



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Evaluación de la conducta social de ratones  
expuestos a vanadio por vía inhalada y tratados con  
carnosina**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

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

**KATIA MARÍA NAVARRETE RAMOS**



**TUTORA**

**DRA. LAURA COLÍN BARENQUE**

**2016**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## *DATOS DEL JURADO*

### **1. Datos del alumno**

Apellido paterno	Navarrete
Apellido materno	Ramos
Nombres	Katia María
Teléfono	5530108482
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad o escuela	Facultad de Ciencias
Carrera	Biología

### **2. Datos del tutor**

Grado	Dra.
Nombre	Laura
Apellido paterno	Colín
Apellido materno	Barenque

### **3. Datos del sinodal 1**

Grado	Dra.
Nombre	Teresa Imelda
Apellido paterno	Fortoul
Apellido materno	Vander Goes

### **4. Datos del sinodal 2**

Grado	Dr.
Nombre	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	Dra.
Nombre	Adriana Elizabeth
Apellido paterno	González
Apellido materno	Villalva

### **7. Datos del trabajo escrito**

Título	Evaluación de la conducta social de ratones expuestos a vanadio por vía inhalada y tratados con carnosina
Número de páginas	69 páginas
Año	2016

# *AGRADECIMIENTOS*

Agradezco especialmente a la Dra. Laura Colín Barenque por su apoyo y enseñanzas durante este periodo y que me permitió formar parte de sus investigaciones. Por toda la paciencia y dedicación que me tuvo para que al final pudiera obtener este trabajo y por ayudarme a seguir y salir adelante a pesar de las dificultades que se presentaron durante el proyecto. Gracias por sus enseñanzas que tendré presentes durante la vida.

A la Dra. Teresa Imelda Fortoul Vander Goes por abrirme las puertas al laboratorio y permitirme ser parte de este proyecto y del equipo. También en general al laboratorio del Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina de la UNAM, en especial a la M. en C. Patricia Bizarro Nevares, la Dra. Adriana González Villalva y a la Dra. Marcela Rojas Lemus por el apoyo durante mi estancia en el laboratorio y los comentarios y correcciones que hicieron para que mi proyecto fuera mejor.

También agradezco especialmente al Biol. Armando Zepeda Rodríguez y al Biol. Francisco Pasos Nájera que me ayudaron enormemente con la realización de mi parte experimental y por sus enseñanzas, sin ustedes no podría haber terminado este proyecto, muchas gracias.

A mis compañeros del laboratorio Edith, Susana, Mariana, Brenda y Javier, con quienes viví increíbles experiencias y que me enseñaron tantas cosas y por su apoyo tanto como amigos, como compañeros de laboratorio, ayudándome con soluciones y mis ratoncitos.

A mi comité de revisión de tesis: Dra. Laura Colín, Dra. Teresa Fortoul, Dr. Mario Altamirano, Dr. Paul Carrillo y Dra. Adriana González por el tiempo dedicado a leer mi tesis y sus valiosos comentarios que hicieron que mi tesis fuera mejor.

A mi facultad, la Facultad de Ciencias, y a todos los profesores que formaron parte de mi formación como bióloga y por los conocimientos compartidos.

Quiero agradecer de forma especial a todos los ratoncitos que formaron parte de este proyecto, ya que sin ellos no hubiera sido posible, estaré eternamente agradecida con ustedes.

Este proyecto fue apoyado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con clave IN220414

## *DEDICATORIAS*

A mis padres, Rocío y Mario, por todo el apoyo que me han dado desde el inicio. Porque me encaminaron y se encargaron de mi educación y de asegurarse de que nada me faltara. Porque sin ustedes nunca hubiera logrado llegar hasta aquí. Gracias por todo el esfuerzo que hicieron para darme una buena educación y por todo el tiempo que invirtieron en mi, así como por las enseñanzas de vida que me han formado como persona y como estudiante, siempre estaré agradecida.

A mi hermana, Helen, por apoyarme en mis sueños y por creer en mi. Por ser mi mejor cómplice y por siempre estar a mi lado. Por estar en este proceso y por enseñarme como ser una gran persona con tu ejemplo.

A mis amigos de la facultad y de la UNAM que formaron parte de esta increíble etapa de mi vida y algunos que se convirtieron en mas que amigos Bere, Juan, Lau, Enrique, Hain, Fernando, Rodrigo, Rodolfo, Aleli, Eugenio, Zarate y Alex.

A mi equipo de gimnasia, Pumotas, las que siguen y las que no, porque son mas que solo un equipo, Mariana Muñoz, Mariana, Magaly, Banderas, Liz, Gabby, Danny, Caro, Beli, Denise, Vale, y en especial a mi entrenadora Lorena Galán por siempre impulsarme a ser mejor, a seguir adelante y por siempre creer en mi y enseñarme a perseguir lo que quiero.

Al Profesor Víctor García Valdovino, por introducirme a la biología y por desarrollar en mí el amor hacia éste ámbito científico y la vida en laboratorio. Gracias por haberme marcado.

A mis amigas Dany Ruiz, Lau, Gery y Pau, con quienes aprendí mucho sobre neurociencias y con quienes me enamore de este tema.

A mis amigas de la prepa y de toda la vida que siempre estuvieron para apoyarme y para ayudarme a salir adelante Diana, Jime, Fer, Salvador, Ana. Y a Vero García que siempre me ha apoyado en todo y me ha hecho crecer como persona.

A mi mejor amiga, Fer Baeza, que aunque ya no está aquí, sus palabras siempre me han motivado a ser mejor y a mantenerme firme en mis objetivos y en lo que quiero, y que me hizo creer en mi misma.

A todos aquellos que de alguna forma fueron parte de este proceso, que me apoyaron y que me ayudaron a seguir y a salir adelante, que me motivaron, y que cooperaron aunque sea con un granito de arena para que pudiera terminar este proyecto. A toda esa gente especial, que seguimos o no en contacto pero que formó parte de este importante proceso.

# CONTENIDO

	PÁGINA
I. <i>INTRODUCCIÓN</i> .....	10
I.1 Contaminación atmosférica .....	10
I.1.1 Partículas suspendidas .....	11
I.1.2 Metales .....	11
I.2 Vanadio .....	12
I.2.1 Generalidades del vanadio .....	12
I.2.2 Fuentes de exposición .....	12
I.2.3 Toxicocinética .....	13
I.2.4 Toxicodinamia .....	14
I.2.5 Antecedentes .....	15
I.2.6 Estrés oxidante producido por vanadio .....	16
I.3 Antioxidantes .....	17
I.3.1 Carnosina .....	18
I.3.1.1 Efectos fisiológicos .....	19
I.3.2 Carnosina en el SNC .....	19
I.3.3 Carnosina y conducta .....	20
I.4 Conducta social .....	21
I.4.1. Estructuras involucradas en la conducta social de ratones .....	22
I.4.1.1 Corteza cerebral .....	22
I.4.1.2 Hipocampo.....	22
I.4.1.3 Núcleo Estriado .....	23
I.4.1.4 Bulbo olfatorio .....	23
I.5 Pruebas de conducta social .....	23
II. <i>JUSTIFICACIÓN</i> .....	25
III. <i>HIPÓTESIS</i> .....	25
IV. <i>OBJETIVOS</i> .....	26
IV.1 Objetivo general .....	26
IV.2 Objetivo particular .....	26
V. <i>MÉTODO</i> .....	26
V.1 Características del estudio .....	26
V.2 Tratamientos .....	26
V.3 Prueba de conducta de Crawley .....	27
V.3.1 Prueba de afiliación social .....	28
V.3.2 Prueba de preferencia por individuos nuevos ...	29
V.4 Análisis estadístico .....	29

	<i>PÁGINA</i>
VI. <i>RESULTADOS</i> .....	<b>30</b>
VI.1 Prueba de afiliación social .....	<b>29</b>
VI.2 Prueba de preferencia por individuos nuevos .....	<b>41</b>
VII. <i>DISCUSIÓN</i> .....	<b>54</b>
VII. <i>CONCLUSIÓN</i> .....	<b>60</b>
IX. <i>REFERENCIAS</i> .....	<b>61</b>

## Abreviaturas

<b>BO</b>	Bulbo olfatorio
<b>Ca</b>	Calcio
<b>CA</b>	<i>Cornu Ammonis</i>
<b>cm<sup>3</sup></b>	Centímetros cúbicos
<b>C</b>	Carnosina
<b>CN</b>	Carnosinasa
<b>CS</b>	Carnosina sintasa
<b>Cu</b>	Cobre
<b>EC1</b>	Entradas al compartimento 1
<b>EC2</b>	Entradas al compartimento 2
<b>ERO</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>g</b>	gramos
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrógeno
<b>IcR</b>	Interacción con ratón
<b>IsR</b>	Interacción con el objeto inanimado (interacción sin ratón)
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>kg</b>	kilogramo
<b>M</b>	Molar
<b>m<sup>3</sup></b>	Metros cúbicos
<b>mg</b>	Miligramo
<b>msnm</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>μg</b>	Microgramos
<b>NADPH</b>	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
<b>NMDA</b>	N-metil D-aspartato, receptor ionotrópico de glutamato
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Ión superóxido
<b>(O<sub>2</sub><sup>-•</sup>)</b>	Radical superóxido
<b>OH<sup>•</sup></b>	Radical hidroxilo
<b>PM</b>	Partículas suspendidas

<b>PM1</b>	Partículas suspendidas menores a un micrómetro o fracción ultrafina
<b>PM2.5</b>	Partículas suspendidas menores a dos punto cinco micrómetros o fracción fina
<b>PM2.5-10</b>	Fracción gruesa
<b>PM10</b>	Partículas suspendidas menores a diez micrómetros o fracción inhalable
<b>PST</b>	Partículas suspendidas totales
<b>QI</b>	Coficiente intelectual
<b>R1</b>	Ratón 1
<b>R2</b>	Ratón 2
<b>RL</b>	Radicales libres
<b>s</b>	Segundos
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SOD</b>	Superóxido dismutasa
<b>T</b>	Tiempo
<b>V</b>	Vanadio
<b>V<sup>IV</sup></b>	Vanadil
<b>V<sup>V</sup></b>	Vanadato
<b>[V(IV) – OO·]</b>	Peroxovanadilo
<b>[V(IV) – OH·]</b>	Hidroperóxido de vanadilo
<b>V<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	Pentóxido de vanadio
<b>ZMVM</b>	Zona Metropolitana del Valle de México
<b>Zn</b>	Zinc
<b>4-HNE</b>	4-Hidroxinonenal

## Resumen

En la actualidad, con el desarrollo industrial y tecnológico, con el crecimiento de las grandes ciudades, y el uso indiscriminado de combustibles fósiles, aunado a algunas condiciones climáticas y geográficas de la Zona Metropolitana del Valle de México, se ha favorecido la emisión y acumulación de contaminantes atmosféricos, dentro de los cuales se encuentran las partículas suspendidas. Estas partículas pueden ser de diferentes tamaños y suelen llevar adheridos diversos metales, como por ejemplo el vanadio (V). Éste último es un metal de transición que cuenta con diversos estados de oxidación, permitiéndole formar una gran cantidad de compuestos como por ejemplo el pentóxido de vanadio; uno de los efectos adversos que provoca el vanadio es la generación endógena de especies reactivas de oxígeno (ERO) y por consiguiente la producción de estrés oxidante. En el sistema nervioso central es un gran factor oxidante y provoca pérdida de espinas dendríticas en neuronas del bulbo olfatorio y corteza, muerte neuronal en el hipocampo y alteraciones en la *sustancia nigra*, así como modificaciones conductuales y alteración de la memoria espacial. Algunos de estos efectos, se han reducido por el uso de la carnosina, antioxidante de origen endógeno formado por  $\beta$ -alanina y L-histidina, presente en mayor concentración en músculo esquelético, bulbo y epitelio olfatorio de diversos vertebrados. La carnosina, además de considerarse como antioxidante, se reconoce como un agente quelante, secuestrador de radicales libres (RL), neuromodulador y además se ha observado que neutraliza los daños de proteínas glicosiladas y aldehídos inducidos por la peroxidación lipídica.

Debido a la afección citológica provocada por el vanadio y el beneficio aportado por la carnosina, se decidió evaluar la acción de la carnosina a nivel conductual, usando la prueba de conducta reportada por Crawley, para observar los patrones de interacción social, en ratones que inhalaban vanadio. Se utilizaron 40 ratones macho de la cepa CD-1 divididos en cuatro grupos (control, vanadio, vanadio+carnosina y carnosina) fueron evaluados conductualmente a las 0, 2 y 4 semanas de tratamiento. La inhalación de vanadio, fue realizada utilizando  $V_2O_5$  en una concentración de [0.02M]; se realizó dos veces por semana durante una hora, por 4 semanas. El grupo control, inhaló solución salina, una hora, dos veces por semana, durante cuatro semanas. Los grupos a los que se les administró carnosina, se realizó diariamente en una concentración de 1mg/kg por vía oral, durante cuatro semanas. Se observó que entre los grupos control y vanadio no hay diferencias en la interacción social presentada, en ninguno de los tiempos de evaluación, ya que actúan de manera muy similar. Sin embargo en los grupos vanadio+carnosina y carnosina, los ratones mostraron una diferencia significativa en el patrón de interacción en comparación con el grupo control, actuando los dos grupos tratados con carnosina de forma similar, en el cual los ratones se trasladaban de un lado al otro del espacio de la prueba sin mantenerse mucho tiempo en un lugar específico, y sin interactuar durante tiempos prolongados con el objeto inanimado, ni con los ratones desconocidos utilizados durante la prueba. Esto sugiere que este comportamiento es provocado por la administración de carnosina, independientemente de la exposición al vanadio.

Con base en los resultados se puede decir que la exposición a vanadio no provoca ninguna modificación significativa en la conducta social a diferencia del comportamiento observado en los grupos tratados con carnosina que puede deberse al efecto de hiperactividad que ésta causa, lo cual ya ha sido reportado en estudios previos.. Además, esto sugiere que el efecto neuroprotector de la carnosina reportado anteriormente, puede no reflejarse en la conducta porque se requiere mayor tiempo de exposición.

## I. Introducción

### I.1 Contaminación atmosférica

La contaminación ambiental es un problema que ha ido en aumento debido a los avances tecnológicos, industriales y de transporte. Es evidente en las grandes ciudades del mundo, pero con mayor prevalencia en países y/o ciudades subdesarrolladas, y es un problema creciente que afecta de manera importante la salud (Brunerkeef & Holgate, 2002). La actividad antropogénica es la principal causa de la contaminación debido a las emisiones gaseosas provenientes de industrias, vehículos, incineración de basura y algunas actividades domésticas (Briggs, 2007).

Se define la contaminación atmosférica como la presencia de sustancias en el aire en cantidades que pueden ser perjudiciales para la vida, que afectan las condiciones meteorológicas y climáticas y que afectan estructuras y materiales de edificios, monumentos, esculturas, entre otros (Cooper y Alley, 1986; Elsom, 1987; Uruchurtu, 1997; Alonso et al., 2006). La exposición a los contaminantes del aire, pero con principal importancia a las partículas suspendidas, ha generado preocupación ya que se ha observado que existe una correlación entre la exposición a éstas y el aumento en la tasa de mortalidad (Tzintzun et al., 2005).

En grandes urbes como la Zona Metropolitana y el Valle de México (ZMVM), existen problemas de contaminación atmosférica, los cuales van en aumento, debido a la gran densidad poblacional, que se traduce en un gran número de vehículos, industrias y actividades domésticas que favorecen la contaminación, aunado a las condiciones climáticas y geográficas de esta zona que favorecen la acumulación de contaminantes. La ZMVM se encuentra a 2,240 msnm rodeada por montañas y con una concentración de oxígeno de un 23% menor a la del nivel del mar, lo que provoca una reducción en la eficiencia de los motores de combustión interna generando una mayor emisión de hidrocarburos (SEMARNAP, 1996). Además los vientos se ven obstaculizados por las montañas, lo que en muchas ocasiones imposibilita la circulación y disipación de los contaminantes; y finalmente otro factor importante no dependiente de la actividad humana que promueve el alto grado de contaminación, es que existen inversiones térmicas que generan una acumulación temporal de los contaminantes en una capa color ocre, color que obtiene por la presencia de óxidos de nitrógeno y partículas suspendidas, y que únicamente es capaz de romperse cuando el solo iguala la temperatura entre esta capa y la capa caliente que se encuentra por encima (Ponciano-Rodríguez y Rivero-Serrano, 1996; Onursal y Gautam, 1997; Lara et al., 2005; Reséndiz, 2014).

### **I.1.1 Partículas suspendidas**

Las partículas suspendidas son una mezcla de materiales líquidos y sólidos, de diferentes tamaños, que están suspendidos en el aire y que son contaminantes. Pueden ser originadas por procesos naturales o por actividades antropogénicas. Se dividen principalmente en dos tipos: primarias, emitidas directamente a la atmósfera, y secundarias, formadas en la atmósfera a través de reacciones químicas por la mezcla de gases y/o partículas suspendidas (ECHE, 2000; EC, 2004; INE, 2011; Tzintzun et al., 2005).

Existe otra clasificación para estas partículas, basado en su tamaño aerodinámico, donde están las partículas suspendidas totales (PST) que tienen un diámetro de 0.005 a 10 $\mu$ m; las partículas inhalables que miden menos de 10 $\mu$ m (PM10), las cuales dependiendo de sus propiedades se depositan en diferentes niveles del tracto respiratorio (Lippmann, 1989; Reséndiz, 2014). Dentro de las PM10, se encuentra lo que se denomina como la fracción gruesa o burda, que son partículas con un diámetro de 2.5 a 10 $\mu$ m (PM2.5-10) que se sedimentan en la vía respiratoria superior; también está la fracción fina, cuyas partículas son menores a 2.5 $\mu$ m (PM2.5) y estas son capaces de llegar hasta las vías inferiores; y finalmente está la fracción ultrafina cuyo diámetro es menor a 1 $\mu$ m (PM1), y se depositan directamente en los alveolos y pueden pasar fácilmente al sistema circulatorio (INE, 2011; EPA, 2002; Lippmann, 1989; Rojas-Bracho y Garibay-Bravo, 2003; Geiser et al., 2005)

### **I.1.2 Metales**

En general, las partículas suspendidas están conformadas por un núcleo de carbón adherido a compuestos orgánicos, material biológico, iones, gases reactivos o metales. Para 2010, aproximadamente un 1% de las partículas suspendidas presentaban metales provenientes principalmente de actividades antropogénicas del sector industrial y de transporte, lo que refiere a que hubo un aproximado de 260,000kg anuales de liberación de estos compuestos (Camacho, et al., 2012). La contaminación por metales puede afectar seriamente el ambiente y la salud, desde un nivel celular hasta sistémico y que derive en la muerte del organismo. Los metales pueden llegar a ser carcinogénicos, genotóxicos o provocar síntomas y disfunciones como taquicardias y daños al riñón. Existen una gran cantidad de metales que pueden estar adosados a las partículas suspendidas, dentro de los cuales se encuentra el vanadio, adosado a las PM2.5 (EPA,1999; Leonard, et al., 2004).

## **I.2 Vanadio**

### **I.2.1 Generalidades del vanadio**

Descubierto en el año de 1802, el vanadio es un metal de transición que se encuentra en la posición 23 del grupo VB de la tabla periódica. Presenta estados de oxidación que van desde el -1 hasta el +5; sin embargo suele presentarse con mayor frecuencia en sus estados +3, +4 y +5, siendo este último el más tóxico. Se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente ocupando el lugar número 22 entre los elementos de mayor abundancia en la corteza terrestre, con una presencia que va entre el 0.014 y 0.02%. Forma parte del aire (adornado a las partículas suspendidas), del suelo e incluso del agua, (Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006; Jiménez, 2009). El vanadio, es un metal de color grisáceo, dúctil, de densidad  $6.11\text{g/cm}^3$ , poco soluble en agua, que puede funcionar como catión y anión, y el cual no se encuentra de forma aislada en la naturaleza, ya que es propenso a reaccionar con otros elementos. Suele formar, complejos metálicos y sales, presentándose generalmente en forma de óxidos, tal como lo es el pentóxido de vanadio ( $\text{V}_2\text{O}_5$ ). Este último es una sal de color amarillo-rojizo, de densidad  $3.357\text{g/cm}^3$ , que es ligeramente soluble en agua (Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006; IPCS, 1988).

Además de encontrarse formando parte directa de la corteza terrestre, el vanadio puede también formar parte de los organismos vivos, siendo considerado en algunos de ellos como un elemento traza (Nechay, 1984), y juega un papel importante en 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, ratas y pollos (Antipov, 2013; Mukherjee et al., 2013; Mwakikunga, 2013).

