



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

Carrera de Biología

**Inducción de alteraciones cromosómicas en
espermatogonias de ratón por inhalación de Vanadio y
calidad seminal**

Área: Genética

TESIS

Que para obtener el título de:
Biólogo

Presenta:

AGUILAR GARCÍA EDWIN MANUEL

Director de tesis: Dra. Elia Roldán Reyes

Ciudad de México, Octubre de 2019.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Esta tesis se realizó en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, en el laboratorio 2 (planta alta) de *Citogenética y Mutagénesis* (LI-FESZ-350115), que es parte de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ), bajo la dirección de la **Dra. Elia Roldán Reyes**.

Agradecemos a:

**UNAM-PAPIIT Clave IN-221919
el Financiamiento**



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE.**

Comunico a usted que el alumno **AGUILAR GARCÍA EDWIN MANUEL**, con número de cuenta **308025444**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **15 de octubre de 2019** a las **17:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE M. en C. CARLOS BAUTISTA REYES

VOCAL Dra. ELIA ROLDÁN REYES

SECRETARIO M. en E.S. MARÍA CRISTINA ALVARADO DOMÍNGUEZ

SUPLENTE Dr. JORGE ANTONIO VALDIVIA ANISTRO

SUPLENTE M. en C. JOSÉ MISAE L VICENTE HERNÁNDEZ VÁZQUEZ

El título de la tesis que presenta es: **Inducción de alteraciones cromosómicas en espermatogonias de ratón por inhalación de Vanadio y calidad seminal.**

Opción de titulación: Tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, a 17 de Septiembre de 2019

DR. VICENTE JESÚS HERNÁNDEZ ABAD
ZARAGOZA DIRECTOR
DIRECCIÓN



V.O. BO.
Dr. JOSÉ LUIS GÓMEZ MÁRQUEZ
JEFE DE CARRERA

RECIBÍ
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

AGRADECIMIENTOS

A mis **padres** por su apoyo incondicional.

A mi novia **Andrea**, por ayudarme en cada momento que lo necesitaba, por que no me dejaste darme por vencido y recorrer el camino conmigo.

A la **Dra. Elia Roldán Reyes**, por permitirme ser parte de su laboratorio, por sus consejos y regaños que me permitieron ver que no podía fallar por que todo esta al alcance siempre que uno quiere sobresalir. Gracias por permitirme cumplir un sueño.

A la **Dra. Adriana Altamirano** y al personal del bioterio.

A mis compañeros de laboratorio **Fanny, Jessica, Mariana, Armando, Alinne**, por brindarme su amistad, por sus consejos y por ser críticos de mi trabajo y ayudarme a mejorar, por esas tardes de risas y comida, muchas gracias.

A **Jonathan**, más que un compañero o un amigo, te convertiste en un hermano para mi, siempre supiste que necesitaba para ser mejor, me ayudaste a mejorar no solo en mi proyecto sino como persona.

Dedicatorias

A mis padres que son los cimientos de mi educación y me han enseñado a ser responsable y a tener deseos de ser mejor cada día y a ser feliz.

Este trabajo esta hecho no solo con mi esfuerzo sino con el suyo tambien, gracias por permitirme estudiar lo que siempre quise, los amo infinitamente.

Andrea este trabajo se llevo acabo tambien gracias a tu apoyo, nunca me has dejado de apoyar y te lo agradezco, al final logramos algo que en un momento pensamos que no podriamos hacer.

ÍNDICE

Abreviaturas	III
Lista de figuras	IV
Lista de tablas	V
Resumen	VI
Introducción	1
Vanadio	1
<i>Liberación al medio ambiente</i>	2
<i>Usos</i>	3
<i>Exposición</i>	4
<i>Mecanismos de acción tóxica de vanadio</i>	6
<i>Toxicidad del vanadio</i>	7
<i>Genotoxicidad</i>	8
<i>Antecedentes</i>	9
<i>Pentóxido de vanadio</i>	9
<i>Prueba de aberraciones cromosómicas en espermatogonias</i>	10
Modelo biológico	10
<i>Espermatogonias</i>	10
<i>El cariotipo de ratón</i>	12
<i>Aberraciones cromosómicas numéricas y estructurales</i>	12
Justificación	15
Hipótesis	15
Objetivo	16
<i>General</i>	16
<i>Particulares</i>	16
Materiales y métodos	17
<i>Reactivos</i>	17
<i>Modelo biológico: ratón cepa CD-118</i>	18
<i>Grupos y tratamientos</i>	18
<i>Obtención de espermatogonias y metafases</i>	18

<i>Calidad seminal</i>	20
<i>Evaluaciones y análisis estadístico</i>	20
Resultados	21
<i>Efecto del V₂O₅ sobre el porcentaje de células con ACE</i>	21
<i>Efecto del V₂O₅ en el porcentaje de células con ACN</i>	23
<i>Efecto del V₂O₅ sobre los tipos de espermatogonias e IME</i>	26
<i>Efecto del V₂O₅ en la densidad y proporciones de la morfología espermática</i>	29
Discusión	32
<i>Aberraciones Cromosómicas Estructurales asociadas a genotoxicidad</i>	32
<i>Aberraciones cromosómicas numéricas</i>	33
<i>Índice mitótico espermatogonial (IME) ligado a citostaticidad/citotoxicidad</i>	34
<i>Espermatogonias ligadas a citostaticidad/citotoxicidad</i>	35
<i>Calidad seminal asociada a citotoxicidad</i>	35
Conclusiones	38
Perspectivas	39
Referencias Bibliográficas	40
Participación académica	47

