecuentemente daña la forma, estabilidad y plasticidad de las espinas. En el mismo modelo de inhalación de  $\text{V}_2\text{O}_5$  se observó disminución de los niveles de actina en células de testículo de ratón (Rodríguez-Lara *et al.*, 2013), por lo que quizá el V también disminuye los niveles de actina presente en las espinas dendríticas de las CG del BO y consecuentemente altera su estabilidad y presencia. El V al tener una similitud estructural y electrónica con el fosfato (Mukherjee *et al.*, 2013), podría interferir con la polimerización de los filamentos de actina pues quizá altera la fosforilación que requiere la actina-ADP para ser actina-ATP y así

poderse polimerizar (Paniagua *et al.*, 2007). Debido a que el V compite con los grupos fosfato (Mukherjee *et al.*, 2013), éste podría unirse a uno de los sitios de fosforilación (Ser-94 y Ser-177) de la espinofilina, la cual es una proteína que se encuentra de manera elevada en las espinas dendríticas donde modula la transmisión sináptica glutamatérgica y la forma de las espinas, el V al unirse a esta proteína podría alterar la asociación entre la espinofilina y la actina del citoesqueleto y consecuentemente se alteraría la estructura de la espinas, ya que se ha observado que al ser fosforilada la espinofilina se reduce la unión entre ésta y la actina (Feng *et al.*, 2000; Hsieh-Wilson *et al.*, 2003; Ferrer-Sánchez, 2009). El V causa alteraciones en las vías de señalización del  $\text{Ca}^{2+}$  (Stohs y Ragchi, 1995; García *et al.*, 2005) por lo que podría alterar el funcionamiento de proteínas dependientes de este elemento, como la vellosina y la gelsolina que rompen los filamentos de actina o como la calmodulina que se une algunas proteínas asociadas a la actina (caldesmon, espectrina) que modulan la organización de los microfilamentos y consecuentemente estas proteínas al ser alteradas afectarían la estabilidad y forma de las espinas, así como sus procesos de plasticidad estructural dependientes de actina (Fischer *et al.*, 1998; Jiménez y Merchant, 2003; Bourne y Harris, 2007).

#### *Grupos expuestos a $\text{V}_5\text{O}_5$ y tratados con carnosina*

Los grupos de ratones hembras y machos expuestos a  $\text{V}_5\text{O}_5$  y tratados con carnosina presentaron mayor número de espinas dendríticas en comparación con los grupos expuestos únicamente a  $\text{V}_5\text{O}_5$  respectivamente, debido posiblemente al efecto antioxidante, quelante, al ser un atrapador de radicales hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ) y al aumentar la actividad de enzimas antioxidantes, como la glutatión reductasa, en el BO (Koen *et al.*, 1987; Boldyrev *et al.*, 1997; Prieto, 2010; Colín-Barenque *et al.*, 2011a; Corona *et al.*, 2011), la carnosina disminuye la presencia de ERO y RL generadas por el V (Armas, *et al.*, 2002) y consecuentemente reduce el estrés oxidante, evitando así la pérdida de espinas dendríticas ya sea quizá porque no se promueve el aumento de las MMP-2 y MMP-9 en la zonas glomerular y granulosa del BO, porque al estar capturado el V por la carnosina (Armas, *et al.*, 2002) éste no compite con los grupos fosfato y por consiguiente no altera componentes del citoesqueleto y/o porque se regula la liberación de glutamato por las CM/CP y la participación de las ERO que causan la citotoxicidad y muerte de las CG (Boldyrev *et al.*, 1999). Aunado a esto, se ha propuesto que la carnosina es un modulador del glutamato (Sassoè-Pognetto *et al.*, 1993), por lo que posiblemente el efecto adverso de este neurotransmisor sobre las CG se ve reducido.

Otra posible explicación del porqué el grupo de ratones hembras expuestas a  $\text{V}_5\text{O}_5$  y tratadas con carnosina presentaron mayor número de espinas dendríticas en comparación con su grupo expuestos a  $\text{V}_5\text{O}_5$  es que, además del efecto de la carnosina, los estrógenos pudieron haber actuado como un agente antioxidante y como favorecedores de la espinogénesis (Behl *et al.*, 1997; Vedder *et al.*, 1999; Bender *et al.*, 2010) en el grupo con administración de carnosina, pues en el mismo modelo de inhalación con administración de ácido ascórbico, se observó que los niveles de 17- $\beta$ estradiol eran mayores en el grupo

expuesto a  $V_5O_5$  con administración ácido ascórbico en comparación con el grupo expuesto únicamente a  $V_5O_5$  (García-Ibarra, 2014; Meléndez-García, 2014).

Sin embargo, ambos grupos expuestos a  $V_5O_5$  y tratados con carnosina presentaron menor densidad espinosa en comparación con los grupos control respectivamente, lo que indica que la carnosina no puede evitar por completo los efectos adversos del V, por ejemplo: la carnosina no logra eliminar los radicales superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Boldyrev *et al.*, 1997) que se generan intracelularmente por la reducción del V (V) a V (IV) (Shi y Dalai, 1993b; Capella *et al.*, 2002) y por lo tanto, continúa habiendo pérdida de espinas por los mecanismos, mencionados anteriormente, donde participan las ERO y RL.

#### *Grupos tratados con carnosina*

Los grupos de ratones hembras y machos tratados únicamente con carnosina no presentaron diferencias significativas en el número de espinas dendríticas de las CG en comparación con los grupos control, lo que indica que la densidad espinosa no fue afectada por este compuesto.

#### *Diferencias por sexo*

Las diferencias encontradas entre sexos en los grupos expuestos a  $V_5O_5$  y en los expuestos a  $V_5O_5$  y tratados con carnosina, pueden deberse a que los estrógenos posiblemente actúan como una agente antioxidante gracias a la presencia de un grupo OH en un anillo fenólico de la molécula esteroidea, el cual puede actuar como un atrapador de RL y permite donar un átomo de  $H^+$  (Subbiah *et al.*, 1993; Wen *et al.*, 2000; Thibodeau *et al.*, 2002; Angoa y Rivas, 2006; Escalante-Gómez *et al.*, 2009). Incluso, se ha demostrado que el estradiol es igual de efectivo que la vitamina E en términos de peroxidación (Ayres *et al.*, 1996). Además, los estrógenos quizá pueden estar modulando procesos oxidativos y antioxidativos, ya que funcionan como atrapadores de RL pues reducen y mantienen reducidas las moléculas de hierro y cobre (Markides *et al.*, 1998; Escalante-Gómez *et al.*, 2009) y también pueden aumentar la expresión de enzimas antioxidantes como la manganeso superóxido dismutasa (MnSOD), la superóxido dismutasa extracelular (ecSOD), la superóxido dismutasa (SOD) y la glutatión peroxidasa (GPX) (Strehlow *et al.*, 2003; Wassmann *et al.*, 2005; Bellanti *et al.*, 2013). Por lo tanto, todas estas acciones de los estrógenos quizá reducen los efectos del V, al disminuir los niveles de RL y ERO generados por este metal y/o al minimizar y mantener reducidas las moléculas de V, lo que previene que estas moléculas actúen como oxidante o que compitan con los grupos fosfato y probablemente se evita la pérdida de espinas dendríticas por los mecanismos anteriormente mencionados.

Asimismo, los estrógenos también podrían estar favoreciendo que las hembras presenten mayor densidad espinosa que los machos, debido, probablemente, a que estas hormonas favorecen la espinogénesis. En ratas a las que se le había administrado 17- $\beta$ estradiol se observó aumento de la densidad espinosa de neuronas piramidales del hipocampo en comparación con su grupo control (Murphy *et al.*, 1998), así como aumento de proteínas sinápticas (syntaxina, PSD95 y espinofilina) necesarias para la sinaptogénesis, maduración y forma de las espinas (Li *et al.*, 2004). Además, en ratas a las que se les inhibió la aromatasa se observó disminución de la densidad espinosa de las células de la capa molecular del giro dentado del hipocampo (Bender *et al.*, 2010).

## 🌸 **Función Olfatoria**

### *Grupos expuestos a V<sub>5</sub>O<sub>5</sub>*

Como se reportó previamente (Cervantes-Piza, 2009; Moscoso-Caballero, 2010; Jiménez-Martínez 2012), los ratones hembras y machos expuestos a la inhalación de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, a las cuatro semanas, presentaron disminución de la capacidad olfatoria, debido posiblemente a la pérdida de espinas dendríticas de las CG del BO que se observó en ambos grupos, ya que estas células, al realizar contactos sinápticos dendrodendríticos con las CM y CP, intervienen en la integración y modulación de la información de la función olfatoria (Nieuwenhuys *et al.*, 2009; Lepousez *et al.*, 2013). Esta pérdida de la función olfatoria también puede atribuirse a las diversas alteraciones morfológicas, provocadas por la inhalación de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, que ocurren en el epitelio olfatorio (EO) (Arenas-Amaya 2012a) y en las CG del BO (Aguirre *et al.*, 2002; Colín-Barenque *et al.*, 2003; Mondragón *et al.*, 2003), a la disminución de la densidad celular en la capa glomerular y granulosa de dicha estructura (Jiménez-Martínez 2012) y/o a la muerte por necrosis de las CG del BO (Colín-Barenque *et al.*, 2003). Otra explicación es que se ha observado que la exposición a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> causa decremento de los niveles de tiroxina hidroxilasa, dopamina y ácido 3,4-dihidroxifenilacético un precursor de la dopamina (Afeseh *et al.*, 2014). La dopamina juega un papel importante en la función olfatoria (Doty y Risser, 1989; Wilson y Sullivan, 1995; Duchamp-Viret *et al.*, 1997; Hsia *et al.*, 1999; Koster *et al.*, 1999) y los cambios en los niveles de este neurotransmisor afectan la olfacción (Afeseh *et al.*, 2014), ya que la dopamina regula la transmisión entre el epitelio y los glomérulos del BO para mediar las aferencias de dicha estructura (Hsia *et al.*, 1999).