Cabe mencionar, que este metal es utilizado en diversas industrias, como lo es la metalúrgica, la agrícola (para fabricar fungicidas, insecticidas y para fertilizantes donde es utilizado como micronutriente), para la fabricación de pinturas, vidrio y colorantes para fotografía y cinematografía, así como en la industria de la energía atómica y para la construcción de tecnología espacial y maquinaria aérea (Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006; IPCS, 1988; 2001).

### **I.2.2 Fuentes de exposición**

La liberación a la atmósfera, se da principalmente por la actividad antropogénica, como lo es la quema de combustibles fósiles, de carbón y aceites pesados así como actividades industriales, aunque también se puede dar por procesos y desastres naturales como las explosiones volcánicas, incendios forestales y procesos biogénicos. Se calcula que gracias a la quema de estos productos, se liberan a la atmósfera, un aproximado de 110,000 toneladas de vanadio al año, en donde las cenizas de la quema

del petróleo tienen aproximadamente un 80% de  $V_2O_5$ . (Mukherjee et al., 2013; IPCS, 2001). Sin embargo, es importante mencionar que la cantidad de vanadio presente en el petróleo crudo, varía dependiendo de su lugar de origen, teniendo una mayor concentración aquellos de la zona de América, en los cuales destacan los provenientes de Venezuela (que contienen de 282 a 1,180  $\mu\text{g/g}$ ), la variedad atabasca de Canadá (640  $\mu\text{g/g}$ ) y los de la zona maya de México (243  $\mu\text{g/g}$ ). (IPCS, 1988; Crans et al, 1998; Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006).

El vanadio también puede ser encontrado en el suelo y el agua, gracias a la erosión del suelo, de las rocas oceánicas y de los minerales terrestres; así mismo también se puede encontrar en algunos alimentos (en sus estados de oxidación III y IV) como los hongos, productos cárnicos, productos alimenticios marinos, eneldo, pimienta negra, arroz, avena, perejil, lechuga, papa, soya, aceitunas, aceites insaturados y grasas vegetales, manzana, cerveza, tabaco, edulcorantes y vino, por mencionar algunos (Mukherjee et al., 2004; Antipov, 2013; Mukherjee et al., 2013; EFSA 2004; Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006).

### **I.2.3 Toxicocinética**

Las principales formas de entrada del V al organismo en los mamíferos son la absorción por el tracto gastrointestinal y el sistema respiratorio. Se calcula que por medio de la vía inhalada se absorbe aproximadamente un 35% del vanadio soluble, mientras que en el tracto gastrointestinal es de un 10%, absorción tras la cual es transportado a través del torrente sanguíneo a diferentes órganos y tejidos (Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006; Colín-Barenque, Fortoul, 2007). Ya en el torrente sanguíneo se puede encontrar en su forma de  $V^{III}$ ,  $V^{IV}$  y  $V^V$ . El vanadio V es reducido a vanadio IV por medio del glutatión, ácido ascórbico, el NADPH, las catecolaminas y otras sustancias reductoras del plasma. En la sangre es transportado por la albúmina y la transferrina, ésta última es una proteína que contiene hierro; la albúmina transporta principalmente al  $V^{IV}$ , el cual en condiciones fisiológicas se encuentra como catión vanadilo, y la transferrina al  $V^V$ , que se presenta como anión vanadato (Elinder et al. 1988; Mukherjee et al. 2004; Rehder 2003; Cantley et al. 1978, Yang et al. 2003; 2004; Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006)

Para ingresar a la célula el  $V^V$  entra por transporte aniónico principalmente a través de canales de fosfato, cruzando la membrana celular; existe una segunda etapa de cruce, la cual es mucho más lenta, involucra el vanadio IV y tiene un mecanismo de paso similar al de cationes divalentes. Dentro de la célula el  $V^V$  puede volver a reducirse por el glutatión intracelular, el ácido ascórbico y otros sustratos a los que permanece unido (Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006; Heinz et al. 1982; Yang et al., 2004)

Es importante mencionar, que en los órganos y tejidos se acumula exclusivamente en su forma  $V^{IV}$ , y acumulándose principalmente en hígado, riñón, hueso y bazo, en menor cantidad en testículo y pulmones, y teniendo también presencia en corazón, músculo esquelético, tiroides, cerebro, tejido adiposo y médula ósea (Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006; Sharma et al. 1987; Alessio et al. 1988; Elinder et al. 1988; French y Jones, 1993).

Una vez que es absorbido es rápidamente desechado por los riñones o través de la bilis, y se excreta ya sea por la orina o por las heces. El proceso de excreción se considera bifásico, ya que dentro de las primeras 20 horas post-absorción se excreta la mayor cantidad, y dentro de un periodo de 40 a 50 días se elimina la otra parte. (Mukherjee et al., 2004; Fortoul y Rojas-Lemus, 2007; Elinder et al. 1988; Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006)

#### **I.2.4 Toxicodinamia**

El vanadio puede ser tóxico para los humanos y algunos animales, ya que se ha reportado que provoca diversas afecciones celulares y sistémicas. Puede llegar a afectar el ciclo celular, las rutas de señalización, proliferación y la supervivencia celular *in vitro* e *in vivo* (Altamirano-Lozano, et al., 1993; SCF, 2004). Además, ya que el ión vanadio tiene una semejanza estructural y electrónica con el ión fosfato ( $PO_4^{3-}$ ), puede interferir con enzimas como ATPasas, proteínas cinasas, ribonucleasas y fosfatasas y puede competir con este ión. También, el vanadio en forma de anión o catión, puede competir con otros iones metálicos al comportarse como ión metálico de transición y combinarse con diferentes ligandos biológicos como fosfatos, nucleótidos y carbohidratos, para poder producir sus efectos biológicos (Mukherjee et al., 2013).

A pesar de sus efectos tóxicos, puede presentar algunos efectos benéficos ya que disminuye los niveles de colesterol y las grasas en sangre, tiene un papel en la formación del hueso, dientes, eritrocitos, en la función de la tiroides, regula genes como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), la interleucina-8, la proteína cinasa activada por mitógeno y p53 (Mukherjee et al., 2013), y tiene efectos anticarcinogénicos ya que en estudios previos realizados por López-Valdez en 2008 se reporta una disminución en adenomas pulmonares de ratones que inhalaban pentóxido de vanadio.

Sin embargo, el vanadio ha sido también clasificado como un posible carcinógeno en humanos (IARC, 2003). Así mismo, se ha observado que ante la inhalación de pentóxido de vanadio en una exposición ambiental u ocupacional, se presentan síntomas como tos productiva, irritación de la nariz, garganta y ojos, aumento de células inflamatorias nasales y algunas enfermedades respiratorias como bronquitis, fibrosis, asma, laringitis y faringitis (Barceloux, 1999; Ghio et al., 2002; Cohen, 2004; Rodríguez-Mercado, Altamirano-Lozano, 2006).

Además, ante una exposición aguda a polvos de pentóxido de vanadio en trabajadores, han sido reportados, síntomas como nasofaringitis, respiración con sibilancias y estertores, rinitis, sangrado de la nariz, producción de esputo y expectoraciones, dificultad para respirar, congestión de la mucosa nasal, aparición de coloración verdosa en la lengua, y con menor frecuencia se reporta la incidencia de hiposmia y en algunos casos anosmia, erosión y ulceración del septum nasal y engrosamiento y contorsión del sistema broncovascular; también ha sido reportada la incidencia de daño renal. Se ha encontrado una correlación entre los niveles de vanadio en el aire y el aumento en la mortalidad por neumonía y bronconeumonía (IPCS, 2001; 1988).

Hablando en exclusiva de la inhalación de pentóxido de vanadio, en modelos experimentales *in vivo*, se ha observado que es genotóxico en eritrocitos y leucocitos (Fortoul et al., 2014) así como en células de la médula ósea (Pérez de Gante, 2008), necrosis en células de Sertoli, espermatogonias y espermatoцитos (Fortoul et al., 2007), cambios morfológicos y aumento de interleucina-6 (IL-6) en el epitelio bronquiolar (Falcón-Rodríguez, 2008) y repercusiones a nivel del sistema nervioso central, debido a que produce alteraciones neuronales, peroxidación de lípidos, y en algunos casos causa la muerte neuronal, gracias a la producción de radicales libres y la posterior generación de estrés oxidante (Jiménez, 2009).

### **I.2.5 Antecedentes**

En estudios previos utilizando modelos en ratas y ratones, se ha observado que, la administración de metavanadato de sodio por vía intraperitoneal, modifica el metabolismo lipídico y la concentración de proteínas, resultando en peroxidación lipídica en diversas zonas del cerebro (Sassi, et al., 1994), así como alteraciones en la cubierta de mielina, lipoperoxidación en hipocampo y cerebelo y alteraciones en el comportamiento (García, et al., 2005). En un modelo donde el metavanadato de sodio fue administrado por vía oral, se observó alteración de la conducta (reducción de la actividad y de la coordinación), en el aprendizaje (Sánchez, et al., 1998) y modificaciones en el sistema motor, y comportamiento (Haider, et al., 1998).

La exposición por vía inhalada a pentóxido de vanadio en una concentración de 0.02M, en un modelo murino se ha observado, pérdida de neuronas dopaminérgicas en la *sustancia nigra* provocando alteraciones morfológicas en las neuronas espinosas medianas del estriado (Avila-Costa, et al., 2004), alteración en la percepción olfatoria en el reconocimiento de olores, así como pérdida considerable de espinas dendríticas de las células granulosas, y muerte neuronal en el bulbo olfatorio (Colín-Barenque, et al., 2015). El deterioro en la memoria espacial se ha visto causado por la muerte neuronal en el hipocampo después de la inhalación de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, ya que éste provoca pérdida progresiva de espinas dendríticas, muerte neuronal de tipo necrótica y alteraciones en el neuropilo de la región CA1 (Avila-

Costa, et al., 2006). También existe pérdida de cilios, descamación celular, modificación de la barrera hematoencefálica en las uniones estrechas de las células endoteliales (Avila-Costa et al., 2005); así como daño oxidante, peroxidación lipídica y muerte celular en neuronas piramidales de la corteza. (Jiménez- Martínez, 2009).

### **1.2.6 Estrés oxidante producido por vanadio**

El estrés oxidante, se refiere al alto potencial de óxido-reducción que tiene el oxígeno, y que al reaccionar con otras moléculas, las vuelve inestables y provoca disfunción celular y la posterior muerte celular. Las formas parcialmente reducidas de oxígeno son sumamente activas, porque el radical es muy inestable y puede funcionar como aceptor o donador de electrones. Estas formas reactivas parcialmente reducidas incluyen al ión superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y el radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ), siendo este último el más reactivo (Gandhi & Abramov, 2012).

El cerebro es un órgano blanco para el estrés oxidante y vulnerable para la acción de las especies reactivas de oxígeno (ERO), ya que tiene una demanda muy alta de oxígeno y presenta sustratos altamente oxidables. El cerebro requiere de aproximadamente el 20% del oxígeno total consumido; se calcula que aproximadamente un 5% del oxígeno utilizado por las células se reduce a ERO, por lo que la producción de éstas es más elevada en el cerebro (Friedman, 2010; Gandhi & Abramov, 2012).

Además sus sustratos se consideran un blanco, ya que las membranas celulares de las neuronas son ricas en ácidos grasos poliinsaturados, los cuales son particularmente vulnerables al ataque de radicales libres (RL), por los dobles enlaces que presentan en la membrana, permitiendo que los iones de hidrógeno se puedan remover más fácilmente por ERO, como el radical  $OH^\cdot$  (Friedman, 2010). Cabe mencionar, que los radicales libres, son átomos que al tener uno o más electrones, en su última órbita, sin aparear, son altamente reactivos y para alcanzar su estabilidad roban un electrón a otra molécula, dejándola inestable; las ERO son moléculas oxidantes que contienen en su estructura al menos un oxígeno y que son RL o se transforman fácilmente en uno (Velázquez-Paniagua et al., 2004; Dorado-Martínez, et al., 2003).

El vanadio promueve la formación de RL y ERO, particularmente de radicales hidroxilo, peróxido de hidrógeno y el anión superóxido (Colín-Barenque & Fortoul, 2007). Estos radicales libres, son producidos gracias a la reducción intracelular del  $V^V$  a  $V^{IV}$ , por moléculas reductoras como el NADPH (principalmente) o el ácido ascórbico, y/o pueden producirse mediante reacciones tipo Fenton. Cuando el vanadio en su estado IV y/o V se encuentra en condiciones fisiológicas normales, en un pH de 7, y en combinación con el peróxido de hidrógeno, suele producir esta reacción tipo Fenton,

propiciando la generación del radical hidroxilo (Fig. 1). Este radical puede producir un radical superóxido, y posteriormente con ayuda de la superóxido dismutasa (SOD), es transformado en oxígeno y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, el cual vuelve a entrar a la reacción tipo Fenton (Colin-Barenque & Fortoul, 2007).



**Figura 1.** Representación esquemática de la reacción tipo Fenton que produce el vanadio (Colín-Barenque, 2007).

El radical superóxido (O<sup>-</sup><sub>2</sub>) se puede producir cuando el vanadato es reducido, intracelularmente, en presencia de oxígeno. Y a su vez, cuando el vanadato se reduce en presencia del radical superóxido se forma el peroxivanadilo [V(IV) – OO·] o el hidroperóxido de vanadilo [V(IV) – OH·] (Capella et al., 2002; Mussali-Galante et al., 2007; Astiz, 2009)

Estas moléculas reactivas, producen diversos daños a nivel celular. El radical superóxido puede interferir con enzimas antioxidantes como las catalasa y el glutatión reductasa, así como puede iniciar la peroxidación de ácidos grasos, aunque esto último no sucede usualmente (Tabatabaie y Floyd, 1994; Franceschutti et al., 1996). Por su parte, el radical hidroxilo, lleva a cabo la peroxidación lipídica, reacciona con carbohidratos, amino ácidos, fosfolípidos, ácidos orgánicos y bases nucleicas, e induce rompimientos de las cadenas de ácidos nucleicos (Astiz, 2009; Halliwell y Gutteridge, 1999).

Es importante mencionar, que el vanadio produce un decremento en la función antioxidante, ya que disminuye la función de enzimas como SOD, la catalasa, y la glutatión peroxidasa, y al aumentar la producción de moléculas pro-oxidantes, la capacidad de reparar el daño oxidante no es suficiente, y por lo tanto se produce el estrés oxidante (Mussali-Galante et al., 2007).

### **I.3 Antioxidantes**

Una opción para evitar los efectos del estrés oxidante y de los radicales libres provocados por contaminantes y por procesos naturales, es el uso de antioxidantes. Se considera como un antioxidante a aquellos compuestos que son capaces de retrasar o inhibir la tasa de oxidación de otras moléculas provocada por radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO) (Martínez-Valverde et al., 2000). Como ya se mencionó anteriormente, los RL roban electrones de otras moléculas, dejándolas inestables, por lo tanto la acción de un antioxidante consiste en interactuar con un RL y cederle un electrón para permitir que la molécula se vuelva estable y éste se oxida convirtiéndose en un radical débil no tóxico (Velázquez-Paniagua et al., 2004).

Existen dos tipos principales de antioxidantes, los exógenos y los endógenos. Los primeros son aquellos que deben ser suplementados en la dieta, ya que no se sintetizan de manera natural en el cuerpo e incluyen a las vitaminas, algunos metales como el magnesio y zinc, compuestos fenólicos, entre otros (Elliot, 1999; Martínez-Valverde et al., 2000; Velázquez-Paniagua et al., 2004), mientras que los endógenos se refieren a aquellos que son proporcionados por el propio sistema biológico e incluyen un gran número de moléculas entre las que destacan la SOD, la glutatión peroxidasa y reductasa, las catalasas, los estrógenos, ácido úrico, melatonina y la carnosina, entre otros (Velázquez-Paniagua et al., 2004).

### **I.3.1 Carnosina**

La carnosina es un dipéptido constituido de  $\beta$ -alanina y de L-histidina, el cual fue descubierto en el año de 1900 (Boldyrev, et al., 2010). Se sintetiza de forma natural en las células gliales, en el BO y células musculares, y su mayor concentración se da principalmente en músculo esquelético (1-20mM), estómago, riñón, músculo cardíaco y cerebro, en el cual se acumula en las neuronas del bulbo olfatorio y células gliales (Mizuno, et al., 2014). Es un compuesto soluble en agua, que tiene tres grupos ionizables los cuales son, un grupo carboxilo, un amino del residuo de  $\beta$ -alanina y los grupos nitrógeno de la cadena de imidazol (Boldyrev, et al., 2013).

Se ha reportado que la carnosina es neuroprotector y tiene diferentes funciones en el organismo; posee un gran poder antioxidante y una gran capacidad de secuestrar RL, es un quelante de metales, iones (principalmente Zn, Cu y Ca, pero también de metales pesados) y aldehídos, suprime la glicación de proteínas, evita el entrecruzamiento e inhibe la reducción de proteínas y azúcares, tiene efecto antiinflamatorio, antiapoptótico y antineoplásico, tiene efecto amortiguador en el ambiente celular y estimula la circulación en cerebro y músculo (Mizuno, et al., 2014; Boldyrev, et al 2010; Hipkiss, 2004; 1997; Afshin-Majd, et al, 2014; Quinn, et al., 1992).

La carnosina se sintetiza gracias a la enzima Carnosina Sintasa (CS) y se degrada por las carnosinasas (CN), las cuales son enzimas hidrolíticas. Existen dos tipos de carnosinasas, la CN1 o del suero (la cual controla la concentración de carnosina en el cerebro) y la CN2 o del tejido. Las CN son producidas en el hígado y liberadas al torrente sanguíneo (Boldyrev, et al., 2013); su concentración y actividad es baja a la hora del nacimiento y va aumentando conforme el crecimiento del organismo, y es mucho mayor en machos que en hembras. Tanto la CS como las CN se encuentran presentes en el líquido intracelular y el cerebro (Mizuno, et al., 2014).

Es importante mencionar que la concentración de carnosina presente en el organismo depende de varios factores, como lo es la edad, ya que varía en las diferentes etapas y es mucho menor en una edad avanzada, el sexo, debido a que los machos presentan una mayor concentración, y es también dependiente de la dieta. En animales, la concentración de carnosina (en el músculo) también puede verse afectada, por el estrés (Mizuno, et al., 2014).

### **I.3.1.1 Efectos fisiológicos**

En cuanto a las funciones que tiene la carnosina en el cuerpo, se le ha atribuido un papel importante en la contracción y reducción de la fatiga del músculo esquelético; también se ve involucrada en el sistema cardiovascular, ya que se ha observado que disminuye la presión sanguínea por su acción vasodilatadora, tiene efectos antihipertensivos e hipotensos, ayuda a la contracción del músculo cardíaco, así mismo controla la glicemia y tiene efectos inmunomoduladores. En el SNC, principalmente en el cerebro, se ha observado que está involucrada en procesos de neurotransmisión sensorial, tanto como neuromodulador así como neurotransmisor, así mismo, también evita y retrasa la muerte neuronal ocasionada por procesos de estrés oxidante y de neurotoxicidad, y evita daño a las estructuras neuronales, como las espinas dendríticas. También tiene acción en órganos sensitivos, ya que mejora la capacidad auditiva y protege las células de la retina (Boldyrev, et al, 2013; Mizuno, et al., 2014; Quinn, et al., 1992).

### **I.3.2 Carnosina en el SNC**

Como se mencionó anteriormente, la mayor concentración de carnosina en el cerebro, se encuentra en el bulbo olfatorio y actúa como neuromodulador y neuroprotector en el SNC (Boldyrev, et al, 2013). Gracias a las propiedades antiglicantes, en el lóbulo olfatorio reacciona con agentes tóxicos que dañan proteínas como el metilglioxal (Hipkiss, 2010), también actúa como agente antiexcitotóxico pues protege contra la neurotoxicidad inducida por el NMDA e inhibe la liberación de glutamato; tiene efecto antiapoptótico y antinecrótico (Shen, et al., 2007). En estudios previos realizados con la administración intraperitoneal de carnosina en ratas, se ha observado que bajo condiciones de hipoxia, la carnosina aumenta el tiempo para la pérdida de conocimiento, de coordinación y de respiración, así como disminuye el tiempo de recuperación (Boldyrev, et al., 1997). Se ha visto que juega un papel importante en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, el Parkinson y la demencia vascular, así como en diversas oculares, ya que ha mejorado la visión en pacientes con cataratas y glaucoma (ya que esta última enfermedad es análoga al Alzheimer) (Boldyrev, et al., 2008; Mizuno, et al., 2014; Babizhayev, 2009). En algunos modelos animales se ha observado su importancia

en eventos de isquemia, ya que reduce los daños provocados en las neuronas del estriado y atenúa los síntomas de estas enfermedades (tanto en locomoción como en el estado neurológico). (Rajanikant, et al., 2007).