ABREVIATURAS

ACE	Aberraciones Cromosómicas Estructurales
ACN	Aberraciones Cromosómicas Numéricas
ADN	Ácido desoxirribonucleico
CCC	Colchicina
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
FeV	Ferrovandio
IARC	International Agency Research on Cancer
IM	Índice Mitótico
IME	Índice Mitótico Espermatogonial
IPCS	International Program on Chemical Safety
MMC	Mitomicina C
NTP	National Toxicology Programm
NaCl	Cloruro de Sodio
NaVO ₃	Metavanadato de sodio
Na ₃ (C ₆ H ₅ O ₇).2H ₂ O	Citrato de sodio dihidratado
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
OH [•]	Radical Hidroxilo
O ₂ [•]	Anión superóxido
RL	Radical Libre
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
RPM	Revoluciones Por Minuto
RL	Radicales Libres
V	Vanadio
V ⁴⁺	Vanadio (IV)
V ³⁺	Vanadio (III)
V ⁵⁺	Vanadio (V)
SSC	Células Madre de Espermatogonias
V ₂ O ₅	Pentóxido de vanadio
V ₂ (SO ₄)	Sulfato de vanadio (III)
WHO	World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Liberación de vanadio al ambiente.

Figura 2. Toxicocinética del V.

Figura 3. Espermatogonias y metafases de espermatogonias de ratón (*Mus musculus*).

Figura 4. Células madre de espermatozoides.

Figura 5. Cariotipo estándar de *Mus musculus* macho.

Figura 6. Anomalías cromosómicas numéricas en mamíferos.

Figura 7. Anomalías cromosómicas estructurales en mamíferos

Figura 8. Porcentaje de células espermatogoniales con ACE, en ratones tratados con pentóxido de vanadio (V_2O_5).

Figura 9. Porcentaje de células espermatogoniales con ACN, en ratones tratados con pentóxido de vanadio (V_2O_5).

Figura 10. Microfotografías de células en metafase de espermatogonias de ratones macho CD-1.

Figura 11. Efecto del V_2O_5 sobre los diferentes tipos de espermatogonias en ratones macho CD-1.

Figura 12. Efecto del V_2O_5 sobre el índice mitótico espermatogonial en ratones macho CD-1.

Figura 13. Microfotografías de los diferentes tipos de espermatogonias.

Figura 14. Efecto del V_2O_5 sobre la densidad espermática en ratones macho CD-1.

Figura 15. Efecto del V_2O_5 en la morfología espermática en ratones macho CD-1.

Figura 16. Microfotografías del efecto del V_2O_5 sobre la morfología espermática de ratones CD-1.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Concentración de vanadio en alimentos.

Tabla 2. Grupos y Tratamientos.

Tabla 3. Evaluaciones en el microscopio y pruebas estadísticas.

Tabla 4. Frecuencia de Aberraciones Cromosómicas Estructurales (ACE) en espermatogonias de ratón macho de la cepa CD-1 tratados con V_2O_5 inhalado.

Tabla 5. Frecuencia de Aberraciones Cromosómicas Numéricas (ACN) en espermatogonias de ratón macho de la cepa CD-1 tratados con V_2O_5 inhalado.

Tabla 6. Porcentaje de tipos de espermatogonias e índice mitótico espermatogonial en ratones macho de la cepa CD-1 tratados con V_2O_5 inhalado.

Tabla 7. Densidad y proporciones de la morfología espermática de ratones macho de la cepa CD-1 tratados con V_2O_5 inhalado.

RESUMEN

En la naturaleza, el **Vanadio (V)** no se encuentra en forma pura, por sus propiedades intrínsecas es propenso a reaccionar con otros elementos. Sin embargo, su liberación a la atmósfera es principalmente ocasionada por la actividad humana, por lo que es considerado un contaminante ambiental. Se ha estimado que, de las 110 mil toneladas de V descargadas anualmente, alrededor del 91% son producto de la actividad industrial, de la combustión de petróleo, de carbón y de aceites pesados, y el resto son derivadas de la erosión del suelo, emisiones volcánicas, incendios forestales y otros procesos biológicos.

Las principales vías de ingreso a los organismos del V son la respiración, la absorción dérmica y la ingesta. Los efectos del V en el ADN son controvertidos, contradictorios y escasos *in vivo* (NDA, 2004) y debido a la escasa información disponible en la literatura, la International Agency for Research on Cancer (2006) clasifica el vanadio como una categoría 2B (posible carcinógeno humano). La constante exposición de la población crea un interés en los efectos toxicológicos de este metal y, particularmente, en su potencial genotóxico lo que podría generar consecuencias en la reproducción, por lo cual es necesario evaluar el posible daño reprotóxico provocado por el **pentóxido de vanadio** (V_2O_5), existen estudios en el modelo *in vivo* con información poco clara. El **objetivo** de este trabajo fue evaluar las **aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas**, la calidad seminal, las proporciones de espermatogonias y el **Índice Mitótico Espermatogonial**, en ratones macho de la cepa CD-1 tratados con este metal, administrado por inhalación.

Se conformaron 5 grupos de 5 ratones, a los cuales se les administro V por vía aérea: tres grupos con V_2O_5 en concentraciones de 0.02, 0.04 y 0.08M, un testigo negativo y un testigo positivo con 1.046×10^{-5} M de Mitomicina C (MMC), en todos los casos el tratamiento fue de 24h (tratamiento agudo). Los resultados muestran que la administración de V_2O_5 por inhalación en ratones CD-1, aumentan el porcentaje de Aberraciones Cromosómicas Estructurales en todas las concentraciones y Aberraciones Cromosómicas Numéricas en las concentraciones 0.04 y 0.08M, lo que habla de genotoxicidad, altera el IME en todas las concentraciones, al ralentizar algún estadio de la división celular, lo cual refleja el efecto citostático, modifica los porcentajes de espermatogonias en la concentración más alta 0.08M, aumenta las espermatogonias en renovación por efecto citostático y las espermatogonias tipo B disminuyen por efecto citotóxico, reduce la calidad seminal en todas las concentraciones administradas, la morfología espermática se vio alterada en todas las concentraciones, la cual es asociada a daño al material genético y la densidad disminuye en todos los grupos, tener una densidad baja es una muestra más del efecto citotóxico del vanadio, que al disminuir las espermatogonias de tipo B, que son aquellas que van a dar origen a los espermatozoides, la densidad se verá afectada, podemos catalogar al vanadio como un compuesto que induce genotoxicidad, citostaticidad y citotoxicidad en células troncales y diferenciadas de la gónada de ratón macho.