### *Grupos expuestos a V<sub>5</sub>O<sub>5</sub> y tratados con carnosina*

A pesar de que no hubo diferencia significativa entre el grupo de hembras expuesto a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> con administración de carnosina y el grupo de hembras control, a las cuatro semanas, se observó que el primer grupo hizo más tiempo en encontrar el chocolate en comparación con el grupo control, lo que podría deberse a la pérdida de espinas dendríticas de las CG del BO observada en el análisis citológico. Sin embargo, cuando se comparó el grupo de hembras expuesto a V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> con administración de carnosina contra el grupo de ratones

hembras expuesto solamente a  $V_2O_5$  se observó que el primer grupo tardó menos tiempo en encontrar el chocolate, probablemente debido al efecto antioxidante de la carnosina (Colín-Barenque *et al.*, 2013) y a que, como se mencionó anteriormente, el grupo con administración de carnosina quizá presentó niveles de 17- $\beta$ estradiol más altos que el grupo expuesto únicamente a  $V_5O_5$  (García-Ibarra, 2014; Meléndez-García, 2014), por lo que tal vez el grupo de hembras expuesto a  $V_2O_5$  con administración de carnosina contó con el efecto neuroprotector de los estrógenos, pues en un modelo de rata con discapacidad olfatoria se observó que la administración de 17- $\beta$ estradiol previno y mejoró la insuficiencia olfativa, (Bernal-Mondragón *et al.*, 2013) y en un modelo de ratas expuestas a la inhalación crónica de ozono se observó que la administración de 17- $\beta$ -estradiol previene el deterioro de la percepción olfativa (Guevara-Guzmán *et al.*, 2009). Además, en este mismo modelo de inhalación con administración de carnosina se observó que los ratones hembras expuestas a  $V_5O_5$  con administración de carnosina en comparación los ratones hembras expuestas únicamente a  $V_5O_5$ , presentan menor daño ultraestructural del neuropilo, de las CG y de las CM del BO (Colín-Barenque *et al.*, 2013), por lo que quizá la función olfatoria de ratones hembras con administración de carnosina se ve menos alterada.

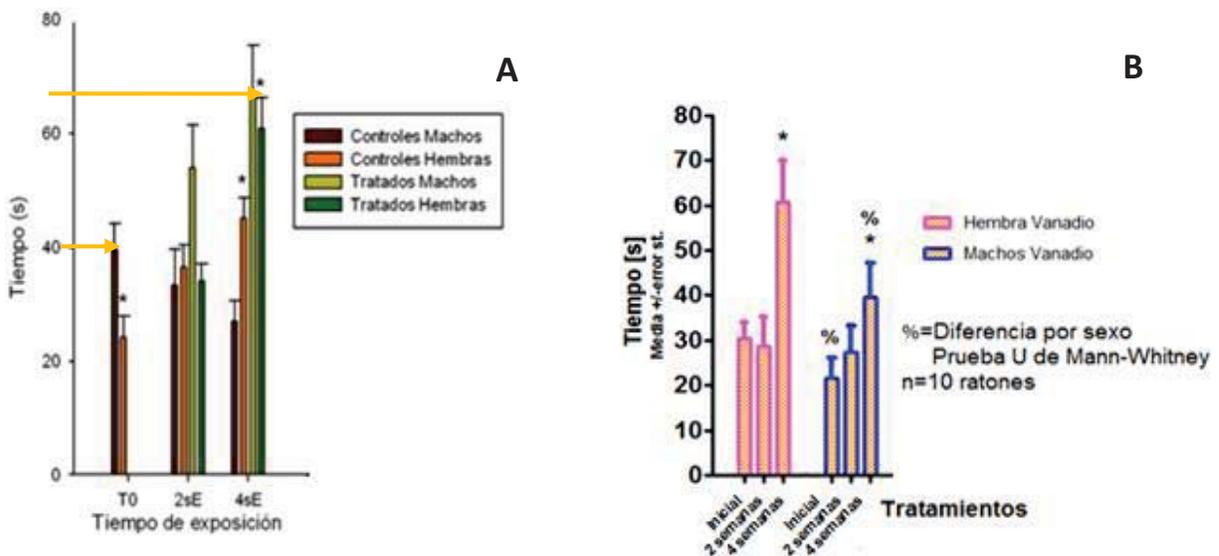
El grupo de machos expuesto a  $V_2O_5$  con administración de carnosina presentó alteración de la capacidad olfatoria, debido probablemente a la pérdida de espinas dendríticas de las CG del BO que se observó, puesto que estas células, como se mencionó anteriormente, intervienen en la integración y modulación de la información de la función olfatoria (Nieuwenhuys *et al.*, 2009; Lepousez *et al.*, 2013). También es probable que esta función se haya visto afectada dado que la carnosina, al no logra eliminar todos las ERO y RL (Boldyrev *et al.*, 1997) que se generan intracelularmente por la reducción del V (V) a V (IV) (Shi y Dalai, 1993b; Capella *et al.*, 2002), no puede evitar por completo los efectos adversos del estrés oxidante, provocado por el V, que causan la alteración de la olfacción. Asimismo, al no presentar niveles elevados de estrógenos, los machos no cuentan con el efecto antioxidante y neuroprotector de estas hormonas (Subbiah *et al.*, 1993; Vedder *et al.*, 1999; Wen *et al.*, 2000; Thibodeau *et al.*, 2002; Angoa y Rivas, 2006; Escalante-Gómez *et al.*, 2009; Bernal-Mondragón *et al.*, 2013) que posiblemente podrían disminuir los efectos adversos del V. Otra posible explicación es que se ha visto implicada la memoria olfativa en la prueba utilizada para evaluar la función olfatoria (Jiménez-Martínez 2012), por lo que, a su vez, está implicado el hipocampo en esta función (Stäubli *et al.*, 1984; Stäubli *et al.*, 1995; Wood y Macdonald, 2001). En la región CA1 del hipocampo, en el mismo modelo de inhalación de  $V_2O_5$  con administración de carnosina, se observó pérdida de espinas dendríticas de las neuronas piramidales, siendo esta pérdida mayor en los machos comparado con las hembras (Valencia-Segura *et al.*, 2012; 2013), por lo tanto dicha pérdida de espinas posiblemente altera de manera indirecta la función olfatoria de los machos.

### Grupos tratados con carnosina

Los grupos de ratones hembras y machos tratados únicamente con carnosina no presentaron diferencias significativas entre el tiempo que tardaron en encontrar el chocolate en comparación con los grupos control, esto quizá se deba a que la carnosina al no afectar la citología del BO, pues no provocó pérdida de la densidad espinosa de las CG del BO, en consecuencia la función tampoco se ve afectada por la administración de este compuesto.

### Diferencias por sexo

En estudios previos se ha reportado que la disminución de la capacidad olfatoria es más evidente en los machos que en las hembras (Cervantes-Piza, 2009 Moscoso-Caballero, 2010, Jiménez-Martínez 2012). Cuando se compraron los resultados obtenidos en esta investigación contra los obtenidos por Jiménez-Martínez (2012), quien realizó la misma prueba olfatoria, se observó que los tiempos realizados por el grupo de ratones hembras expuesto a  $V_2O_5$  (inicial:  $30.52 \pm 3.61$  s y 4sE:  $60.69 \pm 9.35$  s) eran similares a los reportados por Jiménez-Martínez (2012) (inicial: 30 s aproximadamente y 4sE: 60 s aproximadamente) (Fig.14). Sin embargo, los tiempos realizados por el grupo de ratones machos expuesto a  $V_2O_5$  (inicial:  $21.55 \pm 4.53$  s y 4sE:  $39.48 \pm 7.72$  s) fueron menores comparados con los tiempos reportados por Jiménez-Martínez (2012) (inicial: 40 s aproximadamente y 4sE: 70 s aproximadamente) (Fig.14). Con base en lo anterior la diferencia significativa observada por género en los expuestos a  $V_2O_5$  a las cuatro semanas, podría deberse a los valores de la evaluación inicial de los machos.



**Figura 14.** Comparación entre los tiempos registrados, por Jiménez-Martínez (2012) (A) y los tiempos reportados en esta investigación (B), del grupo de machos expuesto a  $V_2O_5$  en los tres periodos de evaluación (T0: inicial, 2sE: dos semanas y 4sE: cuatro semanas).

Finalmente podemos comentar que la carnosina tiene un efecto neuroprotector en la citología del BO, ya que logró reducir la pérdida de espinas dendríticas de la CG del BO de ratones hembras y machos expuestos a  $V_2O_5$ , posiblemente por su efecto antioxidante, quelante y/o de atrapador de RL. Además, debido a su efecto antioxidante y a que reduce ciertos marcadores de estrés oxidante (Boldyrev *et al.*, 2008), la carnosina ha sido propuesta como un posible tratamiento para ciertas enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson, ya que se ha observado que el estrés oxidante es un factor de riesgo de éstas (Barnham *et al.*, 2004). Sin embargo, se comprobó que la carnosina no logra evitar la alteración de la función olfatoria en machos, provocada posiblemente por el estrés oxidante promovido por el vanadio, pues quizá la carnosina no logra proteger otras estructuras implicadas en la función olfatoria como el hipocampo, donde se observó que la carnosina no reduce la pérdida de espinas dendríticas de la células granulosas (Valencia-Segura *et al.*, 2012; 2013).

## VIII. *CONCLUSIÓN*

Con base en los resultados se puede concluir que la carnosina es un agente neuroprotector de las células granulosas del bulbo olfatorio de ratones hembras y machos, ya que logró reducir la pérdida de espinas dendríticas de estas células, provocada por la inhalación de pentóxido de vanadio. Sin embargo, la carnosina no evita en su totalidad los efectos del vanadio que provocan dicha pérdida. Además se demostró que la administración de carnosina a ratones hembra, disminuye la alteración de la función olfatoria provocada por la inhalación de pentóxido de vanadio, pero no evita la alteración de esta función en ratones macho expuestos a este compuesto.