En estudios realizados en nuestro laboratorio y en el modelo por inhalación de  $V_2O_5$  (0.02M) y administración oral de carnosina 1mg/kg durante cuatro semanas, se observó que la carnosina tiene la capacidad de reducir la pérdida de espinas dendríticas en BO y giro dentado, la muerte neuronal de tipo necrótica en el BO e hipocampo, disminuye el daño ultraestructural en las neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo, y de las neuronas granulosas del BO y disminuye la peroxidación lipídica. (Colín-Barenque, et al, 2011;2012;2013; Reséndiz, 2014; Valencia, et al., 2013)

### **I.3.3 Carnosina y conducta**

Debido a la alta concentración de carnosina en el músculo esquelético y su función para promover la contracción del mismo, ha sido altamente estudiada para su uso en atletas para lograr una mejora en su rendimiento y una menor fatiga. Se ha observado que la administración de carnosina en la dieta mejora la función muscular y disminuye la fatiga del mismo cuando se realiza ejercicio de alta intensidad por mas de 60 segundos (Artioli, et al, 2010; Gibbons, et al., 2014). Así mismo, se ha utilizado para tratar diversas enfermedades como el autismo y la esquizofrenia, así como enfermedades neurodegenerativas ya que atenúan los síntomas físicos e impedimentos musculares de estas últimas (Boldyrev, et al., 2008). En ratas hemiparkinsonianas, se observó que la administración intraperitoneal de carnosina, redujo la conducta de giro (Afshin-Majd, et al, 2014). En pacientes esquizofrénicos, se observó que una dieta suplementada con L-carnosina incrementó la plasticidad y capacidad cognitiva, la eficacia y el tiempo de reacción (Gibbons, et al., 2014; Chengappa, et al., 2012; Bhattacharya, et al., 2015). Además, en un estudio realizado con niños y adolescentes autistas, se vio un incremento en la conducta social de los pacientes, ya que mejoró el lenguaje receptivo, la comunicación y los patrones sociales, aunque en ocasiones los pacientes llegaron a presentar hiperactividad, lo cual se eliminó reduciendo la dosis (Chez, et al., 2002; Chengappa, et al., 2012).

Cabe mencionar, que la hiperactividad provocada por la carnosina, ha sido estudiada previamente en pollos inyectados intracerebroventricularmente con este dipéptido. Durante el estudio se observó claramente la hiperactividad denotada por el aumento espontáneo de la actividad y de vocalizaciones en llamada de alarma; así mismo, se denota que la hiperactividad es causada por la  $\beta$ -alanina unida a cualquier otro péptido, como la leucina o la glicina, ya que ésta de manera aislada provoca hipoactividad, y al unirse con otro péptido, provoca el efecto contrario (Tsuneyoshi, et. al., 2007; Tomonaga, et. al., 2004).

En nuestro modelo de inhalación, donde se utilizaron ratones que inhalaban pentóxido de vanadio y que fueron tratados con carnosina, se ha observado en la prueba de la viga, donde se evaluó la conducta motora, que los ratones tratados con carnosina y expuestos a vanadio tardaron menor tiempo en hacer el recorrido de la longitud de la viga, que aquellos expuestos únicamente a vanadio (Perete, 2016).

#### **I.4 Conducta social**

La sociabilización se refiere a la tendencia significativa que tiene un individuo de pasar tiempo con otro e interactuar con él (Moy, et al., 2004). Para muchas especies la sociabilización es un aspecto biológico adaptativo fundamental, ya que los comportamientos sexuales y la supervivencia de muchos organismos depende de la interacción social con otros de su misma especie. Para animales como los ratones, el reconocimiento social es indispensable para mantener la estructura y estabilidad del grupo, así como para mantener la jerarquía y para la elección de pareja (Kaidanovich-Beilin, et al., 2011). La habilidad de socializar, no es lo único crucial, si no que también deben tener la habilidad de aprender, reconocer y recordar individuos para mantener la estabilidad del grupo (Kogan, Franklandand, & Silva, 2000).

Dentro de la conducta social, también se reconoce la preferencia por individuos nuevos, que se define como la tendencia a pasar un mayor tiempo con un ratón nuevo, es que decir, que apenas se va a conocer, que con uno previamente conocido o familiar (Moy, et al., 2004; Silverman, et al., 2010; Kaidanovich-Beilin, et al., 2011). Cabe mencionar que la conducta suele verse afectada por la presencia de ciertos contaminantes en el aire, se ha observado que la presencia de algunos metales en las partículas del aire, afectan diversas tareas que contribuyen a un déficit de la conducta. Ortega et al. en 2005, observaron que la presencia de plomo provoca déficits de atención, disminución del rendimiento, impulsividad y agresividad; el mercurio, en bajas dosis provoca alteración del lenguaje y memoria, y en altas dosis provoca también alteraciones visuales y motoras. El manganeso, provoca hiperactividad y trastornos de aprendizaje, mientras que el cadmio provoca hiperactividad, alteraciones del lenguaje y disminución del QI (Ortega, et al., 2005). El vanadio provoca, déficits de conducta (reducción en la actividad locomotora, menor movimiento vertical y horizontal debido a que existe un menor soporte en las extremidades posteriores por poca fuerza falta de desarrollo muscular) y geotaxia negativa (Olopade, et al., 2011; Mustapha, et al., 2014).

*Mus musculus* es una especie social que tiene altos niveles de interacción social recíproca, jerarquización, comportamientos sexuales y parentales, anidación comunal, marcaje territorial y comportamientos agresivos. Para esta especie y su interacción social, es de vital importancia el olfato,

ya que el reconocimiento social se da a través de la olfacción. Los ratones suelen olfatear los olores nuevos y rápidamente se acostumbran a ellos (Moy, et al., 2004; Kaidanovich-Beilin, et al., 2011).

#### **I.4.1 Estructuras involucradas en la conducta social de ratones**

##### **I.4.1.1 Corteza cerebral**

La corteza cerebral es la cubierta de materia gris, que se encuentra recubriendo los hemisferios. Representa el 80% del peso del encéfalo y contiene aproximadamente el 70% de las neuronas del SNC, aunque su grosor es únicamente de 2-3mm. Se divide principalmente en dos tipos: la corteza primaria y la corteza de asociación. La primera está relacionada con funciones relativamente simples, pues recibe la información sensitiva (visión, audición y sensaciones somáticas) o bien, produce directamente movimientos de las extremidades y oculares. El segundo tipo de corteza, involucra funciones mas complejas como el lenguaje, abstracción, creatividad, atención, juicio, motivación, memoria y emociones y se encuentra involucrado con la integración en la realización de movimientos (Swenson, 2006).

Cuando ocurren lesiones en la corteza sensorial se provoca un decremento en el umbral sensitivo, inhabilidad para discriminar los estímulos táctiles o de identificar objetos por medio del tacto y deterioro en la discriminación sensorial. Mientras que cuando ocurren lesiones en la corteza motora se provoca debilidad contralateral espástica, principalmente en las extremidades, y puede provocar inhabilidad para iniciar movimientos (abulia) (Swenson, 2006).

Cabe mencionar que, dentro de la corteza motora, existen otros tipos de cortezas, en las que se incluyen la límbica y la prefrontal. Cuando ocurren lesiones en éstas, se afectan el razonamiento y las emociones, en animales bloquea las respuestas emocionales y dejan de tener miedo a cosas que naturalmente deberían temerles, se vuelven hipersexuales y tienen comportamientos compulsivos de exploración principalmente los realizan con la boca (Swenson, 2006).

##### **I.4.1.2 Hipocampo**

El hipocampo es una zona antigua de la corteza cerebral, compuesta por tres capas. Consta de diversas partes, como el giro dentado y el Cuerno de Ammon (CA), que a su vez se divide en cuatro regiones (denominadas CA1 a CA4). Éste, está involucrado con funciones de la memoria declarativa o explícita, juega un papel importante en la memoria a corto plazo, permite la recuperación de recuerdos y permite entender las relaciones espaciales con el ambiente. La memoria explícita se refiere a aquella memoria sobre eventos y hechos. Las lesiones en el hipocampo no afectan memorias ya establecidas, pero afecta el nuevo aprendizaje declarativo (Swenson, 2006). Se ha observado que cuando se lesiona

la parte dorsal del hipocampo hay fallas en la adquisición y recuperación de recuerdos de la memoria espacial al momento de realizar alguna tarea (Moser & Moser, 1998).

Alteraciones en el hipocampo provocadas por contaminantes como el vanadio, provocan disfunción en la memoria, principalmente en la memoria espacial (Avila-Costa, et al., 2006).

#### **I.4.1.3 Núcleo Estriado**

El estriado está compuesto por el caudado-putamen . Es un componente primordial de los ganglios basales y está íntimamente relacionado con la corteza (Soriano & Blanch, 2007). Se encarga de la memoria no declarativa o aprendizaje procedimental, y junto con la corteza frontal forma un sistema integrado que involucra el aprendizaje y la planeación y selección de movimientos (Dagher, et al., 2001). En nuestro modelo, se ha observado, que en la exposición al vanadio existe pérdida de las neuronas de la *sustancia nigra*, provocando pérdida de espinas dendríticas de las neuronas medianas del estriado, la cual es muy notable después de la tercera semana de exposición a vanadio (Avila-Costa, et al., 2004), y según lo estudiado por Ingham et al., la denervación unilateral de dopamina, puede provocar disfunciones motoras (Ingham et al., 1989).

#### **I.4.1.4 Bulbo olfatorio**

El BO es una extensión del prosencéfalo que se encarga de procesar las señales moleculares que generan al sentido del olfato. Las señales sensitivas son recibidas por las neuronas sensitivas del olfato y posteriormente se envía esta información a la corteza olfativa. Para muchos mamíferos, como los ratones, el olfato es el medio principal para recibir información del ambiente y establecer relaciones sociales. En enfermedades neurodegenerativas, es éste, el primero en mostrar señales de neurodegeneración (Shepherd y Greer, 1998)

En investigaciones previas en nuestro modelo, se ha observado, que tras la inhalación de pentóxido de vanadio durante cuatro semanas, y como consecuencia de la pérdida de espinas dendríticas de las células del BO, se presenta disminución en la capacidad olfatoria, (Colín-Barenque, et al., 2015). Se observó también, que el grupo expuesto a  $V_2O_5$  y tratado con carnosina, también realizó un tiempo significativamente mayor que el grupo control, demostrando que en los ratones macho, la carnosina no mejora la función olfatoria, a pesar de la mejora a nivel citológico (Reséndiz, 2014).

### **I.5 Pruebas de conducta social**

Existen varias pruebas para evaluar la interacción social, que han sido descritas en literatura, en donde se pueden medir parámetros como interacciones sociales, comportamientos sexuales y parentales, marcaje de territorio y comportamientos agresivos, entre otros. A continuación, se

mencionan algunas pruebas representativas para observar y medir los cambios en la conducta. (Silverman, et al., 2010).

- **Interacción social recíproca:** mide el grado de interacción entre parejas o grupos de ratones que han sido colocados en cajas estándar, suele utilizarse para evaluar la trayectoria a través de diferentes etapas de neurodesarrollo. Se pueden utilizar ratones jóvenes o adultos. Toma en cuenta, olfaciones nariz-nariz, nariz-zona urogenital, contacto físico entre individuos, seguimiento de un individuo a otro (persecución), lucha entre individuos, caminado por encima de otro. (Silverman, et al., 2010).
- **Aproximación (afiliación social):** mide la aproximación social directa de manera estandarizada, pero arroja menos detalles que la prueba de interacción social recíproca. Se trabaja en una caja dividida en tres compartimentos, el central se encuentra vacío, en uno de los lados se encuentra una copa de metal con un ratón desconocido adentro y del otro lado únicamente una copa de metal vacía (objeto inanimado). El grado de socialización se mide como el tiempo que pasa el ratón en estudio, en el compartimento donde hay un ratón desconocido en lugar de con el objeto inanimado. La aproximación social únicamente es iniciada por el ratón en estudio. El uso de las copas de metal, permite la olfacción, contacto visual, auditivo y el contacto físico (restringido) y evita agresiones y comportamientos sexuales, permitiendo que en los datos no exista una gran cantidad de variables y se pueda observar únicamente el interés en aproximarse y mantenerse en contacto con el ratón desconocido. Se mide mediante el tiempo que el ratón en estudio pasa olfateando cada una de las copas, así como el número de entradas a cada compartimento, esto último, es una medida de evaluación de la locomoción. (Silverman, et al., 2010).
- **Prueba de división:** durante esta prueba, se mide el interés de un ratón en una pareja social y la memoria del ratón en cuestión sobre otro (esto cuando se utiliza mas de un ratón “pareja”). Se lleva a cabo en una caja dividida a la mitad por una pared plástica transparente con pequeño hoyos, a través de la cual se le permite al ratón en cuestión ver, oír y oler al ratón “pareja” colocado del otro lado. No se permite el contacto físico. (Silverman, et al., 2010).
- **Prueba de preferencia social:** se utiliza para evaluar afiliación, reconocimiento y memoria social. Se utiliza una caja con tres compartimentos, el central se encuentra vacío, y los laterales, tienen una copa de metal cada uno, con un ratón dentro. Uno de los ratones, ya ha es conocido del ratón en cuestión, pueden ser familiares, compartir la caja de donde viven o bien, haber sido previamente conocido en otra prueba. El segundo ratón, debe ser totalmente desconocido para

el ratón en cuestión. Se evalúa mediante el tiempo que se pasa interactuando con cada uno de los ratones en las copas de los compartimentos. (Silverman, et al., 2010).

- Prueba de Crawley: incluye las pruebas de aproximación social y de preferencia social (preferencia por individuos nuevos). Evalúa la afiliación o motivación social y la memoria social y novedad (Kaidanovich-Beilin, et al., 2011).

Es importante considerar que los ratones en estudio, en un inicio, se encuentren en buenas condiciones, para evitar falsos positivos en algunos comportamientos. Se debe evitar que presenten principalmente déficits olfatorios y disfunciones motoras que puedan afectar la aproximación y reconocimiento social, la discriminación olfatoria, la locomoción y exploración del área donde se realiza el estudio (Silverman, et al., 2010).

## **II. Justificación**

Recientemente se ha observado que los niveles de contaminación en la Ciudad de México, así como en muchas ciudades cosmopolitas, han ido en aumento, al igual que la concentración de vanadio. En estudios previos, se ha hecho notar que la exposición subaguda a vanadio por la vía inhalada produce neurodegeneración causada por la producción excesiva de radicales libres, provocando así daño en estructuras fundamentales que permiten un buen desempeño de la conducta social. Debido a esto, es importante evaluar el cambio en los patrones conductuales de ratones expuestos a dicho metal. Así mismo se considera relevante estudiar el uso de antioxidantes como la carnosina, como potencial neuroprotector que ayuda a mitigar, o disminuir el daño causado por contaminantes, tales como el vanadio, y que se vea reflejado en la patrones conductuales de sociabilización.

## **III. Hipótesis**

Sí al exponer a ratones macho de la cepa CD-1 a vanadio por vía inhalada, se observa daño citológico en estructuras como el bulbo olfatorio, la corteza cerebral, el estriado y el hipocampo, y éste se ve mitigado por la administración de carnosina oral, entonces el daño provocado por el vanadio deberá tener también repercusiones en los patrones de sociabilización y conductuales de los ratones, los cuales se beneficiarán con el uso del antioxidante mencionado.

## IV. Objetivo

### IV.1 Objetivo general

- Determinar el cambio en la conducta social en ratones macho provocado por la inhalación de vanadio, y la administración conjunta de carnosina

### IV.2 Objetivos particulares

- Evaluar la conducta social de ratones macho mediante la prueba de Crawley para determinar el cambio en los patrones sociales, como consecuencia de la inhalación de vanadio.
- Determinar el posible efecto neuroprotector de la carnosina en la conducta social.
- Comparar las diferencias en la socialización y la preferencia por individuos nuevos, que hay entre los grupos tratados con pentóxido de vanadio con y sin carnosina.

## V. Método

### V.1 Características del estudio

Se utilizaron 40 ratones macho de la cepa CD-1, con un peso entre 30 y 35 gramos, entre 8 y 12 semanas de edad. Estos fueron colocados en 4 diferentes cajas de acrílico (36.5X26.5X15.5cm), en donde se pusieron 10 ratones en cada una, y se les permitió el acceso a agua y alimento *ad libitum*, y bajo un fotoperiodo 12 horas de luz/12 horas de oscuridad.

### V.2 Tratamientos

Se separaron en 4 grupos diferentes: control, vanadio, vanadio + carnosina y carnosina. Todos los grupos fueron marcados y pesados diariamente, esto último para descartar modificación en el peso como efecto secundario del tratamiento, así como para prescindirlo como una variable en el modelo utilizado. Los grupos vanadio y vanadio + carnosina fueron expuestos a pentóxido de vanadio por vía inhalada dos veces por semana durante una hora en cada exposición. Para realizar la inhalación de vanadio, se les colocó en una caja de acrílico (45.5x35.5x20.5cm) conectada a un nebulizador ultrasónico (Yue Hua ® modelo: WH-802) con una disolución de  $V_2O_5$  a una concentración de 0.02M y una concentración equivalente en la caja de  $1436\mu\text{g}/\text{m}^3$  de vanadio; el tiempo de exposición fue elegido considerando que la vida media del vanadio es de 48 horas y basado en protocolos previamente realizados (Colín-Barenque, et al., 2015).

Por su parte, los grupos control y carnosina inhalaron, bajo las mismas condiciones que los dos grupos anteriores, solución salina, para descartar el estrés provocado durante la inhalación, como una variable. A los grupos de carnosina y de vanadio + carnosina se les administró una disolución de L-Carnosina por vía oral, con la ayuda de una micropipeta, en una dosis de 1mg/kg diariamente. Los tratamientos se llevaron a cabo durante 4 semanas, más una semana inicial de adaptación. Cabe mencionar que tanto la administración de carnosina, así como la inhalación de vanadio, se realizó durante las primeras horas de la mañana. Paralelamente a las cuatro semanas de tratamiento con pentóxido de vanadio y carnosina, se realizó una prueba de conducta social a los ratones de cada grupo, reportada previamente por Crawley.

### **V.3 Prueba de conducta de Crawley**

La prueba de conducta de Crawley consta de 2 pruebas de conducta social que incluyen la prueba de aproximación/afiliación social y la prueba de preferencia por individuos desconocidos. Esta prueba se llevó a cabo en una caja rectangular, la cual cuenta con 3 cámaras, cada una con una dimensión de 19X45 cm, divididas unas de otras por plexiglass transparente, con una abertura en la parte media, para permitir que el ratón se mueva libremente entre las cámaras. Se colocaron 2 contenedores de alambre en forma de copa (de un tamaño tal que quepa un ratón dentro de el), en las cámaras laterales, y las cuales eran idénticas entre sí. El alambre permitía la ventilación entre el interior y el exterior, pero el espacio entre los alambres era lo suficientemente pequeño, como para evitar el contacto físico entre el animal del interior de la copa y el del exterior (Fig. 2). La prueba se llevó a cabo en un cuarto con buena iluminación y sin distractores externos, entre las 9:00 am y las 6:00 pm. Para poder monitorear y registrar la actividad presentada por cada uno de los ratones se hizo uso de una cámara Canon y una computadora; la persona encargada de realizar el experimento se colocó a una distancia mínima de 2 m de la caja. Cabe mencionar que entre un experimento y otro la caja fue limpiada con etanol al 70% y Clidox en una proporción de 1:5:1, para evitar un sesgo en la experimentación.



Figura 2: Caja donde se llevo a cabo la prueba de conducta de Crawley. Se observan los tres compartimentos, y en cada uno de los laterales se observa el contenedor de metal. En la imagen se observa que las entradas hacia los compartimentos laterales están bloqueadas por medio de acrílico negro, para evitar la exploración total del lugar en el tiempo de habituación.

Los animales fueron llevados al cuarto de experimentación 30 minutos antes de la prueba, para permitirles ambientación al medio. Se requieren 2 ratones novedosos por experimento. Una vez comenzada la prueba, se le permitió al ratón habituarse a la caja, colocándolo a la mitad, con las paredes de plexiglass cerradas (aislando los compartimentos laterales por medio de un aditamento de plexiglass negro para evitar que el ratón observara los compartimentos) y las copas vacías, durante 5 minutos.