Palabras clave: Calidad seminal, Espermatogonias, Exposición Aérea, Reprotóxicos, Vanadio.

INTRODUCCIÓN

Los metales se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente. Muchos, como el calcio (Ca), cobalto (Co), cobre (Cu), hierro (Fe), magnesio (Mg), manganeso (Mn), níquel (Ni) y zinc (Zn), son micronutrientes y constituyen parte esencial en los sistemas biológicos (Lewin, 2002; Crans, 2004; Lehninger *et al.*, 2005). Dentro de la célula las enzimas utilizan metales para catalizar reacciones, son mediadores en el metabolismo y en el transporte de oxígeno, estabilizan macromoléculas y están involucrados en la transducción de señales (Lewin, 2002; Crans, 2004; Lehninger *et al.*, 2005). Sin embargo, en concentraciones altas algunos de ellos tienen propiedades genotóxicas y carcinogénicas (Leonard, 1988; Hartwig, 1995). Los metales pesados son elementos contaminantes de la atmósfera y por su toxicidad generan efectos nocivos en los seres vivos. Normalmente se encuentran presentes en la atmósfera en concentraciones muy pequeñas, sin embargo, al no ser degradados por procesos químicos ni biológicos su persistencia es elevada. La importancia de sus efectos está en función de la naturaleza del elemento, concentraciones ambientales y el grado de exposición. En términos generales, las emisiones de metales son consecuencia fundamentalmente de la combustión (carbón, derivados del petróleo (combustibles)), metalurgia y transporte.

VANADIO (V)

El V es un elemento químico con número atómico 23, está situado en el grupo 5 de la Tabla Periódica. Es un metal de transición, es dúctil, maleable y un buen conductor de calor y electricidad, su masa atómica es de 50.95g/mol, su punto de fusión de 690°C, su punto de ebullición de 1750°C y una configuración electrónica [Ar] 3d³ 4s². Puede tener diversos estados de oxidación que van desde 0 a 5+, siendo 3+, 4+ y 5+ los que están asociados a la actividad biológica (Michibata, 2012). El V se encuentra distribuido en el suelo y tiene una abundancia de 0.02 % en la corteza terrestre. Es el segundo metal más abundante en el agua de mar con una concentración cercana a 35 nM. En los seres humanos la concentración intracelular de V es de 0.3 µM (Rehder, 2012). El

V es un importante contaminante de aguas subterráneas, así como para las aguas superficiales afectadas principalmente por la minería (Irene *et al.*, 2004).

Los trabajos sobre el papel biológico del V han ganado mucha importancia en los últimos años, debido a su potencial tóxico, mutagénico y genotóxico en una amplia variedad de sistemas biológicos, además de que, en el año 2006 la International Agency for Research on Cancer (IARC), clasificó como un posible carcinógeno para los humanos al pentóxido de vanadio (V_2O_5). Participa en la síntesis de clorofila en organismos fotosintéticos y es un micronutriente para varias especies marinas y terrestres. En los alimentos se encuentra en los estados de oxidación 3+ y 4+. En la metalurgia, el V se utiliza para producir ferrovanadio (FeV), lo que aumenta la resistencia del acero. El V tiene un papel crítico en las aleaciones de titanio utilizado en la industria aeroespacial.

LIBERACIÓN DE VANADIO AL MEDIO AMBIENTE

En la naturaleza, el V no se encuentra en forma pura, por sus propiedades intrínsecas es propenso a reaccionar con otros elementos. Una cantidad significativa del V que se libera a la atmósfera se deriva de la erosión del suelo, las emisiones volcánicas, los incendios forestales y otros procesos biogénicos (IPCS, 2001; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). En las últimas décadas, el nivel de vanadio está aumentando significativamente en la biósfera y será alarmante en el futuro (Ringelband y Hehl, 2000), las principales causas son la intemperie, la deposición atmosférica seca y húmeda, la minería, etc. (Morrell *et al.*, 1986).

Se ha estimado que, de las 110 mil toneladas de vanadio descargadas anualmente, alrededor del 91% son producto de la actividad industrial. En el ambiente, los niveles de V dependen de las condiciones climáticas, la posición geográfica y las condiciones de urbanización, entre otros factores (**Figura 1**). En grandes urbes se han detectado concentraciones en el aire que van de 0.15 a 1.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y en áreas rurales cantidades menores a 0.024 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Lagerkvist *et al.*, 1986; IPCS, 1988). Para la Ciudad de México se han reportado valores que alcanzan 0.114 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en aeropartículas de 10 μm y 0.093 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en las de 2.5 μm (Gutiérrez-Castillo *et al.*, 2006), datos que coinciden con las cantidades encontradas en otras localidades con intensa actividad

industrial de Europa y Estados Unidos de América. Los petróleos de América son los que contienen más V, en crudos provenientes de Venezuela las concentraciones van de 282 a 1,180 $\mu\text{g/g}$, en la variedad atabasca de Canadá y la maya de México el contenido es de 640 y 243 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. En cenizas, residuos sólidos u hollín se pueden encontrar de 600 a 700 $\mu\text{g/g}$ (IPCS, 1988; Crans *et al.*, 1998).