## REFERENCIAS

- Afeseh, H., A. Kanthasamy, H. Jin, V. Anantharam y A. G. Kanthasamy. 2014. Vanadium exposure induces olfactory dysfunction in an animal model of metal neurotoxicity. *Neurotoxicology*. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2013.12.004>> Consultado el 17 de febrero de 2014.
- Aguirre, C., A. Mondragón, P. Meza, I. T. Fortoul, M. R. Ávila-Costa, I. Sánchez, I. López, G. Niño-Cabrera, F. Pasos, S. Acevedo, J. Espinosa, P. Aley y L. Colín-Barenque. 2002. Efecto del vanadio sobre la citología del bulbo olfatorio de ratón (Datos no publicados). En: XLV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Colima, México.
- Alam, Z. I., A. Jenner, S. E. Daniel, A. J. Lees, N. Cairns, C. D. Marsden, P. Jenner y B. Halliwell. 1997. Oxidative DNA damage in the Parkinsonian brain: an apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra. *Journal of Neurochemistry*, **69**: 1196–1203.
- Alessio, L., M. Marinoni y A. Dell'Orto. 1988. Biological monitoring of vanadium. Pp. 427-436, en: W.T. Clarkson, L. Friberg, F. Nordberg y R. Sanger (eds.). *Biological monitoring of toxic metals*. Plenum Press, Nueva York.
- Alonso, F. J., R. Ma. Eibert, J. Ordaz y P. Vázquez. 2006. Análisis del deterioro en los materiales pétreos de edificación. *Revista Electrónica*, **3**: 23-32.
- Altamirano-Lozano, M, L. Álvarez-Barrera y E. Roldán-Reyes. 1993. Cytogenetic and teratogenic effects of vanadium pentoxide on mice. *Medical Science Research*, **21**: 711-713.
- Angoa, M y S. Rivas. 2006. Acciones protectoras de los estrógenos en el sistema nervioso central. *Revista de la Facultad de Medicina*, **49**: 248-251.
- Antipov, A. N. 2013. Vanadium in Live Organisms. Pp. 2297-2306, en: R. Kreitsinger, R. Permyakov y V. N. Uversky (eds.). *Encyclopedia of metalloproteins*. Springer Editions, EE.UU.
- Antonio, V., M. Ceballos, P. De la Cruz, C. Moreno y J. D. Villaseñor. 2011. Toxicología Ambiental. <<http://toxicologia-ambiental.blogspot.mx/2011/10/23-absorcion.html>> Consultado el 29 de octubre de 2013.
- Arenas-Amaya, A. A. 2012a. Efecto de la Exposición por Inhalación de Vanadio Sobre la Mucosa Olfatoria en un Modelo Murino. Diferencia por sexo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Arenas-Amaya, A. A., L. Colín-Barenque; S. A. Reséndiz-Avenidaño, P. Bizarro-Nevarez V. Rodríguez-Mata, A. Gonzalez-Villalba, T. I. Fortoul. 2012b. Efecto de la carnosina sobre la mucosa olfatoria de ratón en un modelo de inhalación a vanadio (Datos no publicados). En: XXXV Congreso Nacional de Histología. Distrito Federal, México.

- Arlt, S., U. Beisiegel y A. Kontush. 2002. Lipid peroxidation in neurodegeneration: new insights into Alzheimer's disease. *Current Opinion Lipidol*, **13**: 289–294.
- Armas, Ma. T., A. Mederos, P. Gili, S. Domínguez, R. Hernández-Molina, P. Lorenzo, S. Vaz-Júnior, E. J. Baran, M. L. Araujo, V. Lubes y F. Brito. 2002. Speciation in oxovanadium (IV)-carnosine system. *Polyhedron*, **21**: 1513-1521.
- Armenta, M., P. Camacho, M. Flores, G. García, F. Hernández, A. López, M. Mendoza, S. Mendoza, G. Ramos y S. Siles. 2010. *Inventario de emisiones de contaminantes criterio de la ZMVM 2008*. Secretaria del Medio Ambiente del Gobierno del Distrito Federal, México.
- Artero, C., E. Martí, S. Biffo, B. Mulatero, C. Andreone, F. L. Margolis y A. Fasolo. 1991a. Carnosine in the brain and olfactory system of Amphibia and Reptilia: a comparative study using immunocytochemical and biochemical methods. *Neuroscience Letters*, **130**: 182–186.
- Artero, C., B. Mulatero, S. Biffo, C. Andreone, S. Gozzo, F. L. Margolis, and A. Fasolo. 1991b. Distribution of carnosine-like immunoreactivity in the brain of the crested newt *Brain Behavior and Evolution*, **37**: 168-178.
- Astiz, M. 2009. Efecto de contaminantes ambientales sobre el metabolismo lipídico y el sistema de defensa antioxidante en tejido de rata. Tesis de doctorado. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
- Ávila-Costa, M. R., E. Montiel, L. Colín-Barenque, J. L. Ordoñez, A. L. Gutiérrez, H. G. Niño-Cabrera, P. Mussali-Galante y T. I. Fortoul. 2004. Nigrostriatal modifications after vanadium inhalation: an immunocytochemical and cytological approach. *Neurochemical Research*, **29**: 1365-1369.
- Ávila-Costa, M. R., L. Colín-Barenque, A. Zepeda-Rodríguez, S. B. Antuna, L. Saldivar, G. Espejel-Maya P. Mussali-Galante, M. C. Ávila-Casado, A. Reyes-Olivera, V. Anaya-Martínez, T. I. Fortoul. 2005. Ependymal epithelium disruption after vanadium pentoxide inhalation. A mice experimental model. *Neuroscience Letters*, **381**: 21-25.
- Ávila-Costa, M. R., T. I. Fortoul, G. Niño-Cabrera, L. Colín-Barenque, P. Bizarro-Neves, A. L. Gutiérrez-Valdez, J. L. Ordóñez-Librado, V. Rodríguez-Lara, P. Mussali-Galante, P. Díaz-Bech, V. Anaya-Martínez. 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.
- Ayres, S. A., M. Tang, M. T. Subbiah. 1997. Estradiol-17β as an antioxidant: Some distinct features when compared with common fat-soluble antioxidants. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **128**: 367-375.
- Bakardijiev, A. 1997. Biosynthesis of carnosina in primary cultures of rat olfactory bulb. *Neuroscience Letters*, **16**: 115118.

- Baker, H. 1995. Transport Phenomena within the Olfactory System. Pp. 1-81, en: R. L. Doty (ed.). *Handbook of Olfaction and Gustation*, Marcel Dekker, EE. UU.
- Baran, E. J. 1998. Vanadium Detoxification. Pp. 317, en: J. O. Nriagu (ed.) *Vanadium in the Environment*. Part II: Health Effects, John Wiley and Sons, Nueva York.
- Baran, E. J. 2008. Vanadium Detoxification: Chemical and Biochemical Aspects. *Chemistry and Biodiversity*, **5**: 1475-1484.
- Barceloux, D.G. 1999. Vanadium. *Clinical Toxicology*, **37**: 265–278.
- Barnham, K., C. Masters y A. Bush. 2004. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nature Reviews Drug Discovery*, **3**: 205-214.
- Barnham, K. y A. Bush. 2008. Metals in Alzheimer's and Parkinson's disease. *Current Opinion in Chemical Biology*, **12**: 222-228.
- Baroch, E.F. 1983. Vanadium and Vanadium Alloys. Pp. 673-710, en: R. E. Kirk, D. F. Othmer, J. I. Kroschwitz y M. Howe-Grant (eds.). *Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley & Sons, Nueva York.
- Barth, A. A.W. Schaffer, C. Konnaris, R. Blauensteines, R. Winker, W. Osterode y H. W. Rüdiger. 2002. Neurobehavioral effects of vanadium. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, **65**: 677-683.
- Behl, C., T. Skutella, F. Lezoualc'h, A. Post, M. Widmann, C. J. Newton y F. Holsboer. 1997. Neuroprotection against oxidative stress by estrogens: structure-activity relationship. *Molecular Pharmacology*, **51**: 535–541.
- Bellanti, F., M. Matteo, T. Rollo, F. De Rosario, P. Greco, G. Vendemiale y G. Serviddio. 2013. Sex hormones modulate circulating antioxidant enzymes: Impact of estrogen therapy. *Redox Biology*, **1**: 340-346.
- Bender, R., L. Zhou, W. Wilkars, L. Fester, J. S. Lanowski, D. Paysen, A. König, G. M. Rune. 2010. Roles of 17  $\beta$ -estradiol involve regulation of reelin expression and synaptogenesis in the Dentate Gyrus. *Cerebral Cortex*, **20**: 2985-2995.
- Bernal-Mondragón, C., S. Rivas-Arancibia, K. M. Kendrick y R. Guevara-Guzmán. 2013. Estradiol prevents olfactory dysfunction induced by A- $\beta$  25–35 injection in hippocampus. *BMC Neuroscience*, **14**: 104.
- Biffo, S., M. Grillo y F. L. Margolis. 1990. Margolis. Cellular localization of carnosine-like and anserine like immunoreactivities in rodent and avian central nervous system. *Neuroscience*, **35**: 637-651.
- Birge, S. J. 1997. The role of estrogen in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurology*, **48**: 36–41.

- Boldyrev, A. A. S. L. Stvolinsky, O. V. Tyulina, V. B: Koshelev y D. O. Carpenter. 1997. Biochemical and physiological evidence that carnosine is an endogenous neuroprotector against free radicals. *Cellular and Molecular Neurobiology*, **17**: 259–271
- Boldyrev, A. A., R. Song, D. Lawrence y D. O. Carpenter. 1999. Carnosine protects against excitotoxic cell death independently of effects on reactive oxygen species. *Neuroscience*, **94**: 571–577.
- Boldyrev, A. A., T. Fedorova, M. Stepanova, I. Dobrotvorskaya, E. Kozlova, N. Boldanova, G. Bagyeva, I. Ivanova-Smolenskaya y S. Illarionov. 2008. Carnosine increases efficiency of DOPA therapy of Parkinson's disease: A Pilot Study. *Rejuvenation Research*, **11**: 1-8.
- Bourne, J. y K. Harris. 2007. Dendritic Spines.  
<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0000093.pub2/full>>  
Consultado el 14 de marzo de 2012.
- Bracken, W.M., R. P. Sharma y Y. Y. Elsne. 1985. Vanadium accumulation and subcellular distribution in relation to vanadate induced cytotoxicity *in vitro*. *Cell. Biology Toxicology*, **1**: 259–68.
- Brodohl, S., C. Klingner, G. F. Volk, T. Bitter, O. W. Witte y C: Redecker. 2012. Decreased olfactory bulb volume in idiopathic Parkinson's disease detected by 3.0-tesla magnetic resonance imaging. *Movement Disorders*, **27**: 1019-1025.
- Buettner, G. R. 1993. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation,  $\alpha$ -tocopherol, and ascorbate. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **300**: 535-543.
- Butterfield, D. A., A. Castegna, C. M. Lauderback y J. Drake. 2002. Evidence that amyloid  $\beta$ -peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. *Neurobiology of Aging*, **23**: 655–664.
- Byczkowski, J. Z. y A. P. Kulkarni. 1996. Pro-oxidant Biological Effects of Inorganic Component of Petroleum: Vanadium and Oxidative Stress.  
<[www.stormingmedia.us](http://www.stormingmedia.us)> Consultado el 23 de octubre de 2013.
- Calderón-Garcidueñas L, G. Valencia-Salazar, A. Rodríguez-Alcaraz, T. M. Gambling, R. García, N. Osnaya, A. Villarreal-Calderón, R. B. Devlin y J. L. Carson. 2001. Ultrastructural nasal pathology in children chronically and sequentially exposed to air pollutants. *American Journal Respiratory Cell and Molecular Biology*, **24**:132–138.
- Calderón-Garcidueñas L, W. Reed, R. R. Maronpot, C. Henriquez-Roldan, R. Delgado-Chávez, A. Calderón-Garcidueñas, I. Dragustinovis, M. Franco-Lira, M. Aragón-Flores, A. C. Solt, M. Altenburg, R. Torres-Jardón y J. A. Swenberg. 2004. Brain