### **V.3.1 Prueba de afiliación social**

Una vez pasado el tiempo se prosiguió a realizar la prueba 1 o de afiliación social. Para esta prueba se colocó a uno de los dos ratones novedosos (R1) en uno de los contenedores y se abrieron las paredes de plexiglass para permitir el acceso del ratón evaluado hacia las cámaras laterales, durante 10 minutos. Se evaluaron los siguientes puntos:

- Duración de contactos entre el ratón evaluado y los dos contenedores (el que tiene el ratón novedoso y el que no). Se cuenta como contacto las olfacciones hacia las copas, el contacto directo de las patas delanteras del ratón evaluado con cualquiera de los dos contenedores y el contacto directo de las patas del ratón evaluado con las del ratón novedoso dentro del contenedor a través de los orificios de este último.
- Duración y número de entradas a cada compartimento.

### **V.3.2 Prueba de preferencia por individuos nuevos**

Una vez terminada esta prueba se prosiguió a realizar la prueba 2, conocida como preferencia por individuos nuevos /desconocidos. El otro ratón novedoso o ratón 2 (R2) fue colocado en el contenedor que se encontraba vacío en la prueba 1, mientras que el ratón novedoso 1 (R1) siguió presente en el contenedor en el que se encontraba en la prueba anterior. Se midieron los mismos parámetros, mencionados en la prueba anterior, diferenciando los comportamientos entre el ratón evaluado y la presencia, tanto del ratón novedoso 1 como del ratón novedoso 2. (Kaindanovich-Bailin, O, et al., 2011). La prueba de Crawley se realizó en tres ocasiones durante la estancia de los ratones: a los cero días, a los 15 y a los 30 días.

### **V.4 Análisis estadístico**

Posterior a la prueba, con los datos obtenidos, se realizó una prueba estadística ANOVA de una vía y una prueba *post-hoc* de Tukey, realizados con el programa GraphPad Prism 5.

## VI. Resultados

### VI.1 Prueba 1 o de afiliación social

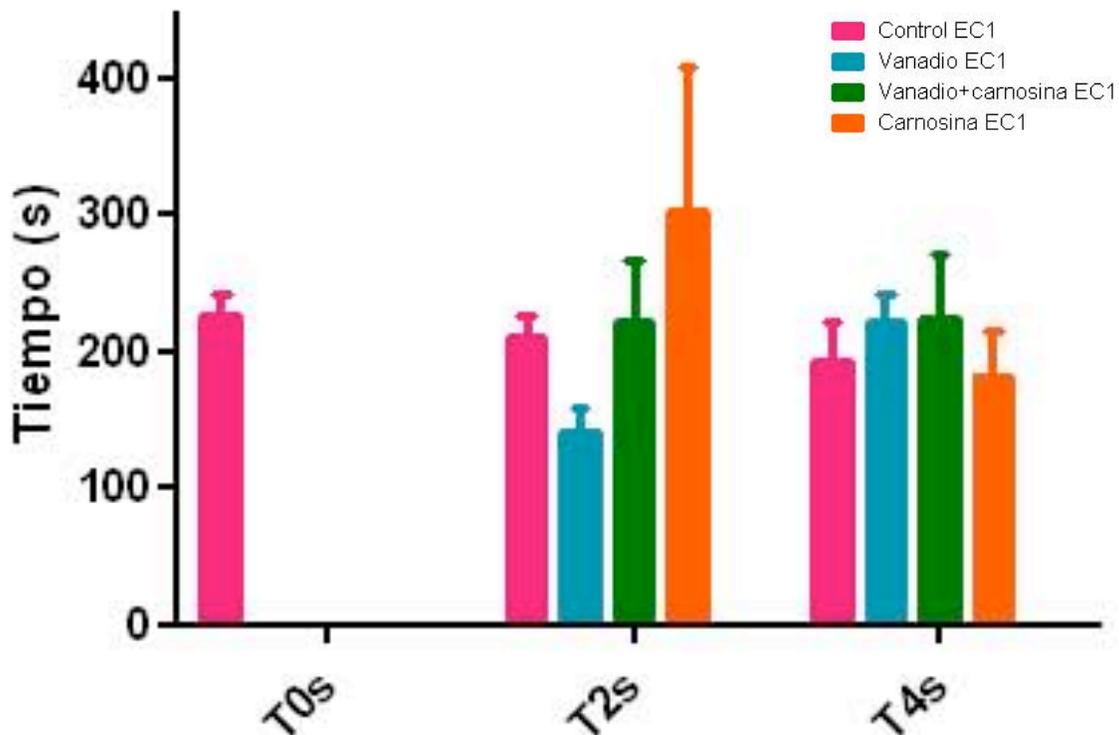
Los resultados obtenidos durante la prueba de afiliación social, muestran que todos los grupos en los tres tiempos de evaluación (0, 2 y 4 semanas de tratamiento) actúan de manera similar en cuanto al tiempo que pasaron en cada uno de los compartimentos (compartimento con ratón y compartimento con la copa vacía) (Gráficas. 1 y 2), ya que no se muestran diferencias significativas, y por lo tanto no se distingue una preferencia en cuanto a la estancia en un compartimento específico, independientemente de la presencia de un ratón (Gráfica 3 y Tabla 1). Sin embargo, se observa, que a pesar de no haber diferencias en el tiempo de estancia, el grupo control (Gráficas 4, 5 y 6), tiene un número significativamente mayor de entradas a ambos compartimentos a las 2 semanas, en comparación con el número de entradas en la semana cero. Los tres grupos experimentales no muestran diferencias significativas en el número de entradas a ninguno de los compartimentos laterales (con ratón y con la copa vacía).

Grupo Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	225.8 $\pm$ 16.93s	209.9 $\pm$ 16.37s	192.9 $\pm$ 28.88s
Vanadio		141 $\pm$ 17.77s	221.1 $\pm$ 22.05s
Vanadio+Carnosina		222.5 $\pm$ 44.32s	223.4 $\pm$ 48.83s
Carnosina		302.9 $\pm$ 105.40s	182.4 $\pm$ 33.07s

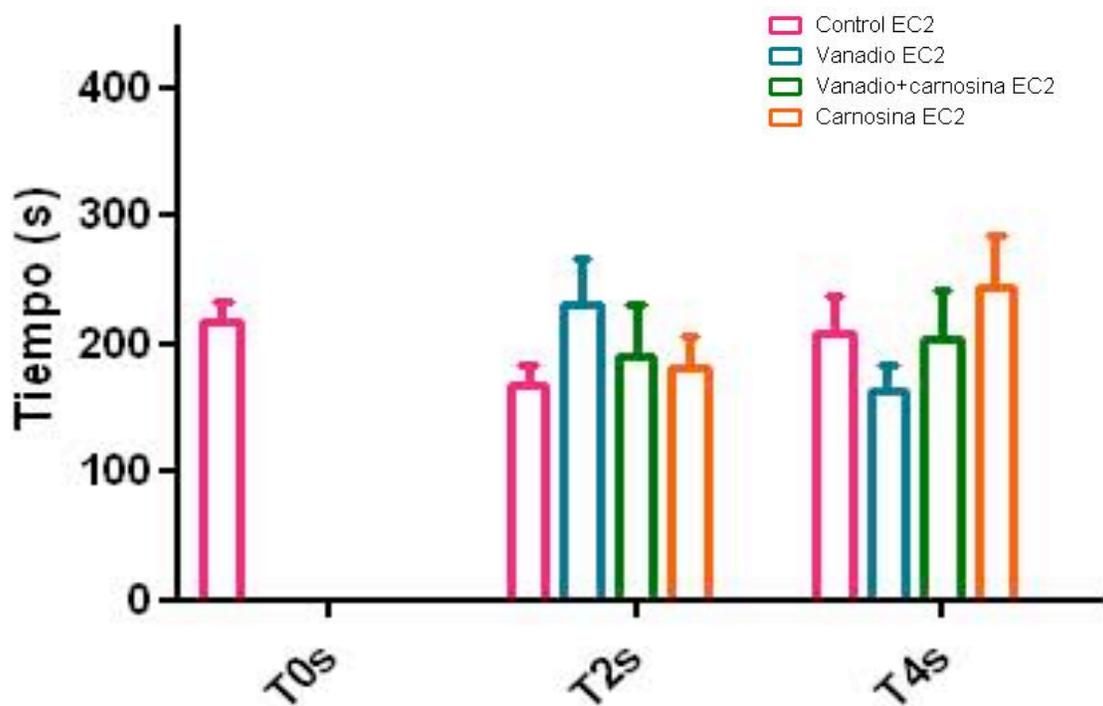
Tabla 1: Tiempo en segundos que los ratones de cada grupo experimental pasaron en el compartimento con ratón (compartimento 1- EC1) en tres tiempos evaluados. En el T0s, todos los grupos fueron agrupados ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.

Grupo \ Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	218.1 $\pm$ 16.12s	167.7 $\pm$ 16.84s	209.0 $\pm$ 29.03s
Vanadio		231.0 $\pm$ 17.77s	164.1 $\pm$ 20.43s
Vanadio+Carnosina		191.6 $\pm$ 40.4s	205.1 $\pm$ 36.97s
Carnosina		182.5 $\pm$ 24.65s	244.9 $\pm$ 40.54s

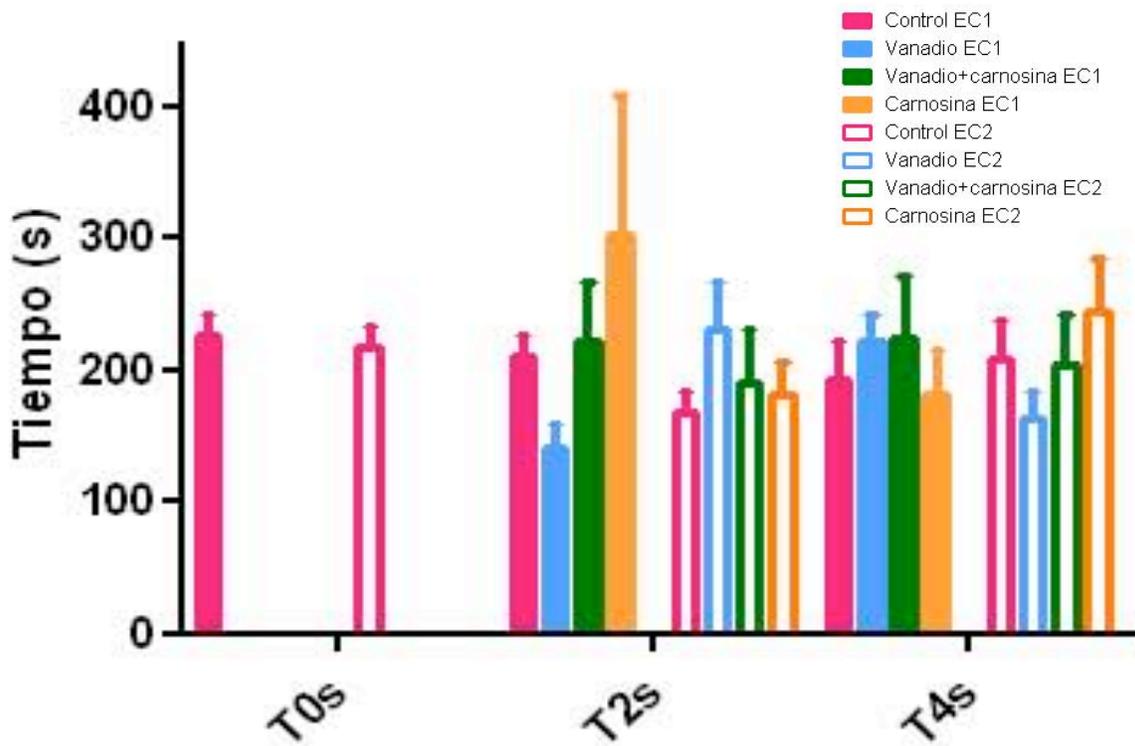
Tabla 2: Tiempo en segundos que los ratones de cada grupo experimental pasaron en el compartimento con la copa vacía (compartimento 2- EC2) en tres tiempos evaluados. En el T0s, todos los grupos fueron agrupados ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.



**Gráfica. 1.** Promedio  $\pm$  error estándar del tiempo de permanencia en el compartimento número uno (EC1), donde se encuentra el ratón desconocido, evaluados en tres periodos (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial ó 0s, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



**Gráfica. 2.** Promedio  $\pm$  error estándar del tiempo en que los ratones de cada grupo pasaron en el compartimento número dos (EC2), donde se encuentra la copa vacía, en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial ó 0s, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



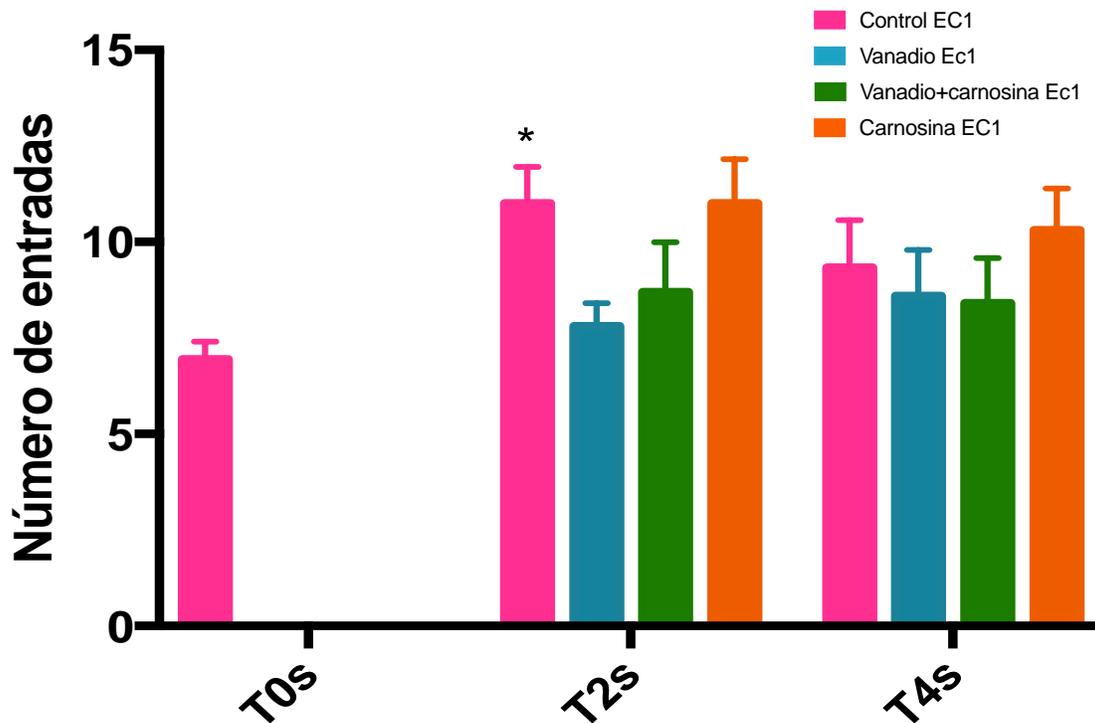
**Gráfica 3.** Comparación del promedio del tiempo en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo pasaron en el compartimento con (EC1) y sin ratón (EC2), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial ó 0s, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).

Grupo Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	6.938 $\pm$ 0.473	11.0 $\pm$ 0.961	9.333 $\pm$ 1.239
Vanadio		7.8 $\pm$ 0.6	8.6 $\pm$ 1.2
Vanadio+Carnosina		8.7 $\pm$ 1.3	8.4 $\pm$ 1.2
Carnosina		11.0 $\pm$ 1.2	10.3 $\pm$ 1.1

Tabla 3: Número de entradas al compartimento con ratón (EC1), que los ratones de cada grupo experimental hicieron en tres tiempos evaluados. En T0s, todos los grupos fueron agrupados ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.

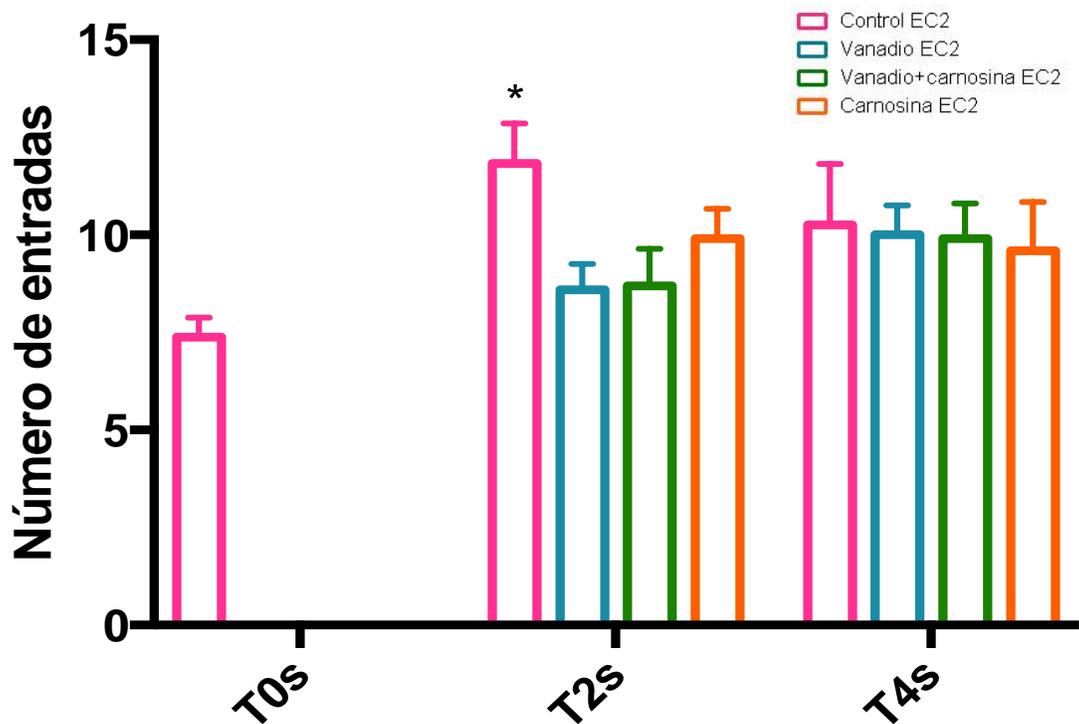
Grupo Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	7.375 $\pm$ 0.512	11.830 $\pm$ 1.029	10.250 $\pm$ 1.572
Vanadio		8.6 $\pm$ 0.7	10.0 $\pm$ 0.8
Vanadio+Carnosina		8.7 $\pm$ 0.9	9.9 $\pm$ 0.9
Carnosina		9.9 $\pm$ 0.8	9.6 $\pm$ 1.2

Tabla 4: Número de entradas al compartimento con la copa vacía (EC2), que los ratones de cada grupo experimental hicieron en tres tiempos evaluados. En T0s, todos los grupos fueron agrupados ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.



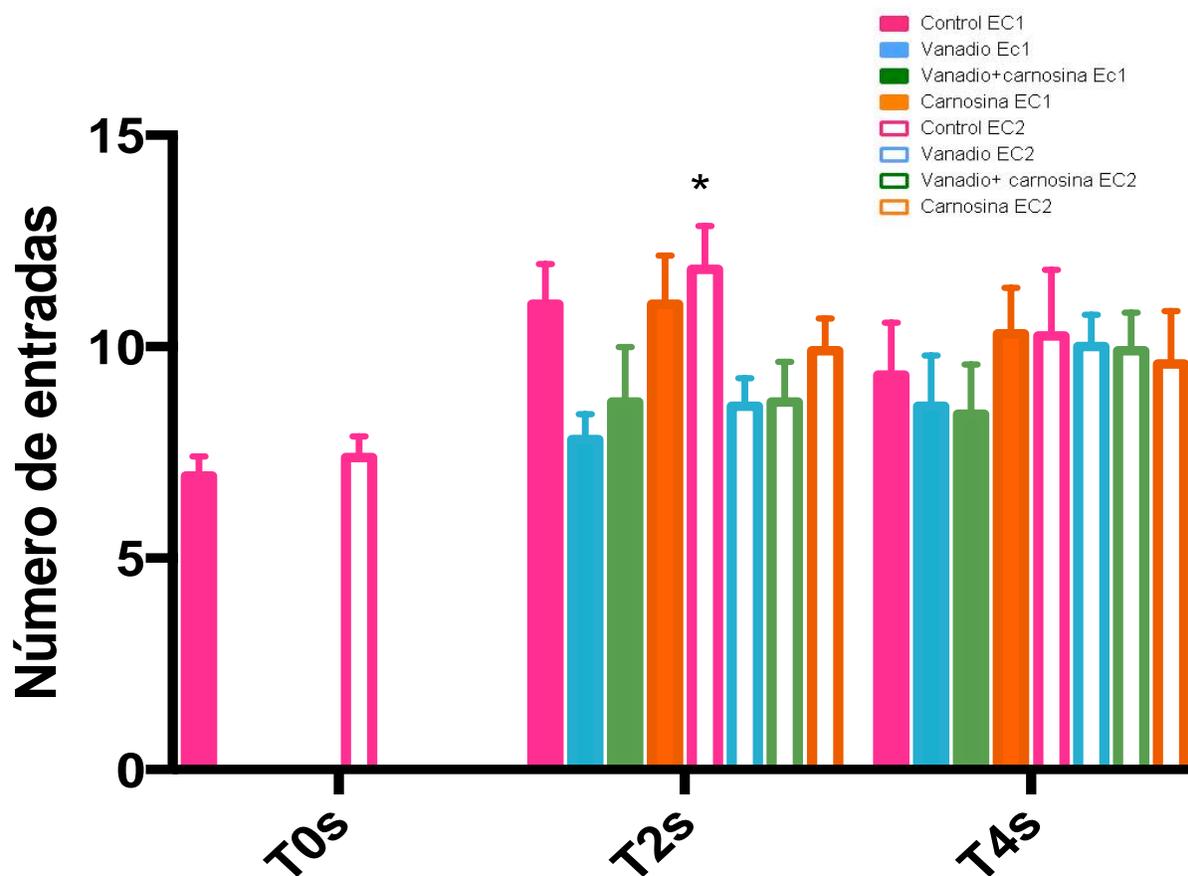
\* Comparación entre el Control en T0s vs. el Control en T2s.  $P < 0.05$

**Gráfica 4.** Promedio del número de entradas  $\pm$  error estándar que los ratones hicieron al compartimento con ratón ó 1 (EC1), en tres periodos de evaluación (inicial ó T0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo  $n=10$ ).