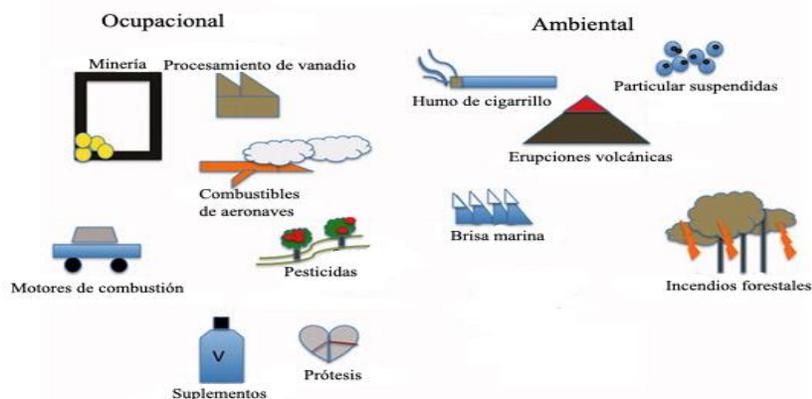


Figura 1. Liberación de vanadio al ambiente (tomado y modificado de Fortoul *et al.*, 2014).

USOS DEL VANADIO

El V utilizado en la industria química como un catalizador para la producción de ácido sulfúrico y otros productos químicos, insecticidas y productos fotográficos. La producción de pesticidas, fungicidas y fertilizantes también incorpora compuestos de V (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Además, por sus propiedades moduladoras de la expresión de diversos genes, es usado en modelos experimentales como agente anticarcinogénico (Evangelou, 2002; Mukherjee *et al.*, 2004; Thompson y Orvig, 2004; D'Cruz y Uckun, 2005; Scior *et al.*, 2005). Los compuestos de V también se han utilizado como modificadores de color en las lámparas de vapor de mercurio (Hg), y como parte de los materiales de destino utilizados en los rayos X (Moskalyk y Alfantazi, 2003).

EXPOSICIÓN AL VANADIO

Para algunos mamíferos, como las ratas, el vanadio (V) es un oligoelemento esencial; sin embargo, no hay datos significativos a través de los cuales se concluya que el V es parte necesaria de la nutrición para los humanos, esto se debe a la amplia distribución, además, los estados predominantes de V en el cuerpo humano son 4+ y 5+ (Kordowiak y Holko, 2009). Los seres humanos estamos expuestos al V mediante el ambiente y por la dieta (cereales, carne, frutas y vegetales). Existen distintas vías (Figura 2) por las cuales el V ingresa en el organismo:

- La vía dérmica es la de menor riesgo debido a la baja liposolubilidad del V; es decir, no puede penetrar fácilmente la piel (1-3%).
- Por vía oral estamos expuestos por los alimentos que contienen V, sin embargo, esta vía es de poca importancia debido a que el nivel de absorción es mínimo (10%).
- La vía respiratoria es la más importante no sólo por la concentración de V en la atmósfera, debido a que el porcentaje de absorción por esta vía es de hasta 25% (Leonard y Gerber, 1994; Elinder *et al.*, 1988; Mukherjee *et al.*, 2004).

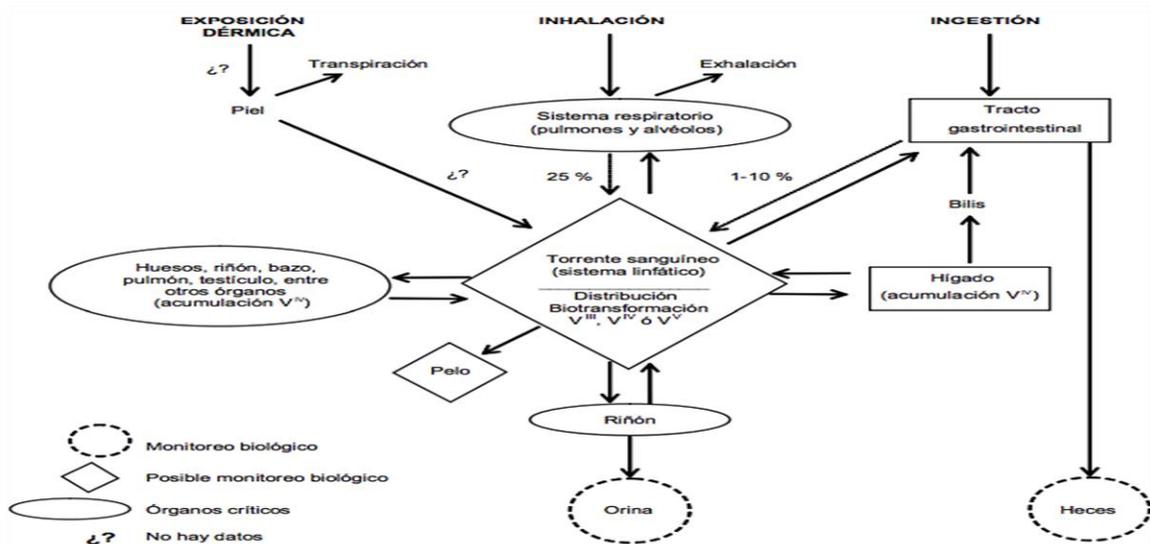


Figura 2. Toxicocinética del V (modificado de Elinder *et al.*, 1988; Mukherjee, *et al.*, 2004; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

La exposición por inhalación a los metales es muy importante ya que es la ruta por la cual producen efectos más tóxicos. Se considera que por medio de esta vía se absorbe hasta el 25% (Leonard y Gerber, 1994). Las concentraciones en el ambiente varían dependiendo de la cercanía con las fuentes emisoras. En una revisión reciente, se examinó la cantidad de V en los alimentos que se ingieren en la dieta cotidiana y el riesgo toxicológico que esto representa (NDA, 2004). En los alimentos se encuentra en los estados de oxidación 3+ y 4+, se ha estimado que la ingesta de V en la dieta en promedio es de 13 a 15 $\mu\text{g}/\text{día}$ (**Tabla 1**) y algunos autores mencionan que alcanza valores de 60 $\mu\text{g}/\text{día}$ (French y Jones 1993; NDA 2004). La concentración media en agua de grifo es de 0.001 mg/L. Asumiendo que, al tomar 2 L de agua al día, la ingesta diaria de vanadio sería de 0.002 mg para adultos aproximadamente.