- inflammation and Alzheimer's like pathology in individuals exposed to severe air pollution. *Toxicologic Pathology*, **32**: 650–658.
- Calderón-Garcidueñas L., M. Franco-Lira, C. Henriquez-Roldan, N. Osnaya, A. González-Maciel, R. Reynoso-Robles. 2010. Urban air pollution: influences on olfactory function and pathology in exposed children and young adults. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **62**: 91–102.
- Calderón-Garcidueñas, L., A. Serrano-Sierra, R. Torres-Jardón, H. Zhu, Y. Yuan, D. Smith, R. Delgado-Chávez, J. V. Cross, H. Medina-Cortina, M. Kavanaugh, T. R. Guilarte. 2013. The impact of environmental metals in young urbanites' brains. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **65**: 503–511.
- Camacho, P., P. Paz, S. Mendoza y S. Rodríguez. 2012. Inventario de emisiones de la Zona Metropolitana del Valle de México. Contaminantes tóxicos 2010. Secretaría del Medio Ambiente, México.
- Capella, L. S., M. R. Gefé, E. F. Silva, O. Affonso-Mitidieri, A. G. Lopes, V. M. Rumjanek y M. A. M. Capella. 2002. Mechanisms of vanadate-induced celular toxicity: role of celular glutathione and NADPH. *Archives of biochemistry and Biophysics*, **406**: 65-72.
- Carson, B.L., H.V. Ellis y J.L. McCann. 1987. *Toxicology and biological monitoring of metals in humans*. Lewis Publishers, Nueva York.
- Cervantes-Piza, 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. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Chacón, J., J. M. Morales y J. A. Jiménez. 2011. Patología de la Olfacción. Olfatometría manejo de los Problemas Olfativos. Capítulo 61. Pp. 1-14, en: Sociedad Español de Otorrinolaringología y Patología Cervico-Facial (ed.). *Libro Virtual de Formación en ORL*. <<http://www.seorl.net/gestor/upload/61clv.pdf>>. Consultado el 14 de enero de 2011
- Chatterjee, M., S. Das, M. Chatterjee y K. Roy. 2013. Vanadium in Biological Systems. Pp. 2293-2331, en: R. Kreitsinger, R. Permyakov y V. N. Uversky (eds.). *Encyclopedia of metalloproteins*. Springer Editions, USA.
- Cheng, J., F. Wang, D. Yu, P. Wu, J. Chen. 2011. The cytotoxic mechanism of malondialdehyde and protective effect of carnosina via protein cross-linking/mitochondrial dysfunction/reactive oxygen species/MAPK pathway in neurons. *European Journal of Pharmacology*, **650**: 184-194.
- Chiueh, C., S. Lee, T. Andoh y D. Murphy. 2003. Induction of antioxidative and antiapoptotic thioredoxin supports neuroprotective hypothesis of estrogen. *Endocrine*, **21**: 27-32.

- Cohen, M. D. 2004. Pulmonary immunotoxicology of select metals: aluminum, arsenic, cadmium, chromium, copper, manganese, nickel, vanadium, and zinc. *Journal of Immunotoxicology*, **1**: 39–69.
- Colín-Barenque, L., M. R. Ávila-Costa, I. Sánchez, I. López, G. Niño-Cabrera, F. Pasos, V. Delgado e I. T. Fortoul. 2003. Muerte neuronal en el bulbo olfatorio de ratón inducida por exposición subaguda y crónica de vanadio (Datos no publicados). En: XLVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Aguascalientes, México.
- Colín-Barenque, L. Y T. I. Fortoul. 2007. Oxidative stress and metals, en: T. I. Fortoul (ed.) *Metals and Toxicological Implications in Health*. Research Signpost, México.
- Colín-Barenque, L., M. G. Martínez-Hernández, L. A. Baiza-Gutman, M. R. Avila-Costa, J. L. Ordóñez-Librado, P. Bizarro-Nevarés, V. Rodríguez-Lara, G. Piñón-Zarate, M. Rojas-Lemus, P. Mussali-Galante y T. I. Fortoul. 2008. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in central nervous system and their modification after vanadium inhalation. *Journal of Applied Toxicology*, **28**: 718-723.
- Colín-Barenque, L., J. Pedraza-Chaverri, O. Medina-Campos, R. Jiménez-Martínez, P. Bizarro-Nevarés, A. Arenas, A. Gonzalez-Villalva, M. Rojas-Lemus A. Zepeda, F. Pasos y T. I. Fortoul. 2011a. Efecto de la carnosina en la función olfatoria y en la actividad de la GPX y GR en un modelo murino por inhalación de vanadio (Datos no publicados). En: LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Guanajuato, México.
- Colín-Barenque, L., P. Bizarro-Nevarés, R. Jimenez-Martínez, A. Arenas, A. Zepeda, F. Pasos, P. Aley, A. Gonzalez-Villalva, M. Rojas-Lemus, C. Vega, J. Espinosa-Villanueva y T. I. Fortoul. 2011b. Neuroprotección de la carnosina en la ultraestructura del bulbo olfatorio en un modelo murino por inhalación de vanadio (Datos no publicados). En: XI Interamerican Congress of Electron Microscopy CIASEM. Yucatán, México.
- Colín-Barenque, L, P. Bizarro-Nevarés, S. Reséndiz-Avendaño, R. Jiménez-Martínez, A. Arenas, A. Zepeda, F. Pasos, A. Gonzalez-Villalva, P. Aley, J. Espinosa-Villanueva, M. Rojas-Lemus, y T. I. Fortoul. 2012. Hippocampal ultrastructural changes in mice exposed to vanadium pentoxide and carnosina (Datos no publicados). En: I Congreso FALAN. Cancún, México.
- Colín-Barenque, L., S. Reséndiz Avendaño, P. Bizarro-Nevarés, A. Zepeda, F. Pasos, P. Aley, A. Gonzalez-Villalva, R. Jiménez-Martínez, M. Rojas-Lemus, J. Espinosa-Villanueva y T. I. Fortoul. 2013. La carnosina atenúa las alteraciones ultraestructurales del bulbo olfatorio de ratones macho y hembra expuestos a la inhalación de vanadio (Datos no publicados). En: XII Interamerican Congress of Electron Microscopy CIASEM. Cartagena, Colombia.
- Conri, C., M. Simonoff, B. Fleury y F. Mmoreau. 1986. Does vanadium play a role in depressive states? *Biological Psychiatry*, **21**: 546-548.

- Cooper, R. 2007. Vanadium pentoxide inhalation. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*, **11**: 97-102.
- Cooper, CD. y FC. Alley. 1986. *Air Pollution Control. A Design Approval, Prospect Heights*. Waveland Press, Illinois.
- Corona, C., V. Frazzini, E. Silvestri, R. Lattanzio, R. La Sorda, M. Piantelli, L. M. T. Canzoniero, D. Ciavardelli, E. Rizzarelli y S. L. Sensi. 2011. Effects of dietary supplementation of carnosine on mitochondrial dysfunction, amyloid pathology, and cognitive deficits in 3xTg-AD mice. *Plos One*, **6**: 1-8.
- Cortés-Torres, E. 2009. Efecto del pentóxido de vanadio en la concentración de las metaloproteasas (MMP-2 y 9) en estriado, hipocampo y plexo coroideo en un modelo murino de exposición por inhalación. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Crans, D.C., S. S. Amin y A. D. Keramidas. 1998. Chemistry of Relevance to Vanadium in the Environment. PP. 73-96, en: J.O. Nriagu (ed.). *Vanadium in the Environment. Primera parte: Chemistry and Biochemistry*. Wiley, Nueva York.
- Crans, D.C., J.J. Smee, E. Gaidamauskas y L. Yang. 2004. The chemistry and biochemistry of vanadium and biological activities exerted by vanadium compounds. *Chemical Reviews*, **104**: 849-902.
- Crush, K. G. 1970. Carnosine and related substances in animal tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **34**: 3-30.
- Cui, W. H. Cui, X. Peng, J. Fang, Z. Zhicai, X. Liu y B. Wu. 2012. Dietary vanadium induces decrease in antioxidant enzyme activities and oxidative stress in the spleens of broilers. *Medicinal Chemistry*, **2**: 033-037.
- Dauer, W. y S. Przedborski. 2003. Parkinson's disease: mechanisms and models, *Neuroscience Journal*, **39**: 889-909.
- Davie, C. A. 2008. A review of Parkinson's disease. *British Medical Bulletin*, **86**: 109-127.
- De Marchis, S., C. Modena, P. Peretto, A. Migheli, F. L. Margolis y A. Fasolo. 1999. Carnosine-related dipeptides in neurons and glia. *Biochemistry (Moscow)*, **65**: 824-833.
- Dexter, D. T., C Carter; F Wells, F Javoyagid, Y Agid, A Lees, P Jenner, y C. Marsden. 1989. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *Journal of Neurochemistry*, **52**: 381-389.
- Dorado-Martínez, C., C. Rugerio-Vargas y S. Rivas-Arancibia. 2003. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, **46**: 229-235.