\* Comparación entre el Control en T0s vs. el Control en T2s.  $P < 0.05$

**Gráfica 5.** Promedio del número de entradas  $\pm$  error estándar que los ratones hicieron en el compartimento con la copa vacía, (EC2), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo  $n=10$ ).



\* Comparación entre el número de EC2 del Control en T2s vs. entradas a EC1 del Control en T0s.  $P < 0.05$

**Gráfica 6.** Comparación del número de entradas promedio  $\pm$  error estándar que los ratones de cada grupo hicieron al compartimento con (EC1) y sin ratón (EC2), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo  $n=10$ ).

En cuanto a la interacción con el ratón y con la copa vacía, se observa en los resultados (Tablas 5 y 6) que a las cuatro semanas de tratamiento, los grupos Vanadio+Carnosina y Carnosina se comportan de manera similar y ambos disminuyen de manera significativa el tiempo de interacción con el ratón desconocido, en comparación con el tiempo inicial (Gráfica 7). Sin embargo, su interacción con la copa vacía no se modifica (Gráfica 8), lo que indica que los ratones pertenecientes a estos grupos realizaron otras actividades (diferentes a la interacción con el ratón y con la copa vacía) dentro y fuera de los compartimentos laterales, como puede ser tanto la exploración del área como el acicalamiento. De la interacción de los grupos Control y Vanadio con el contenedor vacío del compartimento 2, tampoco se observa diferencia significativa en el tiempo que pasaron interactuando con ésta, en los

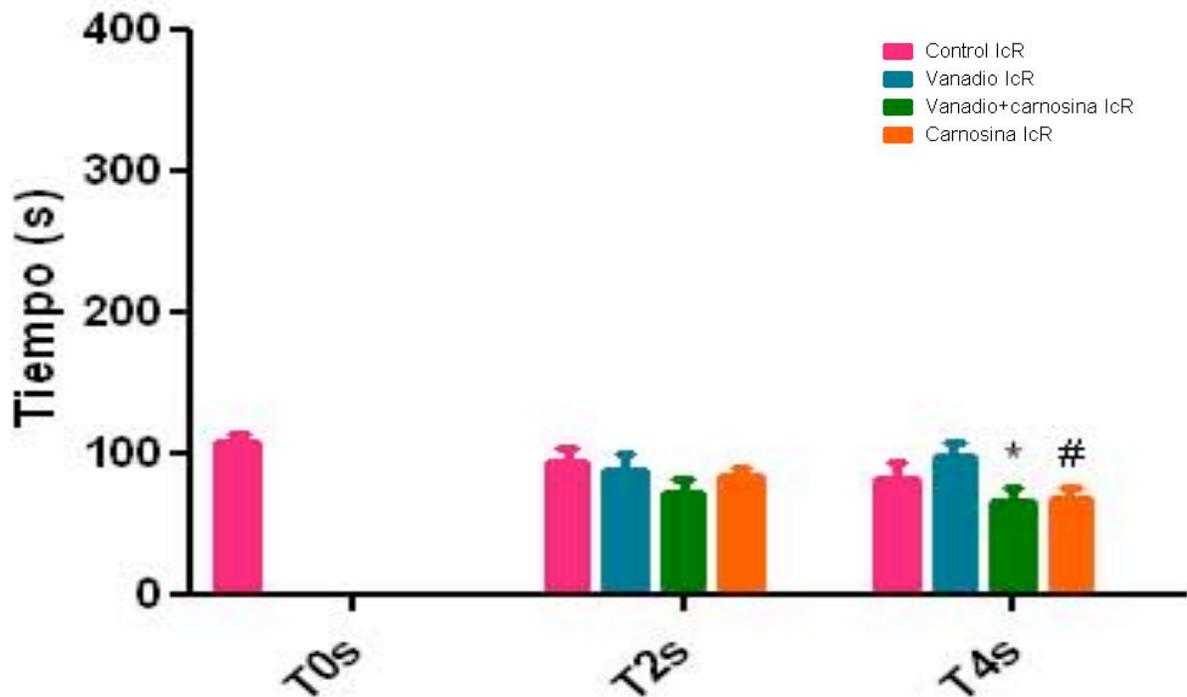
diferentes tiempos de evaluación (0, 2 y 4 semanas). (Gráfica 8). No obstante, al analizar y comparar los tiempos que pasaron los ratones en cuestión interactuando con el ratón desconocido contra los del contenedor vacío, se ve que los 4 grupos tienen un menor tiempo de interacción con la copa vacía que con el ratón desconocido, como era esperado, en los tres tiempos de evaluación (0, 2 y 4 semanas) a excepción del grupo vanadio en la segunda semana, sin embargo basándose en los resultados se puede decir que existe un buen desempeño de los ratones en la prueba, siendo mejor el desempeño para el grupo control y el vanadio. (Gráfica 9).

Grupo Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	106.60 $\pm$ 7.328s	93.58 $\pm$ 9.229s	81.08 $\pm$ 12.280s
Vanadio		86.90 $\pm$ 12.25s	97.00 $\pm$ 11.22s
Vanadio+Carnosina		71.20 $\pm$ 10.13s	65.20 $\pm$ 9.41s
Carnosina		83.30 $\pm$ 5.566s	66.50 $\pm$ 8.618s

Tabla 5: Tiempo en segundos que los ratones de cada grupo experimental que interactuaron con el ratón del compartimento 1 (Interacción con ratón- IcR) en tres tiempos experimentales. Todos los grupos fueron agrupados en T0s, ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.

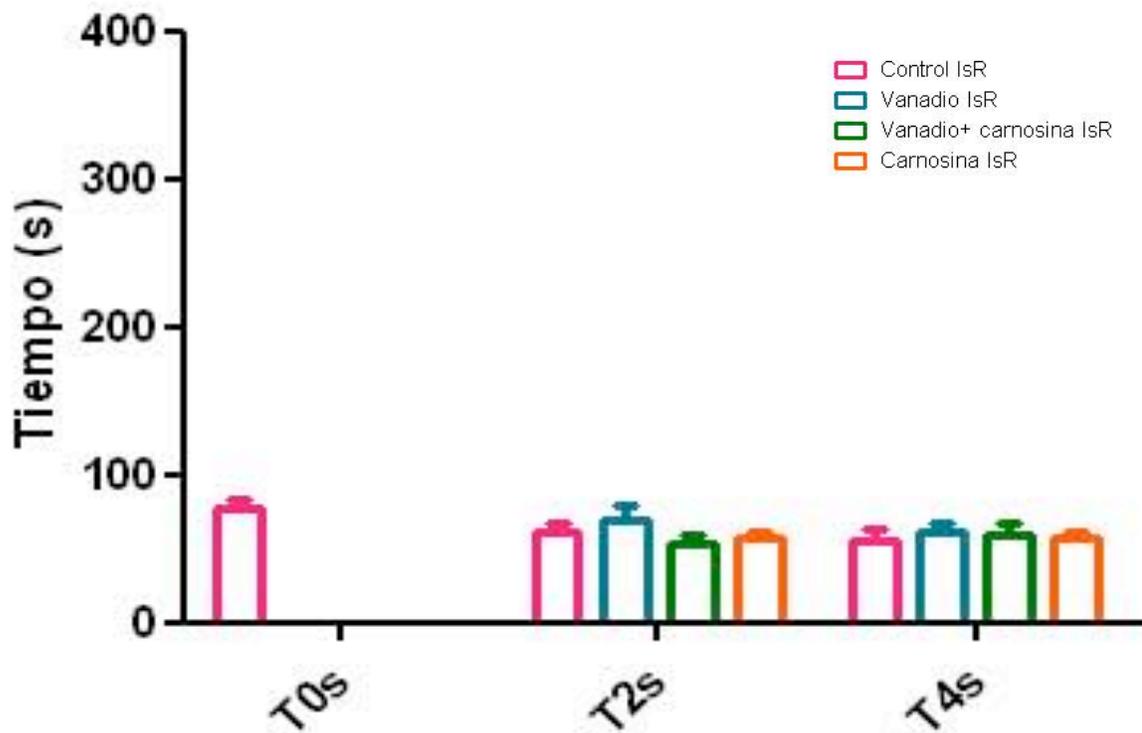
Grupo \ Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	77.47 $\pm$ 5.059s	60.92 $\pm$ 7.039s	56.08 $\pm$ 6.313s
Vanadio		69.50 $\pm$ 9.340s	61.20 $\pm$ 5.372s
Vanadio+Carnosina		53.30 $\pm$ 5.477s	59.20 $\pm$ 7.158s
Carnosina		57.40 $\pm$ 4.423s	56.80 $\pm$ 5.350s

Tabla 6: Tiempo en segundos que los ratones de cada grupo experimental que interactuaron con la copa vacía (Interacción sin ratón- IsR) en tres tiempos experimentales. Todos los grupos fueron agrupados en T0s, ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.

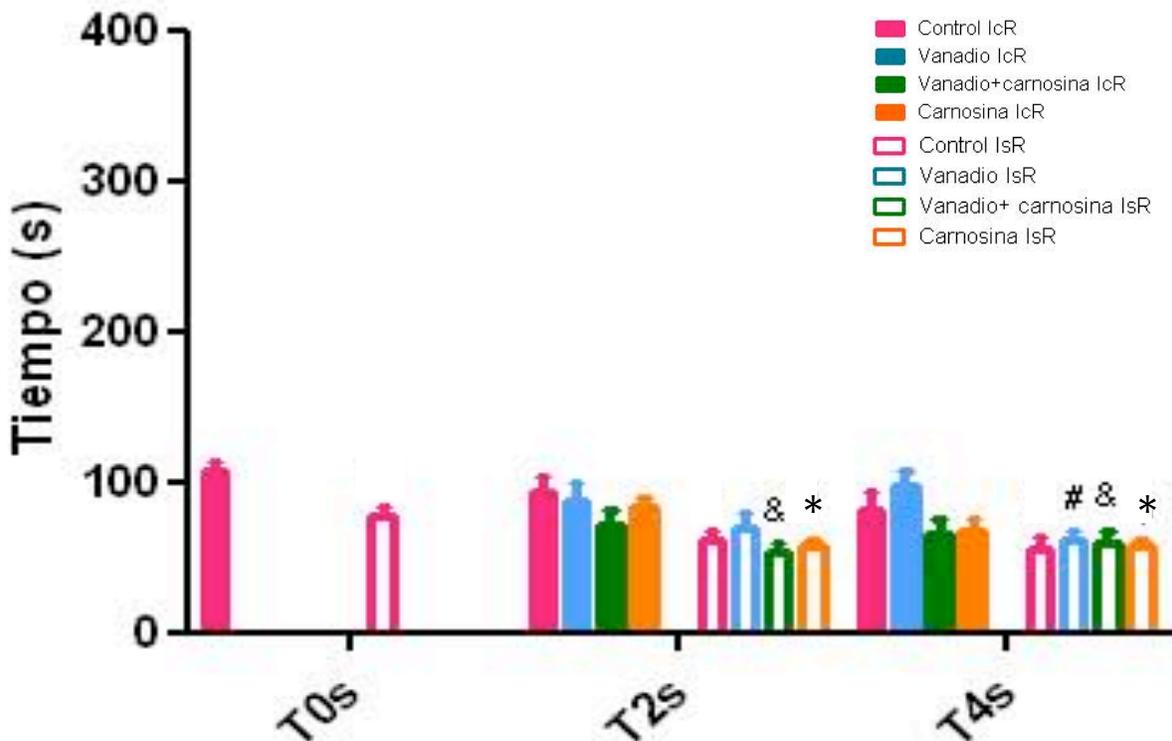


\*Comparación entre el grupo V+C en T4s y el Control T0s  
 #Comparación entre el grupo C T4s y el Control T0s.  
 P<0.05

**Gráfica 7.** Promedio del tiempo en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo interactuaron con el ratón del compartimento con ratón (uno, IcR), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



**Gráfica 8.** Promedio del tiempo en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo pasaron interactuando e investigando la copa vacía del compartimento dos (IsR), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



\* Comparación entre el grupo Carnosina IsR T2s y 4s y el Control IcR T0s.

# Comparación entre el grupo Vanadio IsR en T4s y el Control IcR T0s.

& Comparación entre el grupo V+C IsR en T2s y 4s y el Control IcR T0s.

P<0.05.

**Gráfica 9.** Comparación del tiempo promedio en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo pasaron interactuando tanto con el ratón dentro de la copa en el compartimento uno (IcR) como con la copa vacía del compartimento dos (IsR), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).

## VI.2 Prueba 2 o de preferencia por individuos nuevos

En esta prueba, en cuanto al tiempo que pasaron los ratones en ambos compartimentos (el que tenía el ratón conocido y el nuevo), no se presentaron diferencias significativas ni entre grupos ni en los diferentes tiempos de evaluación (Tablas 7 y 8, Gráficas 10-12), esto puede ser debido a la gran dispersión de los datos, ya que si se observan los datos arrojados en las tablas y gráficas, se puede distinguir un comportamiento distinto entre los grupos; en el caso del grupo control, disminuye el tiempo de estancia en el compartimento uno (que tiene el ratón conocido), de la segunda a la cuarta

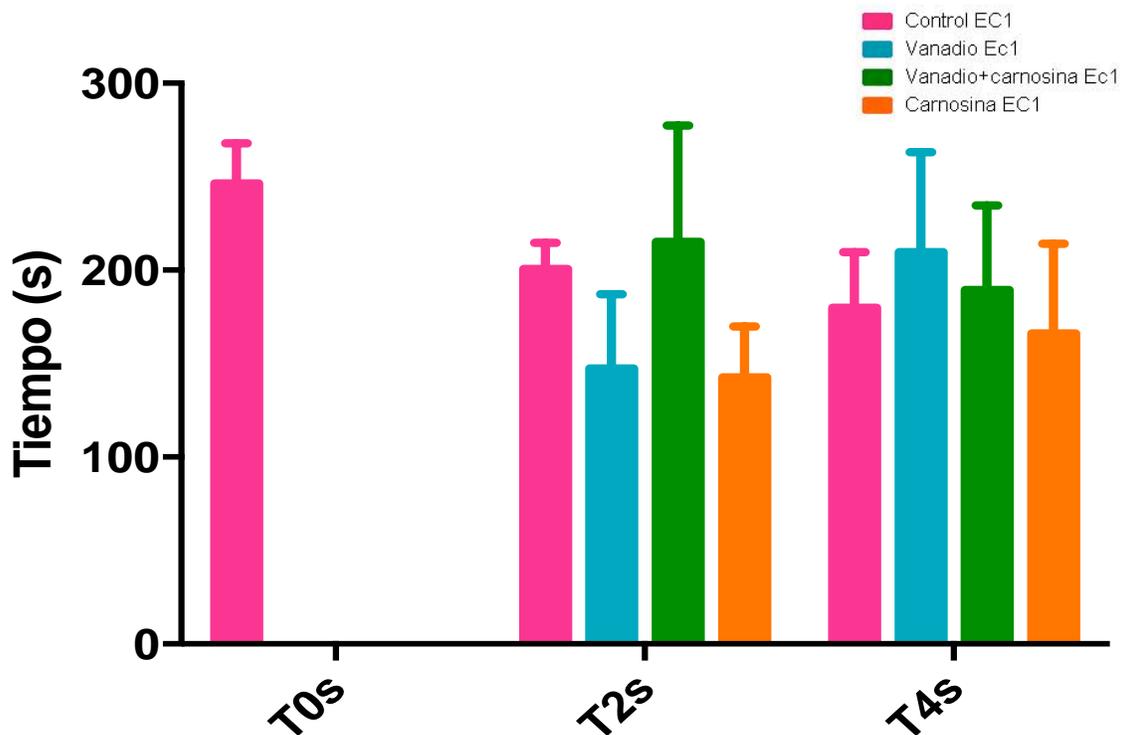
semana, así como aumenta la estancia en el compartimento dos (donde está el ratón nuevo), siguiendo las expectativas de esta prueba. A diferencia del grupo expuesto a vanadio, aumenta el tiempo de estancia en el compartimento del ratón conocido y lo disminuye en el compartimento del ratón nuevo, siendo su desempeño, contrario a lo óptimo determinado en la prueba, que podría ser consecuencia del efecto del vanadio. Para el grupo de vanadio+carnosina, se observa un desempeño similar a lo que sucede en el grupo control, a excepción de que al comparar el tiempo de estancia entre compartimentos a las 4s, el tiempo transcurrido en el compartimento 2 es levemente menor al del compartimento 1, sin embargo el tiempo en el compartimento 2 si aumentó de la segunda a la cuarta semana. En el caso del grupo carnosina, a las cuatro semanas, el tiempo de estancia en el compartimento 2 es mayor que el tiempo que pasan en el compartimento 1, lo cual es exactamente el comportamiento óptimo en esta prueba y lo esperado para dicho grupo.

Grupo Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	246.3 $\pm$ 21.6s	200.6 $\pm$ 14.1s	179.9 $\pm$ 29.7s
Vanadio		147.4 $\pm$ 39.6s	209.7 $\pm$ 53.3s
Vanadio+Carnosina		215.0 $\pm$ 62.4s	189.4 $\pm$ 45.3s
Carnosina		142.5 $\pm$ 27.33s	166.20 $\pm$ 47.93s

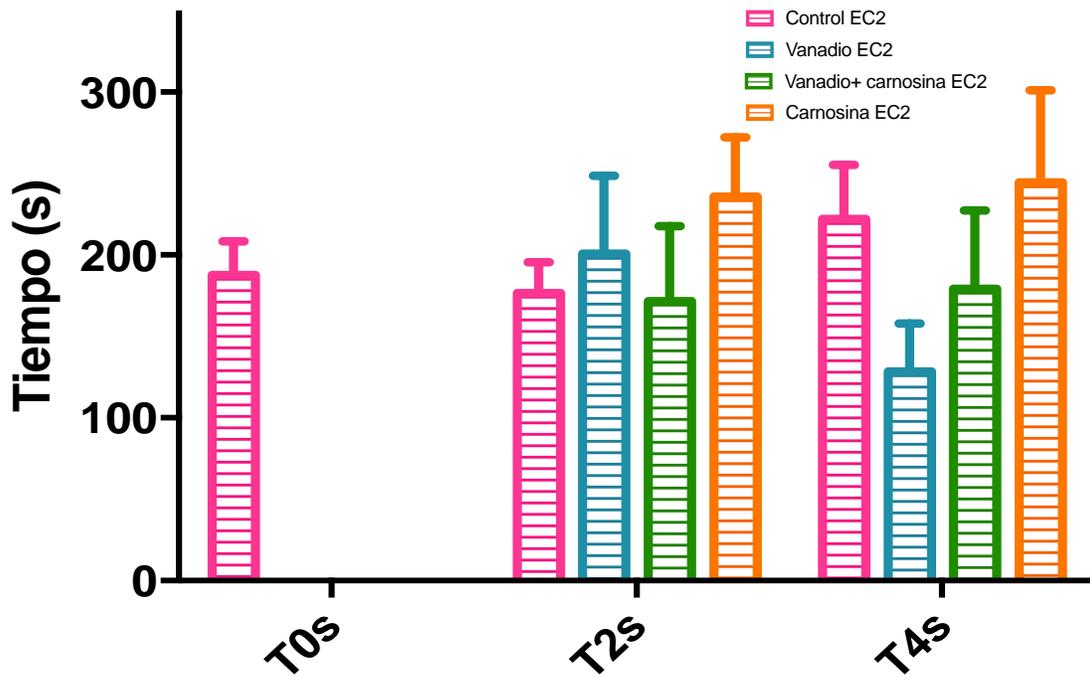
Tabla 7: Tiempo en segundos que los ratones de cada grupo experimental pasaron en el compartimento con el ratón conocido (compartimento 1- EC1) en tres tiempos evaluados. Todos los grupos fueron agrupados en T0s, ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.