Tabla 1. Concentración de Vanadio en alimentos

Alimento	Media ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	Intervalo ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
Adulto		
Lácteos	0.1	0–0.6
Carne, pescado y aves	1.0	0–11.9
Huevo	0.3	0.2–0.4
Nueces	0.6	0.2–1.0
Legumbres	0.1	0–0.3
Cereales	2.3	0–14.7
Frutas y jugos	0.6	0–7.1
Vegetales	0.6	0–7.2
Sopas	0.6	0–2.0
Edulcorantes	2.3	0.4–4.7
Grasas y salsas	0.3	0–0.6
Infante		
Formulas lácteas	0.1	0–0.2
Carne y aves	0.5	0–0.8
Cereales	1.6	1.2–2.0
Frutas y jugos	1.6	0–13.4
Vegetales	0.4	0–1.1

Modificado de Pennington y Jones, 1987; Imtiaz *et al.*, 2015.

MECANISMOS DE ACCIÓN TÓXICA DE VANADIO

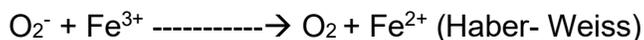
Se ha demostrado ampliamente que el V y los metales de transición promueven la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en sistemas biológicos, mediante tres mecanismos (Gándara *et al.*, 2005):

- Reacción tipo Fenton o ciclo de Haber-Weiss.
- Biorreducción del vanadato, mediado por enzimas anti-oxidantes como la glutatión peroxidasa o flavoenzimas, procesos por los cuales se generan ROS como subproductos.
- Interacción con la mitocondria.

La generación de ROS por los metales de transición se da cuando:

1.- Un metal con cierto estado de oxidación M^n reacciona con un anión superóxido O_2^\bullet que da lugar a un metal con un estado de oxidación menor M^{n-1} y O_2 .

2.- Los metales participan en la reacción tipo Fenton que da como productos peróxido de hidrógeno (H_2O_2), anión superóxido (O_2^\bullet) y el tóxico radical hidroxilo (OH^\bullet). La reacción está implicada en el desarrollo de un estado de estrés oxidante en la célula.



A las ROS se les refiere como radicales libres (RL) porque son moléculas que contienen uno o más electrones desapareados, los cuales poseen una gran cantidad de energía. Éstos buscan aparearse con otros electrones proporcionándoles la capacidad de reaccionar con otras moléculas como proteínas, lípidos o ácidos nucleicos, modificando así su estructura e incrementando el daño celular (Zini *et al.*, 2009; Roldán, 2016). Existen 2 mecanismos de producción de ROS y RL: 1) los

generados como subproductos del metabolismo celular, como sería el transporte de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial y la cadena de transporte de electrones del retículo endoplasmático (Farris *et al.*, 2005) y 2) los generados a partir de fuentes exógenas, como respuesta a la exposición a radiaciones ionizantes, rayos UV, contaminación ambiental, humo de cigarrillo, hipoxia, ejercicio extenuante, reacción inflamatoria e isquemia (Vilar, 1996; Wang, 2001). El Estrés Oxidante se ha definido como un desequilibrio entre los mecanismos prooxidantes y los mecanismos anti-oxidantes de los organismos, que involucran sistemas enzimáticos y moléculas orgánicas diversas entre las que se incluyen algunas vitaminas como la E y C.

TOXICIDAD DEL VANADIO

En los estudios de toxicidad realizados por diversos investigadores se advierten diferentes resultados que dependen de la vía de administración, la dosis administrada y el período de tiempo, así como los diferentes estados de oxidación del elemento. Debido a la ausencia de datos de toxicidad crónica, el Programa Nacional de Toxicología de los Estados Unidos organizó estudios en roedores, con una duración de 2 años, sobre los efectos del V_2O_5 basándose en que ésta sustancia es un contaminante ambiental e industrial con gran potencial de exposición en humanos (National Toxicology Program, 2002). Los estudios concluyen que la exposición a partículas de V_2O_5 produce tumores pulmonares en ratas machos y , se estima, en hembras así como en ratones machos y hembras. También, fueron observadas muchas otras lesiones no neoplásicas del tracto respiratorio como son: rinitis, hemorragia nasal, tos, dolor de garganta y asma (NTP, 2002).

La toxicidad del V en trabajadores laboralmente expuestos está bien documentada (IPCS, 1988; IPCS, 2001; Woodin *et al.*, 2000; World Health Organization, 2001). Los óxidos de V presentes en las partículas de menos de 10 μm de diámetro de las cenizas y polvos, producto de la quema de combustible fósil, están asociados con efectos adversos a la salud. La exposición crónica por inhalación en ambientes laborales induce cambios en los órganos respiratorios y la aparición de bronquitis, rinitis, laringitis y faringitis, en algunos casos produce cambios en el ritmo cardíaco y la aparición de un color verdoso en la lengua de trabajadores fumadores. También, se

han reportado alteraciones bioquímicas en sangre como la disminución de grupos sulfhidrilo y cambios en la concentración de la albúmina y del colesterol. En un estudio realizado por Fortoul *et al.* (2002), se detectó que la cantidad de V aumentó en pulmón en autopsias practicadas a residentes de la Ciudad de México que vivieron en la década de los 90's ($1.36 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$ en peso seco de pulmón) en comparación con los que vivieron en la década de los 60's ($1.04 \pm 0.05\mu\text{g/g}$ en peso seco de pulmón). Las concentraciones halladas no correlacionaron con el género, la edad, consumo de cigarro, su ocupación o la causa de muerte.