- Doty, R. L. y J. M. Risser. 1989. Influence of the D-2 dopamine receptor agonist quinpirole on the odor detection performance of rats before and after spiperone administration. *Journal of Psychopharmacology*, **98**:310–5.
- Duchamp-Viret, P., V. Coronas, J. C. Delaleu, E. Moyse y A. Duchamp. 1997. Dopaminergic modulation of mitral cell activity in the frog olfactory bulb: a combined radioligand binding-electrophysiological study. *Neuroscience*, **79**: 203–216.
- EC, European Commission. 2004. *Second position paper on particulate matter*. CAFE Working Group on Particulate Matter.
- ECHE, Environment Canada and Health Canada. 2000. *Priority substances list assessment report, respirable particulate matter less than or equal to 10 microns*. Canadian Environmental Protection Act, 1999.
- Elinder, C.G., L. Gerhardsson, y G. Oberdoerster. 1988. Biological Monitoring of Toxic Metals-Overview, en: W.T. Clarkson, L. Friberg, F. Nordberg y R. Sanger (eds.) *Biological monitoring of toxic metals*. Plenum Press, Nueva York.
- Elliot, J. 1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, **53**: 46-48.
- Elsom, D. 1987. *Atmospheric Pollution: Causes, Effects and Control Policies*. Basil Blackwell, United Kingdom.
- Emsley, J. 1991. *The elements*. Clarendon, Oxford
- EPA, Environmental Protection Agency. 1996. *Sampling of ambient air for total suspended particulate matter (SPM)*. Compendium of Methods for the Determination of Inorganic Compounds in Ambient Air. EPA/625/R-96/010A.
- EPA, Environmental Protection Agency. 1999. *Compendium of method for determination of inorganic compounds in ambient air. Continuous measurement of PM-10 suspended particulate matter (SPM) in ambient air*. EPA/625/R-96/010a.
- EPA, Environmental Protection Agency, 2002. *Third external review draft of air quality criteria for particulate matter*. Air Quality Criteria for Particulate Matter. EPA/600/P-99/002aC.
- EPA, Environmental Protection Agency. 2013. Particulate Matter.  
<<http://www.epa.gov/pm/basic.html>> Consultado el 19 de septiembre de 2013.
- Escalante-Gómez, C., S. Quesada-Mora y F. Zeledón-Sánchez. 2009. Perfil oxidativo de la mujer menopáusica: Papel de los estrógenos en la prevención y tratamiento de las enfermedades. *Acta Médica Costarricense*, **51**: 206-212.

- Falcón-Rodríguez, C. I. 2008. Alteraciones morfológicas pulmonares inducidas por la inhalación de vanadio: estudio comparativo en rata y ratón. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Fantus, I.G., G Deragon, R. Lai y S. Tang. 1995. Modulation of insulin action by vanadate: evidence of a role for phosphotyrosine phosphatase activity to alter cellular signaling. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **153**: 103–112.
- Feng, J., Z. Yan, A. Ferreira, K. Tomizawa, J. A. Liauw, M. Zhuo, P. B. Allen, C. C. Ouimetll y P. Greengard. 2000. Spinophilin regulates the formation and function of dendritic spines. *PNAS*, **97**: 9287-9292.
- Farid, E., M. Abozid y E. Mahmoud. 2012. Short term effects of vanadium and nickel intoxication on rat's liver antioxidant defense system. *International Journal of Academic Research*, **4**: 23-28.
- Ferrer-Sánchez, I. 2009. Caracterización de la función de Espinofilina y de su capacidad de actuar como supresor tumoral *in vivo*. Tesis de doctorado. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, España.
- Ferriero, D. y F. L. Margolis. 1975. Denervation in the primary olfactory pathway in mice II. Effects on carnosina and other amine compounds. *Brain Research*, **94**: 75-79.
- Fischer, M., S. Kaech, D. Knutti y A. Matus. 1998. Rapid actin-based plasticity in dendritic spines. *Neuron*, **20**: 847-854.
- Fonteh, A. N., R. J. Harrington, A. Tsai, P. Liao y M. G. Harrington. 2006. Free amino acid and dipeptide changes in the body fluids from Alzheimer's disease subjects. *Amino Acids*, **32**: 213-224.
- Fortoul, T. I., P. Bizarro-Nevares, S. Acevedo-Nava, G Piñón-Zárate, V. Rodríguez-Lara, Laura Colín-Barenque, P. Mussali-Galante, M. C. Ávila-Casado, M. R. Ávila-Costa y Liliana Saldivar-Osorio. 2007. Ultrastructural findings in murine seminiferous tubules as a consequence of subchronic vanadium pentoxide inhalation. *Reproductive Toxicology*, **23**: 588-592.
- Fortoul, T. I. y M. Rojas-Lemus. 2007. Vanadium as an Air Pollutant. P.p. 1-6, en: T. I. Fortoul y M. R. Ávila-Costa. (eds.) *Vanadium: It's Impact on Health*. Nova Science Publishers, E. U. A.
- Franceschutti, D., J. Baldwin, L. Lee y B. Mutus. 1996. Peroxynitrite modification of glutathione reductase: modeling studies and kinetic evidence suggest the modification of tyrosines at the glutathione disulfide binding site. *Protein Engineering*, **9**: 189-194.
- French, R.J. y J. H. Jones. 1993. Role of vanadium in nutrition: metabolism, essentiality and dietary considerations. *Life Science*, **52**: 339-346.

- Gabbita, S. P., M. A. Lovell y W. R. Markesbery. 1998. Increased nuclear DNA oxidation in the brain in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, **71**: 2034–2040.
- Gaines, A. 2010. Anosmia and hyposmia. *Allergy and Asthma Proceedings*, **31**: 185-189.
- García G.B., A. D. Quiroga, N. Stürtz y M. E. Biancardi. 2004. Morphological alterations of central nervous system myelin in vanadium (V) exposed adult rats. *Drug and Chemical Toxicology*, **27**: 1-13.
- García, G.B., M.E Biancardi y A. D. Quiroga. 2005. Vanadium-induced neurotoxicity in the rat central nervous system: a histo-immunohistochemical study. *Drug and Chemical Toxicology*, **28**: 329-344.
- García, G. B. 2006. El vanadio, un elemento ambiguo. *Acta Toxicológica de Argentina*, **14**: 32-36.
- García-Ibarra, F. A. 2014. Efecto del ácido ascórbico sobre las alteraciones morfofisiológicas del ovario inducidas por la inhalación de vanadio en un modelo Murino. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Gatcum, H. y T; Jacob. 2001. Anosmia.  
<<http://www.cf.ac.uk/biosi/staffinfo/jacob/Anosmia/anosmia.html>> Consultado el 14 de enero de 2012.
- Geiser, M., B. Rothen-Rutishauser, N. Kapp, W. Kreyling, H. Schulz, M. Semmler, V. Im Hof, J. Heyder y P. Gehr. 2005. Ultrafine –particles cross cellular membranes by noophagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. *Environmental Health Perspectives*, **113**: 1555-1560.
- Ghio, A. J., R. Silbajoris, J. L. Carson y J. M. Samet. 2002. Biologic effects of oil fly ash. *Environmental Health Perspectives*, **110**: 89–94.
- González-Villalva, A. E. 2012. Efecto del vanadio en la megacariopoyesis y sus consecuencias en la función plaquetaria. Tesis de doctorado. Facultad Medicina, UNAM, México.
- González-Villalva, A., G. Piñón-Zarate, C. Falcón-Rodríguez, N. López-Valdez, P. Bizarro-Nevares, M. Rojas-Lemus, E. Rendón-Huerta, L. Colín-Barenque y T. Fortoul. 2014. Activation of Janus kinase/signal transducers and activators of transcription pathway involved in megakaryocyte proliferation induced by vanadium resembles some aspects of essential thrombocythemia. *Toxicology and Industrial Health*, doi: 10.1177/0748233713518600.
- Guerra, E. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, **18**: 50-59.
- Guevara-Guzmán, R., V. Arriaga, K. M. Kendrick, C. Bernal, X. Vega, O. F. Mercado-Gómez y S. Rivas-Arancibia. 2009. Estradiol prevents ozone-induced increases in brain lipid

- peroxidation and impaired social recognition memory in female rats. *Neuroscience*, **159**: 940-950.
- Haehner, A., T. Hummel y H. Reichmann. 2009. Olfactory dysfunction as a diagnostic marker for Parkinson's disease. *Expert Reviews of Neurotherapeutics*, **9**: 1773-1779.
- Halliwell, B. y J. M. C. Gutteridge. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Science Publications, United Kingdom.
- Hansen, T. V., J. Aaseth y J. Alexander. 1982. The effect of chelating agents on vanadium distribution in the rat body and on uptake by human erythrocytes. *Journal Archives of Toxicology*, **50**: 195-202.
- Harding, J. W. y J. V. O'Fallon. 1978. The subcellular distribution of carnosine, carnosine synthetasa, and carnosine in mouse olfactory tissues. *Brain Research*, **173**: 99-109.
- Heinz, A., K. A. Rubinson y J. J. Grantham. 1982. The transport and accumulation of oxyvanadium compounds in human erythrocytes *in vivo*. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **100**: 593-612.
- Hernández, F., MC. Mendoza, MC. Ruiz, M. Armenta, M. Flores, P. Camacho, P. Paz, R. Daniela, S. Mendoza, S. Siles, S. Rodríguez y V. Reyes. 2010. *Inventario de Emisiones de la Zona Metropolitana del Valle de México. Contaminantes Criterio 2010*. Secretaría del Medio Ambiente, México.
- Hipkiss, A. 2010. Aging, proteotoxicity, mitochondria, glycation, NAD<sup>+</sup> and carnosine: possible inter-relationships and resolution of the oxygen paradox. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **2**: 1-6.
- Hobart, L., I. Seibel, G. S. Yeargans, N. W. Seidler. 2004. Anti-crosslinking properties of carnosine: significance of histidine. *Life Science*, **75**: 1379-1389.
- Horning, M., L. Blakemore y P. Trombley. 2000. Endogenous mechanisms of neuroprotection: role of zinc, copper, and carnosine. *Brain Research*, **852**: 56-61.
- Hsia, A.Y., J. D. Vincent, P.M. Lledo. 1999. Dopamine depresses synaptic inputs into the olfactory bulb. *Journal of Neurophysiology*, **82**: 1082-1085.
- Hsieh-Wilson, L. F. Benfenati, G. L. Snyder, P. B. Allen, A. C. Nairn y P. Greengard. 2002. Phosphorylation of spinophilin modulates its interaction with actin filaments. *The Journal of Biological Chemistry*, **278**: 1186-1194.
- Huisman, E., H. B. M. Uylings y P. V. Hoogland. 2004. A 100% increase of dopaminergic cells in the olfactory bulb may explain hyposmia in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, **19**: 687-692.