Grupo \ Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	187.6 $\pm$ 20.8s	176.6 $\pm$ 19.1s	222.2 $\pm$ 33.2s
Vanadio		200.9 $\pm$ 47.7s	128.4 $\pm$ 29.5s
Vanadio+Carnosina		171.6 $\pm$ 46.0s	179.1 $\pm$ 48.1s
Carnosina		235.8 $\pm$ 36.59s	255.7 $\pm$ 56.53s

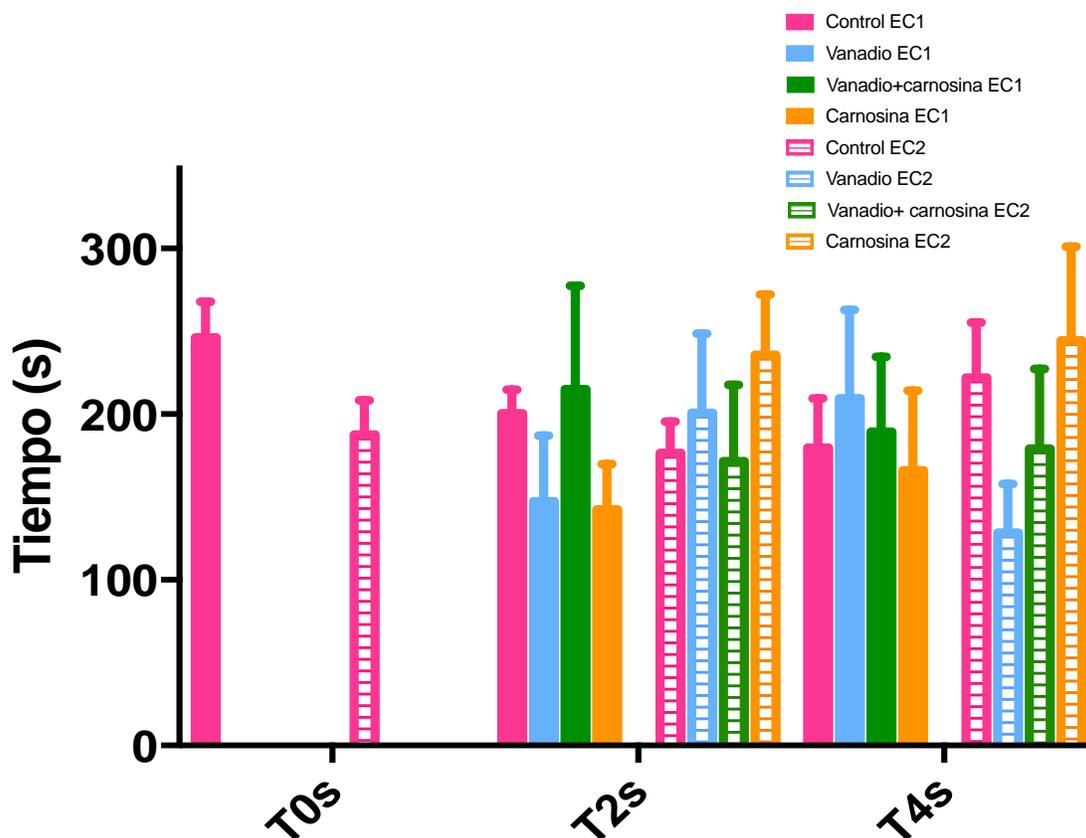
Tabla 8: Tiempo en segundos que los ratones de cada grupo experimental pasaron en el compartimento con el ratón nuevo (compartimento 2- EC2) en tres tiempos evaluados. Todos los grupos fueron agrupados en T0s, ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.



**Gráfica 10.** Promedio del tiempo en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo pasaron en el compartimento con el ratón conocido ó 1 (EC1), en tres periodos de evaluación (inicial, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



**Gráfica 11.** Promedio del tiempo en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo pasaron en el compartimento con el ratón nuevo ó 2 (EC2), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



**Gráfica 12.** Comparación del tiempo promedio en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo pasaron en el compartimento con el ratón conocido y en compartimento con el ratón nuevo, en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).

En cuanto el número de entradas a cada uno de los compartimentos, se observó que el grupo control aumentó de manera significativa las entradas al compartimento del ratón conocido (EC1) a las dos semanas, en comparación con la evaluación del tiempo inicial. Este mismo grupo, a las dos y cuatro semanas, presenta un mayor número de entradas a este compartimento, en comparación con los tres grupos experimentales en los mismos tiempos de evaluación. No existe diferencia significativa entre el número de entradas de los grupos experimentales y la evaluación del tiempo inicial. (Gráfica 13, Tabla 9).

Así mismo, referente al número de entradas al compartimento del ratón nuevo (compartimento 2- EC2) se vio un incremento en éstas por parte del grupo control a las 2 y 4 semanas de evaluación, en comparación con la evaluación inicial (T0s), mientras que los tres grupos experimentales no las aumentaron en comparación con este mismo grupo (T0s). Sin embargo, sí fueron significativamente menores al control a las 2 semanas; el grupo Vanadio (2 y 4 semanas) y Vanadio + Carnosina (2 semanas), también presentan diferencias con el Control a las 4 semanas, ya que su número de entradas a este compartimento fue significativamente menor (Gráfica 14, Tabla 10).

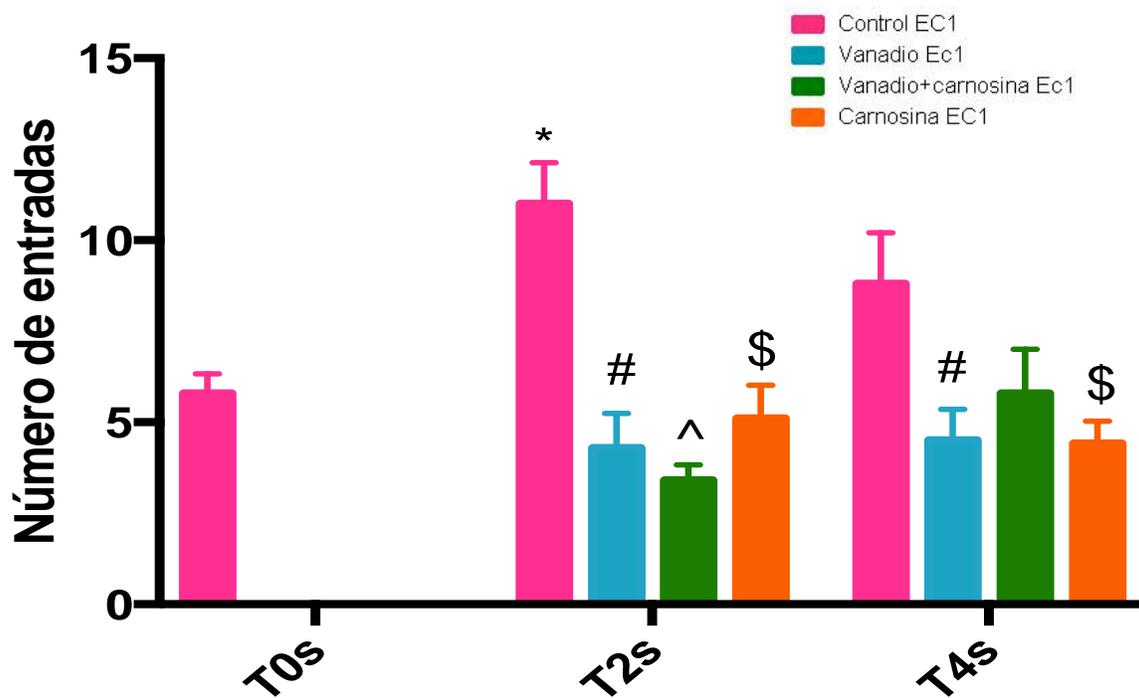
Al hacer la comparación del número de entradas del compartimento con el ratón conocido (EC1) contra las del compartimento con el ratón nuevo (EC2), se puede observar que el grupo control a las 2 y 4 semanas de evaluación, tiene un aumento en el número de entradas al compartimento con el ratón nuevo-EC2 en comparación con las entradas al del ratón conocido-EC1 en el tiempo inicial (T0s), factor esperado que indica un buen desempeño de este grupo. Sin embargo, también aumenta el número de entradas al compartimento con el ratón conocido-EC1 a las dos semanas en comparación con las entradas al compartimento del ratón nuevo-EC2, en el tiempo inicial. Por su parte, los tres grupos experimentales a las 2 y 4 semanas, tienen un número de entradas menor, comparando contra el grupo control a las 2 semanas, a ambos compartimentos (Gráfica 15, ver Tablas 9 y 10). Esto último indica, que los tres grupos experimentales actúan de manera similar entre sí en cuanto a las entradas, y siendo su desempeño no tan bueno como el grupo control.

Grupo Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	5.80 $\pm$ 0.5	11.0 $\pm$ 1.1	8.80 $\pm$ 1.4
Vanadio		4.3 $\pm$ 0.9	4.50 $\pm$ 0.9
Vanadio+Carnosina		3.4 $\pm$ 0.4	5.80 $\pm$ 0.4
Carnosina		5.1 $\pm$ 0.9	4.40 $\pm$ 0.6

Tabla 9: Número de entradas al compartimento con el ratón conocido (EC1), que realizaron los ratones de cada grupo experimental.. Todos los grupos fueron agrupados en T0s, ya que ninguno contaba con tratamiento.

Grupo \ Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	5.873 $\pm$ 0.53	12.10 $\pm$ 1.22	10.30 $\pm$ 1.9
Vanadio		4.80 $\pm$ 1.10	4.20 $\pm$ 0.8
Vanadio+Carnosina		3.90 $\pm$ 0.80	5.80 $\pm$ 1.3
Carnosina		6.30 $\pm$ 1.20	5.50 $\pm$ 1.0

Tabla 10: Número de entradas al compartimento con el ratón nuevo (EC2), que realizaron los ratones de cada grupo experimental. Todos los grupos fueron agrupados en T0s, ya que ninguno contaba con tratamiento.



\* Comparación en el número de entradas al compartimento 1(EC1), entre el grupo Control en T2s y el grupo Control en T0s

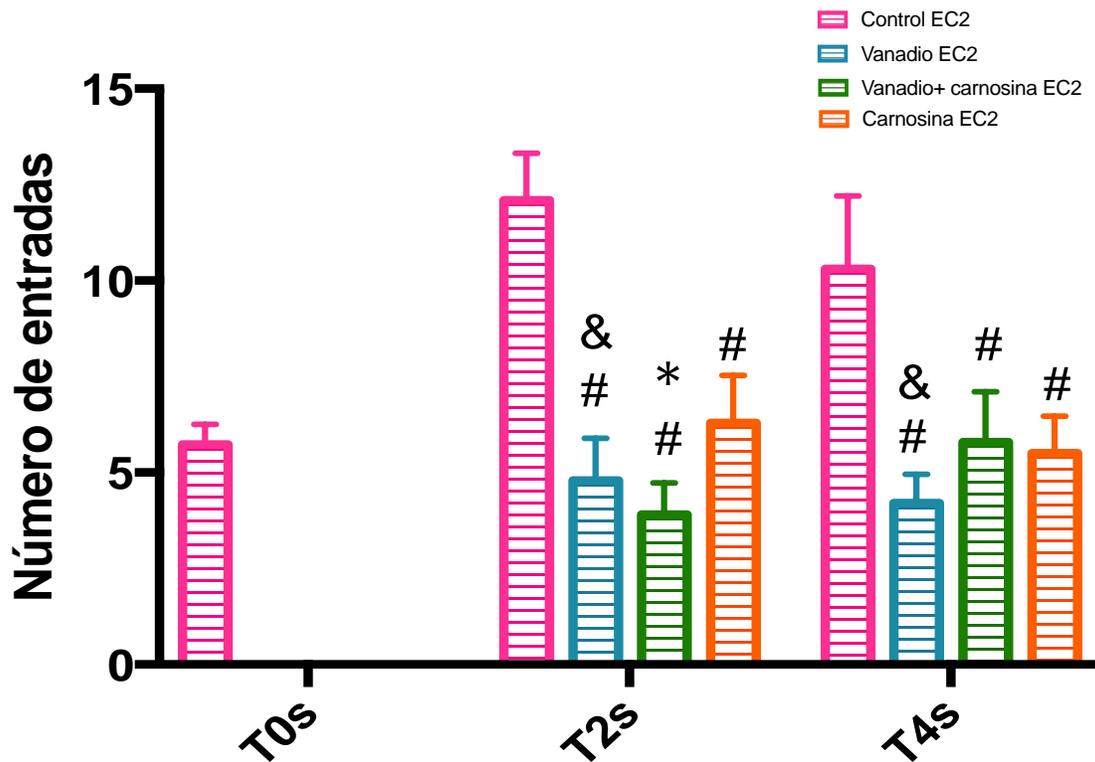
# Comparación entre el grupo V en T2s y T4s y el grupo Control en T2s

^ Comparación entre el grupo V+C en T2s y el Control T2s y T4s

\$ Comparación entre el grupo C en T2s y T4s y el Control en T2s

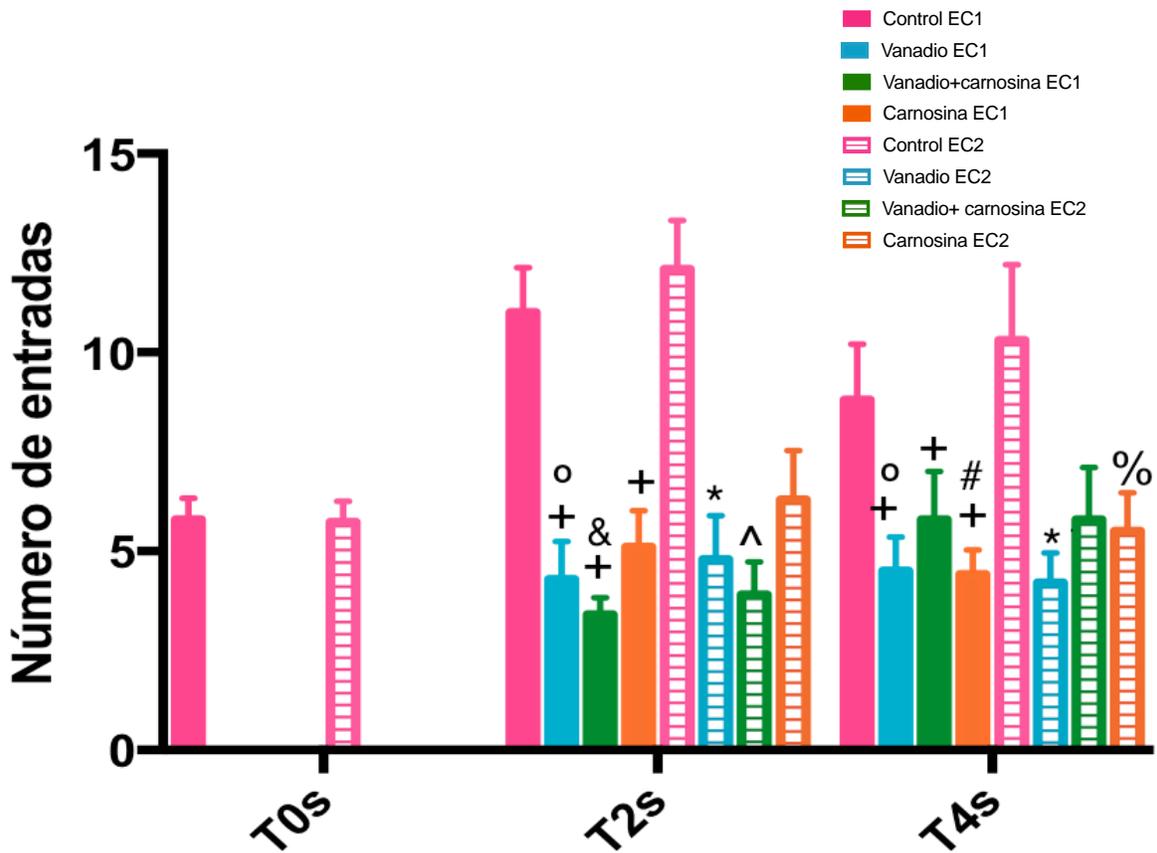
P<0.05

**Gráfica 13.** Promedio del número de entradas  $\pm$  error estándar, que los ratones hicieron al compartimento con el ratón conocido ó 1 (EC1), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



\* Comparación entre el grupo V+C T2s vs. el Control T4s  
 # Comparación entre los grupos V, V+C, y C en T2s y T4s vs. el Control T2s  
 & Comparación entre el grupo V en T2s y T4s vs. el Control T4s  
 P<0.05

**Gráfica 14.** Promedio del número de entradas  $\pm$  error estándar, que los ratones hicieron al compartimento con el ratón nuevo ó 2 (EC2), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



- \* Comparación de Ec2 del V en T2s y T4s vs. entradas a Ec1 del Control en T2s
- # Comparación de Ec1 del C en T4s vs. entradas a Ec2 del Control en T4s
- & Comparación de Ec1 del V+C en T2s vs. entradas a Ec2 del Control en T4s
- ^ Comparación de Ec2 del V+C en T2s vs. entradas a Ec1 del Control en T2s
- % Comparación de Ec2 del C en T4s vs. entradas a Ec1 del Control en T2s
- + Comparación de Ec1 de los grupos V, V+C, y C en T2s y T4s vs. entradas a Ec2 del Control en T2s
- ° Comparación de Ec1 del V en T2s y T4s vs. entradas a Ec2 del Control en T4s

**Gráfica 15.** Comparación del número de entradas promedio  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo hicieron al compartimento con el ratón nuevo (EC1) y con el ratón no conocido o nuevo (EC2), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo  $n=10$ ).

En cuanto al tiempo de interacción con los distintos ratones, se observó que para el ratón conocido (R1) el grupo V+C y Carnosina a las 2 y 4 semanas, disminuyen significativamente el tiempo de interacción con éste, comparado con el tiempo inicial (T0s) y el grupo control a las dos semanas, siendo el comportamiento de estos dos grupos experimentales, similar. Para los grupos vanadio y control, no se presentan diferencias (Gráfica 16, Tabla 11).

Por su parte, para la interacción con el ratón nuevo o R2, no existe diferencia significativa en el tiempo de interacción, ni entre los cuatro grupos ni entre los tiempos evaluados (0,2 y 4 semanas) (Gráfica17, Tabla 12)

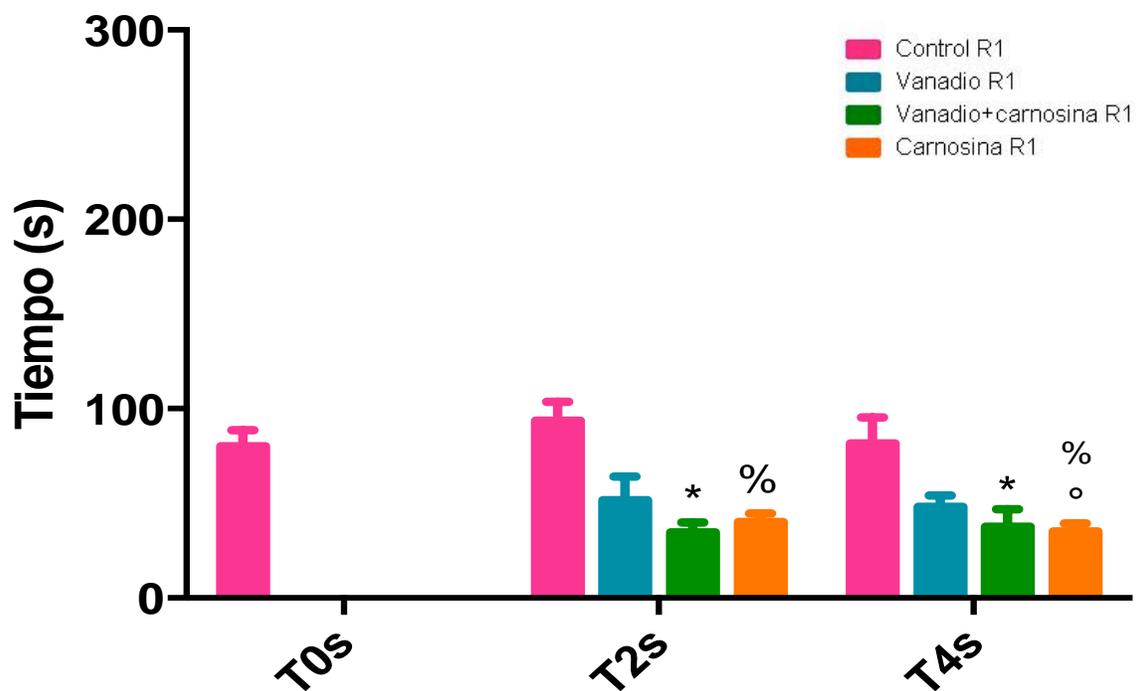
Finalmente, se puede observar, que al comparar los tiempos de interacción con el ratón conocido-R1 contra los del ratón nuevo-R2, el grupo V+C disminuye significativamente su tiempo de interacción con el ratón nuevo-R2 a las dos semanas respecto al tiempo de interacción del grupo control con el ratón conocido-R1 a las dos semanas de evaluación, factor no óptimo durante la prueba. Sin embargo a las cuatro semanas el grupo V+C logra igualarse al resto de los grupos y mejorar su desempeño; los grupos restantes no muestran diferencias en los tiempos de interacción con ninguno de los dos ratones (conocido-R1 y nuevo-R2) a ningún tiempo de evaluación (0,2 y 4 semanas) (Gráfica. 18, Tablas 11 y 12)

Grupo Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	80.0 $\pm$ 8.572s	93.60 $\pm$ 10.07s	81.70 $\pm$ 13.74s
Vanadio		51.70 $\pm$ 12.38s	48.10 $\pm$ 5.917s
Vanadio+Carnosina		34.70 $\pm$ 5.077s	37.50 $\pm$ 9.34s
Carnosina		40.10 $\pm$ 4.574s	35.00 $\pm$ 4.361s

Tabla 11: Tiempo en segundos que los ratones de cada grupo experimental que interactuaron con el ratón conocido (R1) en tres tiempos evaluados. Todos los grupos fueron agrupados en n T0s, ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.