GENOTOXICIDAD DEL VANADIO

La genotoxicidad se define como un efecto específico adverso en el genoma de células vivas que, durante la duplicación, puede estar expresada como un evento mutagénico o carcinogénico (Carvallo, 2007). Los agentes genotóxicos son agentes químicos, físicos o biológicos capaces de modificar el material hereditario de las células vivas, que están asociados con efectos adversos a la salud humana, estos incluyen mutaciones, reordenamientos y aberraciones cromosómicas (AC) (FDA, 2000).

Existen mecanismos por los cuales se produce daño al ADN (Roldán,2016), como son:

- Mutagénesis, este proceso puede ocurrir espontáneamente o ser inducido por mutágenos. Los investigadores utilizan una serie de técnicas para crear mutaciones, incluida la mutagénesis de transposones para generar *knockouts* genéticos aleatorios, y mutagénesis dirigida al sitio.
- Aneugénesis, es la alteración del número normal de cromosomas en el que se pierde uno de los cromosomas homólogos o aparece un cromosoma adicional al complemento normal de dos homólogos.
- Clastogénesis, es un proceso que causa rupturas cromosómicas y ganancias, pérdidas o reordenamiento de los fragmentos cromosómicos.

La evaluación del potencial genotóxico de un agente químico o físico es aquella que realiza una valoración de la habilidad de inducir una mutación génica o alguna alteración cromosómica estructural y/o numérica. Las aneuploidías son la mayor causa del fracaso reproductivo humano y un contribuyente de los procesos carcinogénicos (Parry *et al.*, 2002).

ANTECEDENTES

En 1998 D'Cruz *et al.*, observaron que la exposición *in vitro* de espermatozoides humanos a compuestos organometálicos de V disminuye la movilidad de los mismos. La exposición oral de ratones machos al NaVO_3 causa una disminución del recuento de espermátides y espermatozoides y del número de gestaciones tras apareamiento (World Health Organization, 2000). Se ha observado que la exposición a V_2O_5 puede ocasionar fragmentación de ADN (Korbecki, 2012), así como la inducción de aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas sobre células linfocíticas y ováricas (Roldán y Altamirano 1990; Rodríguez y Altamirano, 2006).

Estudios realizados en ratas demuestran que la exposición a sulfato de vanadio (III) ($\text{V}_2(\text{SO}_4)_3$) ocasiona pérdida de la movilidad espermática por inhibición de la fructosa, así como la disminución de la concentración espermática y atrofia de los túbulos seminíferos (Jain *et al.*, 2007). La exposición de ratones macho de la cepa CD-1 a una concentración de 0.02M de V_2O_5 de entre 3 a 12 semanas dió como resultado una disminución de la actina en células testiculares. El daño del citoesqueleto de actina es un mecanismo que podría explicar los efectos reprotóxicos del vanadio y su asociación con la fertilidad alterada (Rodríguez-Lara *et al.*, 2013).

PENTÓXIDO DE VANADIO (V_2O_5)

Es un óxido ácido color amarillo, tiene ligera solubilidad en agua y es fácilmente soluble en ácidos, con punto de fusión de 690 °C y punto de ebullición de 1750 °C, es un agente químico peligroso, su límite de exposición ocupacional a polvos y humos es de 0.05 mg/m³. Es el compuesto más estable y común de vanadio además de ser el

más comercializado. Los efectos adversos del vanadio en el material genético son controvertidos, contradictorios y escasos.

PRUEBA DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS EN ESPERMATOGONIAS

Esta prueba mide las aberraciones cromosómicas estructurales (cromosómicas como cromatídicas) en la división de células germinales espermatogoniales y, por lo tanto, se espera que sea predictiva de la inducción de mutaciones hereditarias en estas células germinales. El propósito de la prueba de aberración cromosómica espermatogonial de mamíferos *in vivo* es identificar aquellas sustancias químicas que causan aberraciones cromosómicas estructurales en células espermatogoniales de mamíferos (Adler, 1984; Adler *et al.*, 1994; OECD, 2016). Además, esta prueba es relevante para evaluar la genotoxicidad porque, aunque pueden variar entre las especies, los factores del metabolismo *in vivo*, la farmacocinética y los procesos de reparación del ADN están activos y contribuyen a la respuesta.

MODELO BIOLÓGICO

Los ratones (*Mus musculus*) son una herramienta de investigación importante para el modelado de la progresión de las enfermedades en humanos y el desarrollo en el laboratorio. A pesar de las diferencias en tamaño y aspecto, los ratones comparten una similitud genética con los seres humanos, y su capacidad para reproducirse y madurar rápidamente hace de estos mamíferos, los mas ideales para el estudio científico (OECD, 2016; JoVE, 2018). Para estudios en toxicología, el ratón y la rata son los modelos que se utilizan con mayor frecuencia, ya que permiten utilizar distintas vías de administración de sustancias o fármacos (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemical, 1983; Harkness y Wagner, 1989).

ESPERMATOGONIAS

Las células madre espermatogoniales (SSC) son la base de la espermatogénesis y la fertilidad masculina. De formas similares a otras células madre específicas de tejido,

las SSC son poco abundantes (**Figura 3**), representando solo el 0.03% de todas las células germinales en los testículos de roedores (Tagelenbosch y De Rooij, 1993).