- IARC, International Agency for Research in Cancer. 2003. Vanadium pentoxide. *Monographs*, **86**: 225-292.
- INE, Instituto Nacional de Ecología. 2011. *Guía Metodológica para la Estimación de Emisiones de PM<sub>2.5</sub>*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, México.
- INECC, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. 2012. Metales Pesados <<http://www.inecc.gob.mx/sqre-temas/763-aqre-metales#3>>. Consultado el 12 de Octubre de 2012.
- INECC, Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. 2013. Contaminantes Criterio <<http://www.inecc.gob.mx/calair-indicadores/523-calair-cont-criterio>> Consultado el 7 de septiembre de 2013.
- IPCS, International Programme on Chemical Safety. 1988. Vanadium environmental health criteria. *World Health Organisation*, **81**, Ginebra.
- IPCS, International Programme on Chemical Safety. 2001. Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds. *World Health Organisation*, **29**, Ginebra.
- Jiménez, L. F. y H. Merchant. 2003. El Citoesqueleto. P.P. 273-293, en: L. F. Jiménez y Merchant (eds.). *Biología Celular y Molecular*. Pearson Education, México.
- Jiménez-Martínez, R. S. 2009. Daño oxidante en corteza cerebral y plexo coroideo de ratones expuestos a pentóxido de vanadio por vía inhalada. Tesis de licenciatura. Facultad Ciencias, UNAM, México.
- Jiménez-Martínez, R. S. 2012. Neurogénesis en el bulbo olfatorio en un modelo de exposición a vanadio por vía inhalada. Diferencia por sexo Tesis de maestría. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México.
- Kalaz, E., B. Evran, S. Develi-İş, P. Vural, S. Doğru-Abbasoğlu y M. Uysal. 2012. Effect of carnosine on prooxidant–antioxidant balance in several tissues of rats exposed to chronic cold plus immobilization stress. *Journal of Pharmacology Science*, **120**: 98-104.
- Kawas, C., S. Resnick, A. Morrison, R. Brookmeyer, M. Corrada, A. Zonderman, C. Bacal, D. D. Lingle y E. Metter E. 1997. A prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Neurology*, **48**: 1517–1521.
- Kelly, M. y O. K. Rønnekleiv. 2009. Control of CNS neuronal excitability by estrogens via membrane-initiated signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **308**: 17-25.
- Koen, R., Y. Yamamoto, K. C. Cundy y B. N. Ames. 1987. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. *Proceedings of the National Academy of Science*, **85**: 3175-3179.

- Koster, N. L., A. B. Norman, N. M. Richtand, W. T. Nickell, A. C. Puche, S. K. Pixley y M. T. Shipley. 1999. Olfactory receptor neurons express D2 dopamine receptors. *Journal of Comparative Neurology*, **411**: 666–673.
- Kovács, T., N. J. Cairns y P. L. Lantos. 2001. Olfactory centres in Alzheimer's disease: olfactory bulb is involved in early Braak's stages. *Neuroreport*, **12**: 285-288.
- Krewski, D. y D. Rainham. 2007. An international sourcebook of automobile dependence in cities 1960-1990. University Press of Colorado, E.U.A.
- Lafreniere, D. y N. Mann. 2009. Anosmia: loss of smell in the elderly. *Otolaryngologic Clinics of North America*, **42**: 123-131.
- Lagerkvist, G., G. F. Nordberg y V. Vouk .1986. Vanadium. Pp. 638-663, en: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Vol. 2. Elsevier Science Publishing, Amsterdam.
- Lara, F., A. Ramírez y S. Pérez. 2005. *Informe Climatológico Ambiental del Valle de México*. Secretaria del Medio Ambiente, México.
- Leonard, S., J. Bower y X. Shi. 2004. Metal-Induce toxicity, carcinogenesis, mechanisms and cellular responses. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **255**: 3-10.
- Lepousez, G., M. Valley y P-M. Lledo. 2013. The impact of adult neurogenesis on olfactory bulb circuits and computations. *Annual Review of Physiology*, **75**: 339-363.
- Li, C., W. G. Brake, R. D. Romeo, J. C. Dunlop, M. Gordon, R. Buzescu, A. M. Magarinos, P. B. Allen, P. Greengard, V. Luine, y B. S. McEwen. 2004. Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *PNAS*, **101**: 2185-2190.
- Lippmann, M. 1989. Size-Selective Health Hazard Sampling Pp. 163-198, en: S. V. Hering (ed.) *Air sampling Instruments for Evaluation of Atmospheric Contaminants*. American Conference of Governmental Industrial Hygienist, Ohio.
- López-Valdez, N. 2008. Efecto de la inhalación de pentóxido de vanadio en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano: estudio en ratón. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Luine, V., S. T. Richards, V. Y. Wu y K. D: Beck. 1998. Estradiol Enhances Learning and Memory in a Spatial Memory Task and Effects Levels of Monoaminergic Neurotransmitters. *Hormones and Behavior*, **34**: 149-162.
- Luzzi, S, J. S. Snowsen, D. Neary, M. Coccia, L. Provinciali y M. A. Lambon-Ralph. 2007. Distinct patterns of olfactory impairment in Alzheimer's disease, semantic dementia, frontotemporal dementia, and corticobasal degeneration. *Neuropsychologia*, **45**:1823–1831.
- Margolis, F. 1974. Carnosine in the primary of olfactory pathway. *Science*, **184**: 909–914

- Margolis, F. L. 1980. Carnosine: An olfactory Neuropeptide. Pp. 545-572, en: J. L. Barker y T. G. Smith (eds.). *The Role of Peptides in Neuronal Function*. Marcel Dekker INC., Nueva York.
- Margolis, F. L., y M. Grillo. 1984. Carnosine, homocarnosine and anserine in vertebrates retinas. *Neurochemistry. International*, **6**: 207-209.
- Markides, C., D. Roy, G. Liehr. 1998. Concentration dependence of prooxidant and antioxidant properties of catecholestrogens. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **360**: 105-112.
- Martínez, I., M. Periago y G. Ros. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, **50**: 5-15.
- Martínez, J. M. y M. Á. Moya. 2002. Enfermedad de Alzheimer. Pp. 71-84, en: J. M. Segovia de Arana y F. Mora (eds.) *Enfermedades Neurodegenerativas*. Farmaindustria. Serie Científica, Madrid.
- Martínez-Báez, V. 2011. Alteración en la presencia de proteínas: TGF-beta, MMP-2, MMP-9 y VEGFR2 en megacariocitos de bazo de ratones expuestos a la inhalación de pentóxido de vanadio. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Martínez-Pedraza, M. 2007. Efecto del pentóxido de vanadio en ovario y epitelio vaginal: modelo murino de exposición por inhalación. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Masaoka Y., N. Yoshimura, M. Inoue, M. Kawamura e I. Homma. 2007. Impairment of odor recognition in Parkinson's disease caused by weak activations of the orbitofrontal cortex. *Neuroscience Letters*, **412**: 45-50.
- McEwen, B. 2001. Estrogen effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *Journal of Applied Physiology*, **91**: 2785-2801.
- Meléndez-García, N. A. 2014. Efectos de la inhalación de vanadio en la morfofisiología del útero de ratones cd1. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Mendoza, N. 2008. *Farmacología Médica*. Editorial Médica Panamericana, México.
- Michaluk, P., M. Wawrzyniak, P. Alot, M. Szczot, P. Wyrembek, K. Mercik, N. Medvedev, E. Wilczek, M. De Roo, W. Zuschratter, D. Muller, G. M. Wilczynsk, J. W. Mozrzymas, M. G. Stewart, L. Kaczmarek y J. Włodarczyk. 2011. Influence of matrix metalloproteinase MMP-9 on dendritic spine morphology. *Journal of Cell Science*, **124**: 3369-3380.
- Minati, L. T. Edginton, M. Bruzzone y G. Giaccone. 2009. Current concepts in alzheimer's disease: a multidisciplinary review. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, **24**: 95-121.

- Mondragón, A. L. Colín-Barenque, P. Mexza, M. R. Ávila-Costa, I. Sánchez, I. López, G. Niño-Cabrera, F. Pasos, V. Delgado, J. Ordóñez, A. Gutiérrez, P. Aley y T. I. Fortoul. 2003. Efecto de la inhalación crónica de vanadio sobre la citología del bulbo olfatorio de ratón (Datos no publicados). En: XLVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Aguascalientes, México.
- Moscoso-Caballero, F. F. 2010. 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. Diferencia por género. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México.
- Mukherjee, B., B. Patra, S. Mahapatra, P. Banerjee, A. Tiwari y M. Chatterjee. 2004. Vanadium-an element of atypical biological significance. *Toxicology Letter*, **150**:135–143.
- Mukherjee, B., S. Halder, M. K. Ghosh y R. Manasadeepa. 2013. Vanadium Ions and Proteins, Distribution, Metabolism, and Biological Significance. Pp. 2306-2316, en: R. Kreitsinger, R. Permyakov y V. N. Uversky (eds.). *Encyclopedia of metalloproteins*. Springer Editions, E.U.A.
- Mungarro-Menchaca, X. F. 2009. Estudios sobre la pérdida sináptica y la muerte neuronal que ocurre en la enfermedad de Alzheimer: papel de la proteína  $\beta$ -amiloide, alteraciones del ciclo celular y apoptosis. Tesis de Doctorado. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México.
- Murphy, D., N. B. Cole, V. Greenberger y M. Sagal. 1998. Estradiol increases dendritic spine density by reducing GABA neurotransmission in hippocampal neurons. *The Journal of Neuroscience*, **18**: 2550-2559.
- Mussali-Galante, P., V. Rodríguez-Lara, B. Hernández-Tellez, M. R. Ávila-Costa, L. Colín-Barenque, P. Bizarro-Nevarez, G. Martínez-Levy, M. Rojas-Lemus, G. Piñón-Zarate, L. Saldivar-Osorio, P. Díaz-Beck, M. A. Herrera-Enríquez, E. Tovar-Sánchez y T. I. Fortoul. 2005. Inhaled vanadium pentoxide decrease gamma-tubulin of mouse testes at different exposure times. *Toxicology and Industrial Health*, **21**: 1-8.
- Mussali-Galante, P., V. Rodriguez-Lara, M. R. Avila-Costa y T. I. Fortoul. 2007. Mechanisms of Vanadium Toxicity. P.p. 7-19, en: T. I. Fortoul y M. R. Ávila-Costa. (eds.) *Vanadium: It's Impact on Health*. Nova Science Publishers, E. U. A.
- Mwakikunga, B. W. 2013. Vanadium Metal and Compounds, Properties, Interactions, and Applications. Pp. 2316-2324, en: R. Kreitsinger, R. Permyakov y V. N. Uversky (eds.). *Encyclopedia of metalloproteins*. Springer Editions, USA.
- Nieuwenhuys, R., J. Voogd y C. van Huijszen. 2009. *El sistema Nervioso Central Humano*. Tomo 2. Editorial Médica Panamericana, México.