Grupo \ Tiempo	Media $\pm$ error estándar		
	T0s	T2s	T4s
Control	71.93 $\pm$ 5.113s	63.00 $\pm$ 8.206s	56.30 $\pm$ 7.099s
Vanadio		78.80 $\pm$ 14.40s	60.00 $\pm$ 11.38s
Vanadio+Carnosina		39.50 $\pm$ 7.954s	52.50 $\pm$ 8.918s
Carnosina		67.10 $\pm$ 9.723s	64.80 $\pm$ 9.673s

Tabla 12: Tiempo en segundos que los ratones de cada grupo experimental que interactuaron con el ratón nuevo (R2) en tres tiempos evaluados. Todos los grupos fueron agrupados en T0s, ya que no contaban con ningún tipo de tratamiento.



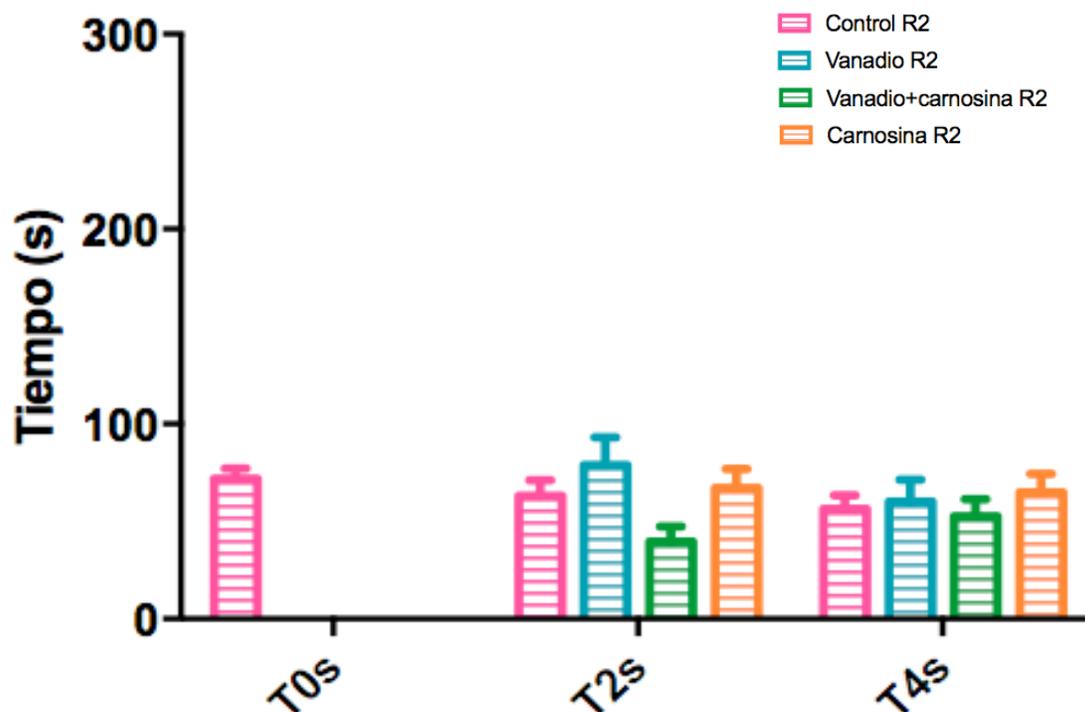
\* Comparación entre el grupo Vanadio+Carnosina en T2s y T4s vs. el grupo Control T0s y T2s.

° Comparación entre el grupo Carnosina en T4s contra el grupo Control T0s.

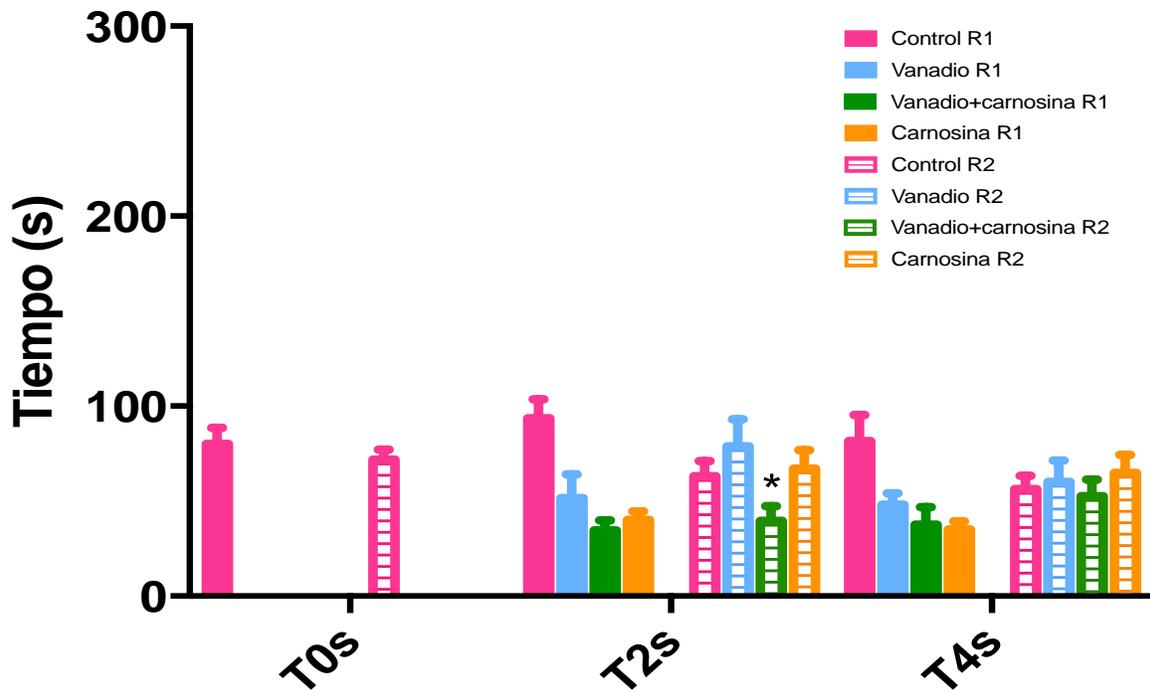
% Comparación entre el grupo Carnosina en T2s y T4s contra el grupo Control T2s.

P < 0.05

**Gráfica 16.** Promedio del tiempo en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo interactuaron con el ratón conocido (R1) del compartimento número uno (EC1), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



**Gráfica 17.** Promedio del tiempo en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo interactuaron con el nuevo ratón o desconocido en esta prueba (R2), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo n=10).



\* Comparación entre el grupo Vanadio+Carnosina R2 en T2s vs. el grupo Control R1 T2s.  $P < 0.05$

**Gráfica 18.** Comparación del tiempo promedio en segundos  $\pm$  error estándar, que los ratones de cada grupo, interactuaron tanto con el ratón ya conocido (R1), como con el ratón nuevo (R2), en tres periodos de evaluación (inicial ó 0, 2 y 4 semanas). En el tiempo inicial, todos los grupos fueron agrupados en el control, ya que ninguno tenía tratamiento. ANOVA de una vía y prueba *post-hoc* de Tukey (por grupo  $n=10$ ).

## VII. Discusión

Se ha observado, en estudios previos, que la exposición a vanadio, un contaminante atmosférico adosado a las partículas suspendidas, provoca alteraciones a nivel morfológico, fisiológico y funcional de estructuras importantes del SNC implicadas en la conducta social, como el BO, el hipocampo, el estriado y la corteza cerebral (Perete, 2016; Colín-Barenque et al., 2015; Reséndiz, 2014; Avila-Costa et al., 2004; 2006). El vanadio, y el favorecimiento de la producción de estrés oxidante, es considerado como un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, y uno de los síntomas tempranos de algunas enfermedades como el Parkinson y el Alzheimer son alteraciones en el sistema de olfacción, el cual es importante para un buen desempeño de la conducta social, principalmente en ratones, y que se ve afectado por el vanadio (Luzzi et al., 2007; Lafreniere y Mann, 2009; Reséndiz, 2014). Gracias a las propiedades de la carnosina y su actividad antioxidante, se ha propuesto como un agente para prevenir la producción excesiva de radicales libres y por tanto de un considerable estrés oxidante, así como para mitigar los daños que éste provoca; también se ha propuesto su uso para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, al igual que de enfermedades donde se ve comprometido el bienestar neuronal como eventos isquémicos, y se ha utilizado para tratar el autismo y la esquizofrenia (Boldyrev, et al., 2008; Corona, et al., 2011; Mizuno, et al., 2014; Rajanikant, et al., 2007).

### Prueba de conducta

Como se ha reportado anteriormente, los ratones expuestos a la inhalación de  $V_2O_5$ , presentan alteraciones en la función olfatoria debido a la pérdida de espinas dendríticas de las células granulosas del BO (Colín-Barenque, et al., 2015), deterioro de la memoria espacial causada por la pérdida neuronal y de espinas dendríticas en el hipocampo (Avila-Costa, et al., 2006) y alteraciones morfológicas de las neuronas espinosas de tamaño mediano del estriado (Avila-Costa, et al., 2004). Así mismo, la exposición a otros compuestos de vanadio, como el metavanadato de sodio, provocan alteraciones conductuales, en el aprendizaje, modificaciones en el sistema motor (que impide que los ratones socialicen de manera óptima) y conductuales (Haider, et al., 1998; Sánchez, et al., 1998; García, et al., 2005). Estas alteraciones citológicas provocadas por la inhalación de vanadio, en hipocampo, corteza y bulbo olfatorio, así como alteraciones en la conducta motora se ven atenuados con el uso de la carnosina (Perete, 2016; Reséndiz, 2014; Colín-Barenque, 2011).

Los resultados esperados para la prueba de Crawley, en un buen desempeño de la conducta social, durante la prueba 1 los ratones deberían pasar mas tiempo en el compartimento uno, e interactuando con el ratón desconocido dentro de la copa, más que con la copa vacía del compartimento dos. En la prueba dos, se esperaría que el ratón en estudio, pasara más tiempo interactuando con el

ratón nuevo del compartimento dos, que con el ratón conocido anteriormente del compartimento uno (Kaindanovich-Bailin, O, et al., 2011).

### *Grupo control*

Evaluando la conducta de los ratones de este grupo, se observó un mayor número de entradas, comparado con los grupos experimentales, en ambas pruebas a ambos compartimentos, independientemente de donde estuviera el ratón desconocido. Este hallazgo podría explicarse por una mayor curiosidad de los ratones, para explorar la caja completa, ya que no realizaban comportamientos inusuales como subirse a las copas, intentar escapar o acicalarse por largos periodos de tiempo, ni que denotaran hiperactividad, sino que únicamente exploraban la caja e iban de un lado al otro, a veces permaneciendo dentro de los compartimentos largo rato (Gráficas 1-6 y 10-15), este comportamiento es más notorio en la prueba dos conforme pasa el tiempo. Cabe mencionar, que en general, los ratones pasaban más tiempo en el compartimento con el ratón desconocido o el ratón nuevo, respectivamente en la prueba uno y la prueba dos, por lo que se nota un comportamiento que se encuentra relativamente dentro de lo esperado. Los ratones pasaban largo rato dentro de los compartimentos, pero poco tiempo interactuando con los ratones o la copa vacía, según el caso; esto significa que tenían más curiosidad por explorar todo su entorno y no solo los contenedores dentro de los compartimentos laterales, aunque al explorar mayor tiempo éstos que el compartimento central, indica que sí hay un buen desempeño de la prueba en cuanto a este parámetro.

En el caso de la interacción con el ratón desconocido, durante la prueba uno, se observa un buen desempeño y conforme a lo esperado según los parámetros de la prueba para el grupo control (Gráficas 7-9), sin embargo en la prueba dos, se observa un menor tiempo de interacción con el ratón nuevo, que con el ratón previamente conocido, e incluso, su comportamiento llega a ser similar a los grupos con tratamiento, lo que indica un declive, o un comportamiento no óptimo de acuerdo con lo esperado por parte de el grupo control en la prueba dos (Gráficas 16-18). Esto indica que el grupo control para esta prueba, está ligeramente modificado y sería óptimo aumentar el número de ratones, ya que en pruebas conductuales, pueden existir ratones que se encuentren fuera de los parámetros deseados para algunas pruebas, sin embargo no pueden ser eliminados del grupo, ya que en otras pruebas o mediciones se encuentran perfectamente dentro de lo esperado, pero esto se reflejo en la gran dispersión de los datos

### *Grupo expuesto a Vanadio*

Como se observa en los resultados, contrario a lo esperado, el grupo que fue expuesto unicamente a V, tiene un comportamiento similar al grupo control, a lo largo del tiempo durante la

prueba uno, por lo que su comportamiento se puede considerar relativamente normal. El tiempo que pasaron los ratones de este grupo en cada uno de los compartimentos, no muestra una diferencia significativa en la que se demuestre una preferencia por alguno de los dos.

Sin embargo, si se muestra una diferencia en el tiempo de interacción, con el ratón y la copa vacía, mostrando una preferencia por interactuar con el ratón desconocido, reafirmando que el comportamiento de los ratones pertenecientes a este grupo tuvieron un desarrollo óptimo según los parámetros de ésta prueba; contrario a lo esperado, que era que pasaran mucho menor tiempo con el ratón desconocido y mayor con la copa vacía o realizando algún otro comportamiento y que se viera mas marcado conforme el paso del tiempo (Graf 7-9). Gracias a los datos mostrados en las gráficas de número de entradas y tiempo de estancia en cada compartimento, y por lo observado al analizar los vídeos, se observó que los ratones pertenecientes a este grupo, pasaron en algunas ocasiones mayor tiempo que los otros tres grupos, en el compartimento central, se acicalaban largos ratos y en ocasiones permanecían inmóviles por mas de cinco segundos, (Gráficas 1-6); debido probablemente a la dispersión de los datos, estos comportamientos inusuales no resultaron significativamente importantes como para diferir del control.

En la prueba dos, este grupo presentó un comportamiento semejante al grupo control, en relación a la interacción con ambos ratones (conocido y nuevo), a pesar de mostrar una baja mas marcada en la interacción con el ratón conocido, pero no es significativamente diferente (Gráficas 16-18). Sin embargo, se muestra un número menor de entradas a ambos compartimentos, lo que implica que pasaban largo tiempo dentro de cada uno, así como pasaban también mucho tiempo en el compartimento central, pues, como se mencionó anteriormente, se observa un tiempo menor de estancia en el compartimento del ratón nuevo que el transcurrido con el ratón conocido, que muestra una afección en la conducta, que aunque no es significativo probablemente por la gran dispersión de los datos que presentan los grupos, si muestra un comportamiento diferente al control, gracias a los datos arrojados por el tiempo dentro de cada compartimento y el número de entradas (Gráficas 10-15, Tablas 7-10)

Los hallazgos obtenidos en los ratones expuestos a vanadio, indican que la alteraciones morfológicas y conductuales reportados previamente en el mismo modelo, donde se presenta disminución en la función olfatoria, causada por la pérdida de espinas dendríticas del BO; pérdida de la memoria espacial causada por la pérdida de espinas en el hipocampo y afecciones en la actividad motora por la pérdida de espinas en la corteza cerebral (Perete, 2016;Ávila-Costa, M., et al., 2006; Colín-Barenque, et al, 2015), no es observable a nivel de la conducta social. Esto puede ser debido a que el tiempo de tratamiento es muy corto, como para generar un daño tan importante que se vea

reflejado en un patrón de conducta social y que no pueda ser compensado con otras áreas cerebrales, que presenten menor daño (Tsuneyoshi, et al., 2007; Tomonaga, et al., 2004). Además la conducta social, al involucrar varias estructuras y zonas cerebrales y de incluir numerosas funciones, puede no reflejar el daño citológico de una zona ya que puede que se compense con otra actividad que se realice con una zona cerebral diferente como el cerebelo, el sistema límbico que incluye además del hipocampo, el hipotálamo y la amígdala, y el cíngulo (principalmente la región dorsal) que pueda o no tener daño, y aparentar que la conducta y el patrón de sociabilización, es normal, por lo que para expresarse una afección en este tipo de conducta que depende de un gran número de factores y que tiene muchas variables, el daño citológico debería ser extremadamente grande y en casi todas las zonas cerebrales, como las ya mencionadas, que involucre la conducta, como para no poder ser compensado (Hernandez, 2002).

#### *Grupo tratado con carnosina*

En estudios previos en nuestro laboratorio se muestra que el grupo tratado únicamente con carnosina, es en general muy similar citológicamente en neuronas granulosas del BO al grupo control, al igual que en pruebas de olfacción (Reséndiz, 2014). Sin embargo, en una prueba de conducta motora (realizada mediante la prueba de la viga) se ha observado una mejora en este grupo, que no es meramente gracias a una mejora citológica, ya que en neuronas piramidales de la corteza cerebral motora, sí existe una pérdida de espinas dendríticas (Perete, 2016), si no que podría ser debido a la hiperactividad que provoca la carnosina, reportada en estudios previos en un modelo en pollos (Tsuneyoshi, et. al., 2007; Tomonaga, et. al., 2004). En este estudio, se observa que el grupo tratado con Carnosina durante la prueba uno, disminuye su tiempo de interacción con el ratón desconocido del compartimento uno (Gráfica. 7), comportándose de manera contraria a lo esperado, y a pesar de que no aumenta su tiempo de interacción con la copa vacía (Gráficas. 8 y 9), se puede decir que muestra una alteración conductual, denominado en este caso como hiperactividad, ya que el ratón en estudio se ve mas interesado por realizar otras actividades, que por interactuar y socializar con un individuo nunca antes visto, y apoya el estudio de la prueba de la viga (Perete, 2016) sobre la mejora de la actividad motora.

En el caso de la prueba dos, se observa claramente que el tiempo de interacción de éste grupo con el ratón conocido disminuyó significativamente desde la semana 2, en comparación con el tiempo inicial (0 semanas) y el grupo control a las dos semanas (Gráfica 16), por lo que aparenta tener un mejor desempeño que el control. Sin embargo, el tiempo que pasa interactuando con el ratón conocido (R1) no es significativamente menor al tiempo de interacción con el ratón nuevo (R2) (Gráfica 18), y

aunado a que en los tiempos de interacción con R2, el grupo carnosina no muestra diferencia significativa con ninguno de los otros grupos (Gráfica 17), se desecha la probabilidad de que el desarrollo de la prueba total fuera óptima y resultará de acuerdo a lo esperado y se remite nuevamente, a que el efecto es causado por la hiperactividad. Así mismo, esto puede ser observado en el número de entradas a ambos compartimentos (Gráficas 13, 14 y 15), ya que a pesar de ser mucho menor en comparación con el control a las 2 y 4 semanas, el tiempo transcurrido dentro de ellos es muy grande (Gráfica 12), pues los ratones pasaban mucho tiempo buscando maneras de escapar, en lugar de interactuar con los ratones dentro de las copas, al igual que pasaban mucho tiempo investigando los compartimentos e inclusive acicalándose numerosas veces.