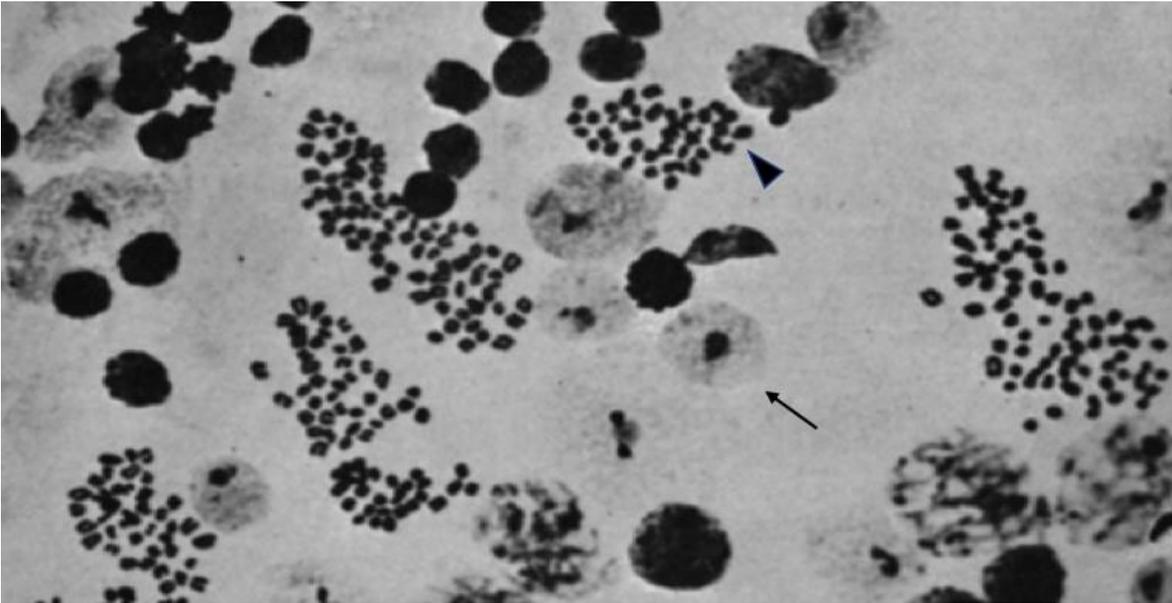


Figura 3. Espermatogonias de ratón (*Mus musculus*) en interfase (Flecha) y en metafase (Cabeza de flecha) (Hoo y Bowles, 1971).

Las SSC son células diploides situadas en la base del epitelio seminal, que son el reservorio de células a partir del cual se producen las siguientes divisiones celulares que originarán finalmente los espermatozoides (De Kretser, 1994). Las SSC (**Figura 4**) A₀ son las responsables de la renovación, miden unas 12 µm de diámetro, presentan nucléolo cerca de la envoltura nuclear, las tipos A₁-A₄ (renovación) presentan un tamaño de 12 µm y tienen una mayor cantidad de heterocromatina central, y las tipo B, que son las SSC diferenciadas, tienen un diámetro de 8 a 9 µm, presentan una mayor cantidad de heterocromatina (núcleolos) en masas centrales y un fino borde de heterocromatina alrededor de la membrana nuclear (Gardner, 1964; Huckins, 1971; Oakberg, 1971; Dettin, 2003).

La espermatogénesis comienza con la división de las células madre y finaliza con la formación de los espermatozoides maduros. El proceso completo se puede dividir en tres fases: la fase proliferativa, durante la cual algunas espermatogonias diploides (ratón 2n=40 cromosomas) se dividen para restaurar el pool de células madre y otras experimentan divisiones mitóticas hasta estar preparadas para sufrir la diferenciación y producir los Espermatoцитos de primer orden; la fase meiótica, en la cual los

Espermatocitos experimentan la meiosis para dar lugar a las espermátides haploides ($n=20$ cromosomas) y, por último, la espermiogénesis, durante la cual las espermátides redondas haploides se diferencian en espermatozoides maduros que son capaces de moverse y fecundar a un ovocito (Kerr, 1992).

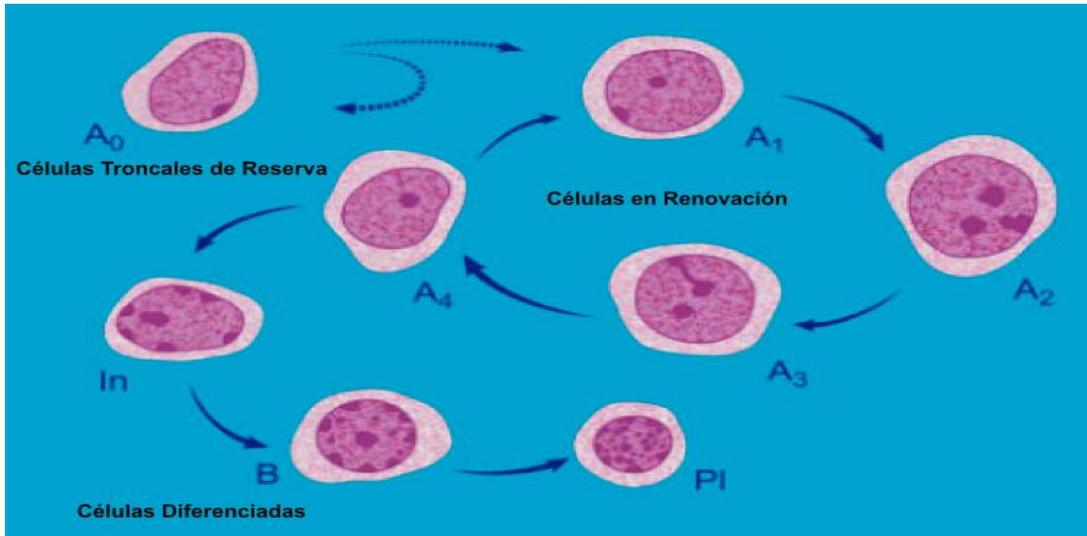


Figura 4. Células madre de espermatozoides (Modificado de Huckins, 1971; Oakberg, 1971; Kokkinaki, 2009).