- Nimchinsky, E., B. Sabatini y K. Svoboda. 2002. Structure and function of dendritic spines, *Annual Review of Physiology*, **64**: 313-353.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. 1995. Vanadio y algunas sales de vanadio. *Guía para la Salud y la Seguridad*. Organización Mundial de la Salud, Estado de México.
- Onursal, B. y S. Gautam. 1997. Contaminación atmosférica por vehículos automotores. Experiencias recogidas en siete centros urbanos de América Latina. *Documento Técnico del Banco Mundial*, **3735**: 135-289.
- Orozco, J. 2002. Enfermedad de Parkinson. *Carta de la Salud*, **69**: 1-4.
- Osuna, E. y A. Rubiano. 2010. Neuroanatomía Funcional.  
<<http://www.docentes.unal.edu.co/edosunas/docs/neuroanatomia%20funcional.pdf>  
> Consultado el 18 de Diciembre de 2013.
- Ozel, U., A. Bilgihan, G. Biberoglu y O. Mertoglu. 2010. Carnosine supplementation protects rat brain tissue against ethanol-induced oxidative stress. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **339**: 55-61.
- Pacheco-Calderón, J., P. Salas-Fernández y C. Rigo-Righi. 2006. Actividad Insulino-mimética del vanadio. *Revista de Química*, **20**: 3-10.
- Paniagua, R., M. Nistal, P. Sesma, M. Álvarez-Uría, B. Fraile, R. Anadón y F. Sáez. 2007. Citoesqueleto. P.p. 239-292, en: R. Paniagua, M. Nistal, P. Sesma, M. Álvarez-Uría, B. Fraile, R. Anadón y F. Sáez (eds.) *Biología Celular*, MacGraw Hill, Madrid.
- Pearce, R. K. B., C. H. Hawkes y S. E. Daniel. 2004. The anterior olfactory nucleus in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, **10**: 283-287.
- Pérez de Gante, C. L. 2008. Efecto genotóxico del pentóxido de vanadio en células de médula ósea: comparación por género en un modelo murino de exposición por inhalación. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Perry, G. R. Castellani, M. Smith, P. Harris, Z. Kubat, K. Ghanbari, P. Lones, G. Cordone, M. Tabaton, B. Wolozin y H. Ghanbari. 2003. Oxidative damage in the olfactory system in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, **106**: 552-556.
- Pessoa, J. C. y I. Tomaz. 2010. Transport of therapeutic vanadium and ruthenium complexes by blood plasma components. *Current Medical Chemistry*, **17**: 3701-3738.
- Pinching, A. J. y T. P. S. Powell. 1971a. The neuron types of the glomerular layer of the olfactory bulb. *Journal of Cell Science*, **9**: 305-345.
- Pinching, A. J. y T. P. S. Powell. 1971b. The neuropil of the glomeruli of the olfactory bulb. *Journal of Cell Science*, **9**: 347-377.

- Piñón-Zárate, G. 2005. Alteraciones morfológicas de bazo secundarias a la inhalación aguda, subaguda y crónica de pentóxido de vanadio: modelo en ratón. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Piñón-Zárate, G. 2008. Alteraciones de las poblaciones celulares del timo de ratones expuestos a pentóxido de vanadio inhalado. Tesis de maestría. Facultad Medicina, UNAM, México.
- Pisano, J. J., J. D. Wilson, L. Cohen, D. Abraham y J. Udenfriend. 1961. Isolation of gamma-aminobutyrylhistidine (homocarnosine) from brain. *The Journal of Biological Chemistry*, **236**: 499-502.
- Ponciano-Rodríguez, G. y Rivero-Serrano, O. 1996. Factores Ambientales y Salud en el Ambiente Urbano. El Caso de La Zona Metropolitana de la Ciudad de México. Pp. 443-456, en: O Rivero-Serrano y G Ponciano-Rodríguez, (eds.) *Riesgos Ambientales para la Salud en la Ciudad de México*. Programa Universitario de Medio Ambiente, México.
- Prieto, L. 2010. Romper el proceso de envejecimiento cutáneo: activos dermocosméticos. *Medicina Cutánea Ibero-Latino Americana*, **38**: 95-100
- Quinn, P. J., A. A. Boldyrev y V. E. Formazuyk. 1992. Carnosine: its properties, functions and potential therapeutic applications. *Molecular Aspects of Medicine*, **13**: 379-444.
- Rehder, D. 2003. Biological and medicinal aspects of vanadium. *Inorganic Chemistry Communications*, **6**: 604-617.
- Riesgo-Escovar, J. R. 1995. La Neurotransmisión en las Neuronas Receptoras Olfatorias. Pp. 101-117, en: F. Bermudes, J. A. García-Sáinz, M. Hiriart, F. Jaramillo, J. M. León, A. M. López, G. Meza, H. Pasantes-Morales, O. Ramírez y M. Salas (eds.) *Neurobiología de los Sistemas Sensoriales*, UNAM, México.
- RILLC, Radian International LLC. 1997. *Manuales del Programa de Inventarios de Emisiones de México. Volumen II*. Fundamentos de Inventarios de Emisiones Final. E.U.A, EE.UU.
- Rochel, S. y F. L. Margolis. 1982. Carnosine release from olfactory bulb synaptosomes is calcium-dependent and depolarization-stimulated. *Journal of Neurochemistry*, **38**: 1505-1514.
- Rodríguez-Lara, V. 2008. Alteraciones morfológicas del núcleo de linfocitos de ratones expuestos a la inhalación aguda, subaguda y crónica de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: participación de las láminas nucleares. Tesis de maestría. Facultad Medicina, UNAM, México.
- Rodríguez-Lara, V, A. Morales-Rivero, A. Muñiz y T. Fortoul. 2013. Vanadium inhalation induces actin changes in mice testicular cells. *Toxicology and Industrial Health*, doi: 10.1177/0748233713501364

- Rodríguez-Mercado J. J. y M. A. Altamirano-Lozano. 2006. Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, **22**: 173-189.
- Rojas-Bracho, L. y Garibay-Bravo. 2003. Partículas suspendidas aeropartículas o aerosoles ¡Hacen daño a la salud! *Gaceta ecológica*, **69**: 29-44.
- Rojas-Lemus, M. 2006. Pentóxido de vanadio y cloruro de manganeso: comparación de sus efectos genotóxicos en leucocitos: modelo murino de exposición por inhalación. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Rojas-Lemus, M. 2009. Comparación por Género y por Edad de los Efectos Genotóxicos Producidos por la Inhalación de Pentóxido de Vanadio, Cloruro de Manganeso y su Mezcla. Tesis de maestría. Facultad Medicina, UNAM, México.
- Romieu, I. y V.H. Borja-Aburto. 1997. Particulate air pollution and daily mortality: Can results be generalized to Latin America Countries? *Salud Pública de México*, **39**: 403-411.
- Ryan, L. K. 2013. Vanadium Pentoxide Effects on Lungs. Pp. 2324-2330, en: R. Kreitsinger, R. Permyakov y V. N. Uversky (eds.). *Encyclopedia of metalloproteins*. Springer Editions, USA.
- Sakai, M., K. Kani, N. Karasawa, M. Yoshida y I. Nagatsu. 1988. Carnosine-like immunoreactivity in the olfactory bulb of the rat: an electron microscopic study. *Brain Research*, **438**: 335-338.
- Sánchez, D. J., T. Colomina y J. L. Domingo. 1998. Effects of vanadium on activity and learning in rats. *Physiology and Behavior*, **63**: 345-350.
- Sasi, M. M., S. S. Haider, M-El Fakhri y K. M. Ghwarsha. 1994. Microchromatographic analysis of lipids, protein, and occurrence of lipid peroxidation in various brain areas of vanadium exposed rats: a possible mechanism of vanadium neurotoxicity. *Neurotoxicity*, **15**: 413-420.
- Sassoè-Pognetto, M., D. Cantino, P. Panzanelli, L. V. di Cantogno, M. Giustetto, F. L. Margolis, S. De Biasi y A. Fasololdo. 1993. Presynaptic colocalization of carnosine and glutamate in olfactory neurons. *NeuroReport*, **5**: 7-10
- Stäubli, U., G. Ivy y G. Lynch. 1984. Hippocampal denervation causes rapid forgetting of olfactory information in rats. *PNAS*, **81**: 5885-5887.
- Stäubli, U., T. T. Le y G. Lynch. 1995. Variants of olfactory memory and their dependencies on the hippocampal formation. *The Journal of Neuroscience*, **15**: 1162-1171.
- Sunders-Pullman, R., J. Gordon-Elliott, M. Parides, S. Fahn, H.R. Saunders y S. Bressman. 1999. The effect of estrogen replacement on early Parkinson's disease. *Neurology*, **52**: 1417-1421.