#### *Grupo expuesto a V y tratado con carnosina*

Para este grupo, durante la prueba uno, se ve un comportamiento prácticamente igual al grupo tratado únicamente con carnosina, ya que el tiempo de interacción con el ratón desconocido, disminuyó a la semana 4 (Gráfica 7), en comparación con el control. Este hallazgo no resultó conforme a lo que se esperaba (un mejor desempeño en comparación con el grupo vanadio), ya que, basándose en estudios previos en ratones tratados con carnosina y expuestos a vanadio, se ve una menor pérdida de espinas dendríticas en el bulbo olfatorio y corteza, en comparación con el grupo únicamente expuesto a vanadio, y un mejor desempeño en pruebas de conducta motora en el mismo modelo de experimentación (Perete, 2016; Reséndiz, 2014). Sin embargo, este comportamiento puede concordar con un experimento previo en el mismo modelo sobre hipocampo en la zona CA1 donde el grupo tratado con carnosina y vanadio, muestra una mayor pérdida de espinas dendríticas en dicha zona que el que fue únicamente tratado con vanadio, a diferencia del efecto neuroprotector observado en giro dentado (Valencia, et al., 2013).

En la prueba dos, nuevamente se ve el comportamiento igual al grupo Carnosina, donde disminuye significativamente la interacción con el ratón conocido a las 2 y 4 semanas (Gráfica 16), pero se observa que la interacción con el ratón nuevo tampoco mejora en comparación con los grupos vanadio, control y carnosina (Gráfica 17). Al comparar los tiempos de interacción, tanto con el ratón conocido como con el ratón nuevo, se ve que el tiempo que interactúan con éste último, es menor a los del ratón conocido del grupo control a las dos semanas de tratamiento, aparentando tener una mal desempeño en la prueba. Sin embargo a las cuatro semanas corrige su comportamiento y aumenta el tiempo de interacción con el ratón nuevo en comparación con el ratón conocido, y aunque este aumento no es significativo, debido probablemente a la gran dispersión de los datos, representa un mejor comportamiento, y su desarrollo se vuelve mas óptimo y mas apegado a lo que se esperaba, que era que

éste grupo se comportara mejor que el grupo vanadio, lo cual se puede observar en la gráfica 18, principalmente a las 4 semanas.

El hecho de que ambos grupos tratados con carnosina se comporten de manera similar, demuestra nuevamente, que este antioxidante provoca alteraciones conductuales y no es meramente una señal de mejora ante el tratamiento con vanadio. Al analizar los videos detenidamente, se observa que los ratones prefieren pasar mas tiempo explorando los compartimentos, que interactuando con los ratones dentro de las copas, en específico, pasan mucho tiempo realizando comportamientos inusuales como el intentar escapar de la caja escalando las paredes, subiéndose a las copas e intentando alcanzar las orillas de la caja, algunos también suelen ir de un lado al otro rápidamente, es decir, entran y salen de un compartimento lateral hacia el otro (en algunas entradas pasan poco tiempo en cada compartimento, y raramente se quedan mucho tiempo en el centro), aunque en total el número de entradas a cada compartimento, sea significativamente menor comparado con el control sobre todo al compartimento del ratón nuevo, pero el tiempo de estancia total es muy grande, y esto se debe a que en estos compartimentos realizaba los intentos de escape y la mayor exploración de la caja (Gráficas 10-15), y algunos suelen acicalarse largo tiempo. Estos comportamientos determinan el efecto hiperactivo que provoca la carnosina, lo cual concuerda con los experimentos previos realizados en pollos, donde se observó que la carnosina provoca hiperactividad, denotada por el aumento espontáneo de la actividad y de vocalizaciones en llamada de alerta (Tsuneyoshi, et al., 2007; Tomonaga, et al., 2004), al igual que en niños con autismo tratados con carnosina en donde se mejoró su interacción social, pero en algunos casos también provocó hiperactividad (Chez, et al., 2002; Chengappa, et al., 2012).

Finalmente, se puede decir, que a pesar de los efectos benéficos que muestra la carnosina a nivel citológico en el SNC, y en algunos casos a nivel conductual como en niños y adolescentes autistas, donde se mejora la comunicación y patrones sociales (Chez, et al., 2002; Chengappa, et al., 2012), y en pacientes con enfermedades neurodegenerativas, en los cuales se atenúan los síntomas de la enfermedad (Boldyrev, et al., 2008), podría provocar efectos secundarios no deseados en la conducta, tal como lo es la hiperactividad.

#### *Generalidades entre los grupos*

En las gráficas se puede observar que, independientemente del grupo o el tiempo, en ambas pruebas, los ratones pasan mucho tiempo dentro de los compartimentos (C1 y C2), y relativamente poco interactuando con los ratones o con la copa vacía, lo que implica que pasen mucho tiempo realizando comportamientos inusuales o no esperados, como el acicalamiento o la exploración del resto del compartimento y no de las copas dentro de estos.

En el caso de la prueba uno, se observa que los 4 grupos (Gráfica 9), pasan interactuando un tiempo significativamente menor con la copa vacía que con el ratón desconocido, lo que indicaría un comportamiento esperado. Este comportamiento, permanece igual durante las cuatro semanas de evaluación independientemente del grupo del que se trate, es decir, que a lo largo del tiempo no existe un cambio en el tiempo de interacción con el objeto y permanece relativamente igual en los 4 grupos, aunque óptimamente se esperaría que disminuyera aunque sea ligeramente, sin embargo no indica que exista un mal desempeño de la prueba. Esto, a primera vista, implica que no existe una diferencia entre los tratamientos en ninguno de los tiempos de evaluación y que a pesar del daño citológico que se ha demostrado en estudios anteriores, no se ve reflejado en la conducta social utilizando esta prueba, sin embargo, al observar el tiempo de interacción con el ratón desconocido a las cuatro semanas, el grupo carnosina y vanadio+carnosina difieren del control, y actúan de manera contraria a los parámetros de la prueba (Gráficas. 7 y 8). Aunado a esto, para las dos pruebas, se observa que ambos grupos tratados con carnosina, sin importar que se hayan tratado con vanadio o no, tienen un comportamiento muy similar entre ellos, cosa que lleva a considerar a la carnosina como un factor común que es la que provoca un efecto distinto sobre la conducta social de los ratones y no se ve meramente una afección directa provocada por el vanadio.

### **VIII. Conclusión**

Con base en los resultados se puede concluir que la carnosina administrada a ratones de manera exógena, produce hiperactividad, logrando una modificación en la conducta; por su parte el vanadio no produce una modificación significativa a nivel de conducta social, observable mediante esta prueba, ya que como involucra un gran número de estructuras, las cuales pueden no verse todas afectadas a nivel citológico o no en el mismo grado, pueden compensar el daño causado en otras estructuras para evitar alteraciones conductuales. Se sugiere, en estudios posteriores, aumentar el tiempo de exposición al metal, o aumentar la dosis, para observar si el daño citológico en un plazo más largo, logra afectar la conducta social.

## IX. Referencias

- Afshin-Majd, S., Khalili, M., Roghani, M., Mehranmehr, N., & Baluchnejadmojarad, T. (2014). Carnosine exerts neuroprotective effect against 6-Hydroxydopamine toxicity in hemiparkinsonian rat. *Mol Neurobiol*, *51*, 1064–1070.
- 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.
- 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.
- Arenas-Amaya, A. A., Colín-Barenque, L., Reséndiz-Avendaño, S. A., Bizarro-Nevarez, P., Rodríguez-Mata, V., Gonzalez-Villalba, A., Fortoul, T. I. (2012). 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.
- Artioli, G., Gualano, B., Smith, A., Stout, J., & Lancha, A. (2010). Role of  $\beta$ -alanine supplementation on muscle carnosine and exercise performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *42* (6), 1162-1173.
- 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.
- Avila-Costa, M., Montiel-Flores, E., Colin-Barenque, L., Ordoñez, J., Gutiérrez, A., Niño-Cabrera, H., et al. (2004). Nigrostriatal Modifications After Vanadium Inhalation: An Immunocytochemical and Cytological Approach. *Neurochemical Research*, *29* (7), 1365-1369.
- Avila-Costa, MR., Fortoul, T. I., Niño-Cabrera, G., Colín-Barenque, L., Bizarro-Nevarés, P., Gutiérrez-Valdez, A. L., Ordóñez-Librado, J. L., Rodríguez-Lara, V., Mussali-Galante, P., Díaz-Bech, P., Anaya-Martínez, V. (2006). Hippocampal cell alterations induced by the inhalation of vanadium pentoxide (V2O5) promote memory deterioration. *Neurotoxicology*, *27*, 1007-1012.
- Avila-Costa, M., Fortoul, T., Colin-Baremque, L., Ordoñez-Librado, J., Gutierrez-Valdez, A., & Anaya-Martinez, V. (2007). Vanadium and the nervous system. *Vanadium its impact in health*.
- Barceloux, D.G. (1999). Vanadium. *Clinical Toxicolgy*, *37*, 265–278.
- Babizhayev, M. (2009). Current ocular drug delivery challenges for N-acetylcarnosine: novel patented routes and modes of delivery, design for enhancement of therapeutic activity and drug delivery relationships. *Recent Pat. Drug Deliv Formul*, *3*, 229-265

- Babizhayev, M., Burke, L., Micans, P., Richer, S. (2009). N-Acetylcarnosine sustained drug delivery eye drops to control the signs of ageless vision: glare sensitivity, cataract amelioration and quality of vision and quality of vision currently available treatment for challenging 50,000-patient population. *Clint Interv Aging*, 4, 31-50.
- Bhattacharya, T., Pence, B., Ossyra, J., Gibbons, T., Perez, S., McCusker, R., et al. (2015). Exercise but not (-)-epigallocatechin-3-gallate or  $\beta$ -alanine enhances physical fitness, brain plasticity, and behavioral performance in mice . *Physiology & Behaviour* , 145, 29–37 .
- 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., T. Fedorova, M. Stepanova, I. Dobrotvorskaya, E. Kozlova, N. Boldanova, G. Bagyeva, I. Ivanova-Smolenskaya y S. Illarioshkin. (2008). Carnisone increases efficiency of DOPA therapy of Parkinson’s disease: A Pilot Study. *Rejuvenation Research*, 11, 1-8.
- Boldyrev, A., Stvoliinsky, S., Fedorova, T., & Suslina, Z. (2010). Carnosine As a Natural Antioxidant and Geroprotector: From Molecular Mechanisms to Clinical Trials. *Rejuvenation research* , 13 (2-3).
- Boldyrev AA, Aldini G, Derave W. (2013) Physiology and pathophysiology of carnosine. *Physiol Rev* 93, 1803–1845.
- Briggs, D. (2003). Environmental pollution and the global burden of disease. *British Medical Bulletin* , 68 (1), 1-24.
- Brunekeef, S., & Holgate, S. (2002). Air pollution and health. *The Lancet* , 360 (9341), 1233-1242.
- 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.
- Cantley L.C., Cantley L.G. y Josephson L. (1978). Vanadate inhibits the red cell (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) ATPase from the cytoplasmic side. *Nature*, 272, 552-554.
- 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.
- Chengappa KN, Turkin SR, Desanti S, Bowie CR, Brar JS, Schlicht PJ, Murphy SL, Hetrick ML, Bilder R, Fleet D. (2012). A preliminary, randomized, double-blind, placebo- controlled trial of L-carnosine to improve cognition in schizophrenia. *Schizophr Res*, 142, 145–152.
- Chez MG, Buchanan CP, Aimonovitch MC, Becker M, Schaefer K, Black C, Komen J. (2002). Double-blind, placebo-controlled study of L-carnosine supplementation in children with autistic spectrum disorders. *J Child Neurol*, 17, 833– 837.
- 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.
- Colin-Barenque, L., & Fortoul, T. (2007). Oxidative stress and metals. *Metals and toxicological implications in health*, 2, 11.
- 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. (2011). 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, 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: Congreso FALAN. Cancún, México.
- Colín, L., Arenas, A., Reséndiz, S., Rodríguez, V., Jiménez, M., Bizarro, P., et al. (2013). Efecto neuroprotector de la carnosina en el epitelio olfatorio de ratones hembra y macho expuestos a la inhalación de vanadio. *XVIII Congreso Panamericano de Anatomía*. Huatulco.
- Colín, L., Reséndiz, A., Bizarro, P., Zepeda, A., Pasos, F., Aley, P., et al. (2013). La carnosina atenúa las alteraciones ultraestructurales del bulbo olfatorio de ratones macho y hembra expuestos a la inhalación de vanadio. *Congress or electron microscopy CIASEM*.
- Colín-Barenque, L., Pedraza-Chaverri, J., Medina-Campos, O., Jimenez-Martínez, R., Bizarro-Nevarés, P., González-Villanueva, A., et al. (2015). Functional and Morphological Olfactory Bulb Modifications in Mice after Vanadium Inhalation. *Toxicologic Pathology*, 43 (2), 282-291.
- 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.
- 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.
- Dagher, A., Owen, A., Boecker, H., & Brooks, D. (2001). The role of the striatum and hippocampus in planning A PET activation study in Parkinson's disease. *Brain*, 124, 1020–1032.
- Dorado-Martínez, C., C. Rugerío-Vargas y S. Rivas-Arancibia. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 46, 229-235.
- 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.

EFSA. European Food Safety Authority. (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. *EFSA J.*, 33, 1-22.

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.

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.

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.

Friedman, J. (2010). Why is the nervous system vulnerable to oxidative stress?. *Oxidative stress and free radical damage in neurology*, Humana Press , 19-27.

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.

Fortoul, T. I., P. Bizarro-Nevarés, 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., Rodríguez Lara V., González Villalva A., Rojas Lemus M., Cano Gutiérrez G., Ustarroz Cano M., Colín-Barenque L., Bizarro Nevarés P., García Pealez, Montaña L. F., Jiménez Martínez R, López Valdez N., Ruiz Guerrero M., Meléndez García N., García Ibarra F., Martínez Baez V., Zapata Alfaro D., Muñiz Rivera C., López Zepeda L., Quezada Maldonado E. & Cervantes Yépez S. (2014). Inhalation of vanadium pentoxide and its toxic effects in a mouse model. *Inorganica Chimica Acta*, vol. 420 pp. 8-15

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 Jones, J. H. (1993). Role of vanadium in nutrition: metabolism, essentiality and

dietary considerations. *Life Science*, 52, 339-346.

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.

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 no phagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. *Environmental Health Perspectives*, 113, 1555-1560.

Gandhi, S., Abramov, A. (2012). Mechanisms of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxidative medicine and celular longevity*, 2012, Hindawi Publishing Corporation, 11 pags.

Hipkiss, A. (2007). Could Carnosine or Related Structures Suppress Alzheimer's Disease? *Journal of Alzheimer's disease* , 11, 229-240.

Gibbons, T., Pence, B., Petr, G., Ossyra, J., Mach, H. B., Perez, S., et al. (2014). Voluntary wheel running, but not a diet containing (-)-epigallocatechin-3-gallate and -alanine, improves learning, memory and hippocampal neurogenesis in aged mice . *Behavioural Brain Research* , 272, 131-140.

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.

Haider S S, Abdel-Gayoum AA, El-Fakhri M and Ghwarsha K M. (1998) Effect of selenium on vanadium toxicity in different regions of rat brain. *Hum Exp Toxicol*, 17, 23- 28.

Halliwell, B. y J. M. C. Gutteridge. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Science Publications, United Kingdom.

Heinz, A.,Rubinson, K. A., y Grantham, J. J. (1982). The transport and accumulation of oxyvanadium compounds in human erythrocytes *in vivo*. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 100 593-612.

Hernandez, M. (2002). Neurobiología de la emoción y su relevancia en la motivación social. En *Motivación animal y humana*. UNAM, México: Ed. El Manual Moderno, 331-353z

Hipkiss, A. (1998). Carnosine, a protective, anti-ageing peptide? . *The international journal of biochemistry & cell biology* , 30, 863-868 .

Hipkiss, A. (2004). Is Carnosine a Naturally Occurring Suppressor of Oxidative Damage in Olfactory Neurones? *Rejuvenation research* , 7 (4), 253-255.

Hipkiss, A. (2014). Possible benefit of dietary carnosine towards depressive disorders . *Aging and disease* , 6 (5), 300-303.

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.

Ingham, C. A., Hood, S. H., and Arbuthnott, G. W. (1989). Spine density on neostriatal neurons changes with 6-hydroxydopamine lesions and with age. *Brain Res.* 503, 334–338.

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 Organization*, 29, Ginebra.

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.

Kaindanovich-Bailin, O., Lipina, T., Vurkobradovic, I., Roder, J., & Woogett, J. (2011). Assessment of social interaction behaviors. *Journal of visualized experiments*, 48, 1-6.

Kogan, J., Franklandand, P., & Silva, A. (2000). Long-term memory underlying hippocampus-dependent social recognition in mice. *Hippocampus* , 10 (1), 47-56.

Lafreniere, D. y N. Mann. 2009. Anosmia: loss of smell in the elderly. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 42, 123-131.

Leonard, S., J. Bower y X. Shi. (2004). Metal-Induce toxicity, carcinogenesis, mechanisms and cellular responses. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 255, 3-10.

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.

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.

Martínez- Valverde, Isabel, Periago, María Jesús, & Ros, Gaspar. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1), 5-18.

Mizuno, D., & Mazahiro, K. (2014). Carnosine: A Possible Drug for Vascular Dementia . *Journal of vascular medicine & surgery* , 2 (3), 2329 .

Moy, S., Nadler, J., Perez, A., Barbaro, R., Johns, J., Magnuson, T., et al. (2004). Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes, brain and behaviour*, 3, 287–302.

Moser, M., Moser, E. (1998). Distributed encoding and retrieval of spatial memory in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 18 (18),7535-7542.

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.

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. Avila-Costa. (eds.) *Vanadium: It's Impact on Health*. Nova Science Publishers, E. U. A.

Mustapha, O., Oke, B., Offen, N., Sirén, A., & Olopade, J. (2014). Neurobehavioral and cytotoxic effects of vanadium during oligodendrocyte maturation: a protective role for erythropoietin. *Environmental toxicology and pharmacology*, 38 (1), 98-111.

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.

Nechay, R., 1984. Mechanisms of action of vanadium. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 24, 501–524.

Olopade, J., Fatola, I., & Olopade, F. (2011). Vertical administration of vanadium through lactation induces behavioural and neuromorphological changes: protective role of vitamin E. *Niger J Physiological Science*, 26 (1), 55-60.

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.

Ortega, J., Ferrís, J., Cánovas, A., & García, J. (2005). Neurotóxicos medioambientales (y II). Metales: efectos adversos en el sistema nervioso fetal y posnatal. *Acta Pediátrica Española*, 63, 182-192.

Perete, E (2016). Estudio morfofuncional del efecto de la carnosina en corteza motora en un modelo murino por inhalación de vanadio. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.

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.

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.

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.

Rajanikant, G., Zemke, D., Senut, M.-C., Frenkel, M., Chen, A., Gupta, R., et al. (2007). Carnosine is neuroprotective against permanent focal cerebral ischemia in mice. *Stroke*, 38, 3023-3031.

Rehder, D. (2003). Biological and medicinal aspects of vanadium. *Inorganic Chemistry Communications*, 6, 604-617.

Reséndiz, S., (2014). Neuroprotección de la carnosina en la citología del bulbo olfatorio en un modelo murino expuesto a la inhalación de vanadio, diferencia por sexo. Tesis de Licenciatura, UNAM, México.

Rodríguez-Mercado, J. J. y Altamirano-Lozano, M.A. (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.

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.

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.

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.

Silverman, J., Yang, M., Lord, C., & Crawley, J. (2010). Behavioural phenotyping assays for mouse models of autism . *Nat Rev Neurosci* , 11 (7), 490-502.

Soriano, C., Guillazo, G., Redollar, D., Torras, M., & Vale, A. (2007). Neurociencia cognitiva . In *Fundamentos de neurociencia* (p. 371). UOC.

Swenson, R. (2006). Cerebral cortical organization. In *Review of clinical and functional neuroscience*. Dartmouth medical school

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.

Tomonaga, S., Tachibana, T., Takagi, T., Saito, E., Zhang, R., Denbow, D., et al. (2004). Effect of central administration of carnosine and its constituents on behaviors in chicks . *Brain research bulletin* , 63, 75–82 .

Tsuneyoshi, Y., Tomonaga, S., Asechi, M., Morishita, K., Denbow, D., & Furuse, M. (2007). Central administration of dipeptides, beta-alanyl-BCAAs, induces hyperactivity in chicks . *BMC Neuroscience* , 8 (37), 2202-2208.

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.

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.