- SCF, Scientific Committee of Food. 2004. Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the tolerable upper intake level of vanadium. *The EFSA Journal*, **33**: 1-22.
- Schmidt, R., F. Fazekas, B. Reinhart, P. Kapeller, G. Fazekas, H. Offenbacher, B. Eber, M. Schumacher y W. Friedl. 1996. Estrogen replacement therapy in older women: a neuropsychological and brain MRI study. *Journal of the American Geriatrics Society*, **44**: 1307–1313.
- Selley, M. L., D. R. Close y S. E. Stern. 2002. The effect of increased concentrations of homocysteine on the concentration of (E)-4-hydroxy-2-nonenal in the plasma and cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, **23**: 383–388.
- SEMARNAP, Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. 1996. *Programa para Mejorar la Calidad del Aire en el Valle de México*. Departamento del Distrito Federal. Gobierno del Estado de México, México.
- Sharma, R.P., J. S. Flora, D. B. Drown y S. G. Oberg. 1987. Persistence of vanadium compounds in lungs after intracheal instillation in rats. *Toxicology and Industrial Health*, **3**: 321-329.
- Shen, Y., W. Hu, Y. Fan, H. Dai, Q. Fu, E. Wei, J. Luo y Z. Chen. 2007. Carnosine protects against NMDA-induced neurotoxicity in differentiated rat PC12 cells through carnosine-histidine-histamine pathway and H1/H3 receptors. *Biochemical Pharmacology*, **73**: 709-717.
- Shepherd, G. y Greer, C. 1998. Olfactory Bulb. Pp. 159-204, en: Shepherd (ed.). *The Synaptic Organization of the Brain*. Oxford University Press, Nueva York.
- Shi, X. y N. S. Dalai. 1992. Hydroxyl radical generation in the NADH/microsomal reduction of vanadate. *Free Radical Research Communication*, **17**: 369-376.
- Shi, X. y N. S. Dalai. 1993a. Vanadate-mediated hydroxyl radical generation from superoxide radical in the presence of NADH: Haber-Weiss vs. Fenton mechanism. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **3M**: 336-341.
- Shi, X. y N. S. Dalai. 1993b. One-electron reduction of vanadium (V) by flavoenzymes/NADPH. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **302**:300-303.
- Stohs, S. J. y D. Ragchi. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology & Medicine*, **18**: 321–336.
- Strehlow K, S. Rotter, S. Wassmann, O. Adam, C. Grohe, K. Laufs, M. Böhm y G. Nickenig. 2003. Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. *Circulation Research*, **93**: 170-177.

- Subbiah M. T., B. Kessel, M. Agrawal, R. Rajan, W. Abplanalp, Z. Rymaszewski. 1993. Antioxidant potential of specific estrogens on lipid peroxidation. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **77**: 1095-1097.
- Sugioka, K., Y. Shimosegawa y M. Nakano. 1987. Estrogens as natural antioxidants of membrane phospholipid peroxidation. *Federation of European Biochemical Societies*, **210**: 37-39.
- Suzuki, S., L. Gerhold, M. Böttner, S. W. Rau, C. De la Cruz, E. Yang, H. Zhu, J. Yu, A. B. Cashion, M. S. Kindy, I. Merchenthaler, F. H. Gage y P. M. Wise. 2007. Estradiol enhances neurogenesis following ischemic stroke through estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Journal of Comparative Neurology*, **500**: 1064-1075.
- Szepesi, Z., M. Bijata, B. Ruszczycki, L. Kaczmarek, J. Wlodarczyk. 2013. Matrix Metalloproteinases Regulate the Formation of Dendritic Spine Head Protrusions during Chemically Induced Long-Term Potentiation. *Plos One*, **8**: e63314. doi:10.1371/journal.pone.0063314.
- Szklarczyk, A., J. Lapinska, M. Rylski, R. D.G.McKay, L. Kaczmarek. 2002. Matrix metalloproteinase-9 undergoes expression and activation during dendritic remodeling in adult hippocampus. *Journal of Neuroscience*, **22**: 920–930
- Tabatabaie, T. y R. A. Floyd, 1994. Susceptibility of glutathione peroxidase and glutathione reductase to oxidative damage and the protective effect of spin trapping agents. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **314**:112-119.
- Tang, M. X., D. Jacobs, Y. Stern, K. Marder, P. Schofield, B. Gurland, H. Andrews y R. Mayeux. 1996. Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *The Lancet*, **348**: 429–432.
- Thibodeau, P, R. Kachadourain, R. Lemay, M. Bission, B. Day, B. Paquette. 2002. In vitro pro- and antioxidant properties of estrogen. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **81**: 227-236.
- Thomann, P. A., V. Dos Santos, P. Toro, P. Schönknecht, M. Essig, J. Schröder. 2009. Reduced olfactory bulb and tract volumen in early Alzheimer's disease-A MRI study. *Neurobiology of Aging*, **30**: 838-841.
- Trombley, P.Q., M. S. Horning y L. J. Blakemore. 2000. Interactions between carnosina and zinc and copper: implications for neuromodulation and neuroprotection. *Biochemistry*, **65**: 807–816.
- Tzintzun, MG., L. Rojas y A. Fernández. 2005. Las partículas suspendidas en tres grandes ciudades mexicanas. *Gaceta Ecológica*, **74**: 15-28.
- Uruchurtu, J. 1997. Efecto de la contaminación en edificios del patrimonio histórico. *Narraciones de la Ciencia*, **3**: 51-58.

- Ustarroz-Cano, M. L. 2012. Efecto de la inhalación del pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ ) en la morfofisiología de las células dendríticas (CD) del timo de ratón. Tesis de doctorado. Facultad Medicina, UNAM, México.
- Valencia-Segura, R. K., L. Colín-Barenque, S. A. Reséndiz-Avenidaño, C. Vega-Bautista, A. Arenas-Amaya, M. Rojas-Lemus, P. Bizarro-Nevarez, A. González-Villalva, V. Rodríguez Mata, A. Zepeda-Rodríguez, F. Pasos y T. I. Fortoul. 2012. El efecto de la carnosina en hipocampo CA1 de ratones expuestos a pentóxido de vanadio (Datos no publicados). En: XXXV Congreso Nacional de Histología. San Luis Potosí, México.
- Valencia-Segura, R. K., L. Colín-Barenque, S. A. Reséndiz-Avenidaño, P. Bizarro-Nevarez, A. González-Villalva y T. I. Fortoul. 2013. Efecto de la carnosina en CA1 de hipocampo de ratones expuestos a inhalación de pentóxido de vanadio. Diferencias por sexo (Datos no publicados). En: XXXVI Congreso Nacional de Histología. Morelos, México.
- Valko, M., H. Morris y M. T. D. Cronin. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, **12**: 1161-1208.
- Vallejo, M., K. Jáuregui-Renaud, A. Hermosillo, M. Márquez y M. Cárdenas. 2002. Efectos de la contaminación atmosférica en la salud y su importancia en la Ciudad de México. *Gaceta Médica de México*, **139**: 57-63.
- Vedder, H., N. Anthes, G. Stumm, C. Würz, C. Behl y J-C. Krieg. 199. Estrogen Hormones Reduce Lipid Peroxidation in Cells and Tissues of the Central Nervous System. *Journal of Neurochemistry*, **72**: 2531-2538.
- Vega-Bautista, C. 2012. Alteraciones en la neurogénesis, función y citología de las neuronas granulares del giro dentado, producidas por la inhalación de vanadio. Diferencia por sexo. Tesis de licenciatura. Facultad Ciencias, UNAM, México.
- Velázquez-Paniagua, M., B. Prieto-Gómez y R. Contreras-Pérez. 2004. El envejecimiento y los radicales libres. *Ciencias*, **75**: 36-43.
- Venereo, J. R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, **31**: 126-133.
- Wassmann, K., S. Wassmann y G. Nickenig. 2005. Progesterone antagonizes the vasoprotective effect of estrogen on antioxidant enzyme expression and function. *Circulation Research*, **97**: 1046-1054.
- Weiss, D. G. y K. Buchner. 1988. Axoplasmic Transport in Olfactory Receptor Neurons. Pp. 217-236, en: F. I. Margolis y T. W. Getchell (eds.). *Molecular Biology of the Olfactory System*. Plenum Press, Nueva York.
- Wen, Y., M. Doyle, T. Cooke, J. Feely J. 2000. Effect of menopause on low density lipoprotein oxidation: is oestrogen an important determinant? *Maturitas*, **34**: 233-238.

- Wenning, R. y N. Kirsch. 1988. Vanadium. Pp. 749-776, en: H. G. Seiler, H. Sigel y A. Sigel (eds.). *Handbook on Toxicity of Inorganic Compounds*. Marcel Dekker, Nueva York.
- Wesson, D. W., E. Levy, R. A. Nixon y D. A. Wilson. 2010. Olfactory dysfunction correlates with Amyloid- $\beta$  burden in an Alzheimer's disease mouse model. *The Journal of Neuroscience*, **13**: 505-514.
- Wideman, J., L. Brink y S. Stein. 1978. New automated fluorometric peptide microassay for carnosine in mouse olfactory bulb. *Analytical Biochemistry*, **86**: 670-678.
- Williams, M. 2002. *Nutrición para la salud la condición física y el deporte*. Paidotribo, Barcelona.
- Wilson, D. A. y R. M. Sullivan. 1995. The D2 antagonist spiperone mimics the effects of olfactory deprivation on mitral/tufted cell odor response patterns. *Journal of Neuroscience*, **15**: 5574-81.
- Wise, P.M., D. B. Dubal, S. W. Rau, C. M. Brown y S. Suzuki. 2005. Are estrogens protective or risk factors in brain injury and neurodegeneration? Reevaluation after the women's health initiative. *Endocrine Reviews*, **26**: 308-312.
- Wood, E. R. y S. H. F. Macdonald. 2001. Effects of interference on olfactory recognition memory in rats with hippocampal lesions. *Society for Neuroscience Abstracts*, **27**: 499.
- Yang, M. y J. Crawley. 2009. Simple Behavioral Assessment of Mouse Olfaction. *Current Protocols in Neuroscience*, **8**. doi:10.1002/0471142301.ns0824s48.
- Yang W. y Omaye, S. 2009. Air pollutants, oxidative stress and human health. Mutation research. *Genetic Toxicology & Environmental Mutagenesis*, **674**: 45-54.
- Yang, X-G., X-D. Yang, L. Yuan, K. Wang y D. C. Crans. 2004. The Permeability and Cytotoxicity of Insulinmimetic Vanadium Compounds. *Pharmaceutical Research*, **21**: 1026-1033.
- Zapata-Alfaro, D. 2012. Efecto del vanadio en eritrocitos y en la eritropoyesis: diferencia por sexos en un modelo murino. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Zonagratuita. 2013. El Cuerpo Humano  
<<http://www.zonagratuita.com/enciclopedia/biologia/organos-de-los-sentidos/Olfato.htm>> Consultado el 18 de diciembre de 2013.