EL CARIOTIPO DE RATÓN

El cariotipo del ratón (**Figura 5**), consta de 19 pares de cromosomas autosómicos y un par de cromosomas sexuales $2n = 40$ cromosomas, XY heterogamético para los machos y XX homogamético para las hembras (Pierce, 2006).

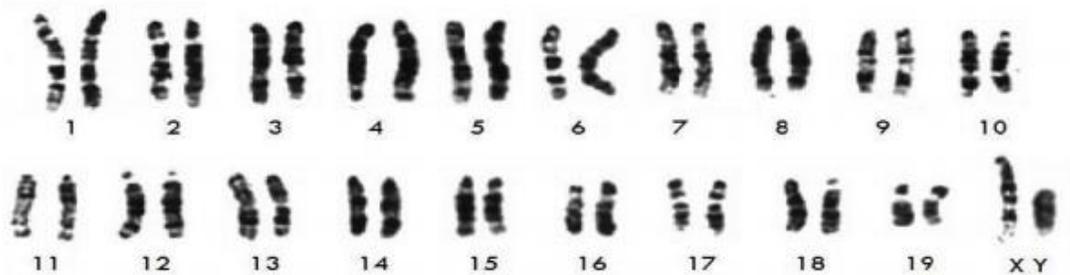


Figura 5. Cariotipo de *Mus musculus* macho (tomado y modificado de Akeson y Davisson, 2001).

ABERRACIONES CROMOSÓMICAS NUMÉRICAS Y ESTRUCTURALES

Las aberraciones cromosómicas numéricas (ACN) ocurren cuando existe la ganancia o la pérdida de cromosomas o la adición de una o más dotaciones haploides (**Figura**

6). La aneuploidía es la ganancia o pérdida de cromosomas, pero no una dotación completa ($2n \pm 1$, hiperploidías y hipoploidías). Las euploidías son múltiplos del número de cromosomas haploides (n) que no sea el número diploide $2n$ (es decir $3n$, $4n$, etc.) Las Aberraciones Cromosómicas Estructurales (ACE) ocurren cuando el material de un cromosoma individual es interrumpido o reubicado de algún modo. Como consecuencia, esto puede dar lugar a pérdida y ganancia de material cromosómico, los cambios en la estructura cromosómica pueden ocurrir de diferentes maneras como lo son la deleción, fragmentación y el reordenamiento del material genético dentro o entre cromosomas (**Figura 7**) (OECD, 2016).

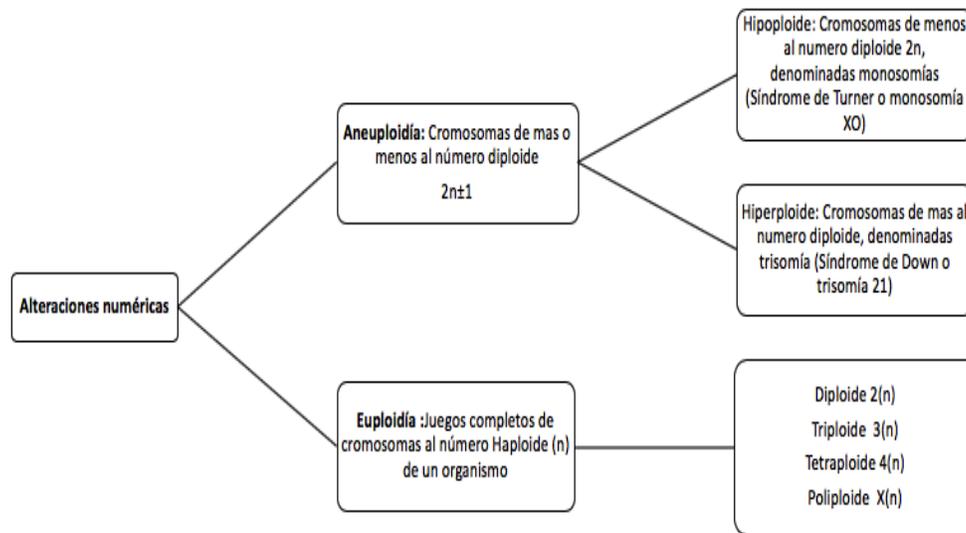


Figura 6. Anomalías cromosómicas numéricas en mamíferos.

Aberración	Figura	Descripción
Gap o Brecha		Involucra ambas cromátidas en un mismo cromosoma y <i>loci</i> . Se observa como una región sin teñir.
Delección terminal		Involucra la pérdida de un segmento final de un cromosoma y los fragmentos tienen a formar círculos.
Delección intersticial		Existen dos puntos de rotura en el brazo de cromosoma. Las partes restantes se fusionan, provocando un acortamiento del brazo.
		Intercambios
Anillación		Cuando ocurre una delección en ambos extremos y estos se fusionan formando un fragmento acéntrico.
		Tipo cromátidico
Gap o brecha		Región discontinua o sin teñir en una sola cromátida.
Rompimiento alineado		Región discontinua mayor al ancho de la cromátida del cromosoma. Puede estar alineada o no.
Asimétrico		Se originan por rompimientos cromátidicos entre distintos cromosomas, se forma un cromosoma disentérico y los fragmentos se unen a él, formando figuras cuadriradales.
Asimétrico		Intercambio entre brazos de un mismo cromosoma.
		Isocromáticos
Dicéntrico triradial		Con fragmento.
Monocéntrico triradial		No se forman fragmentos si la unión es completa.

Figura 7. Anomalías cromosómicas estructurales en mamíferos (modificado de National Human Genome Research Institute, 2015).

JUSTIFICACIÓN

El V es un contaminante ambiental generado por el uso de combustibles fósiles, se estima que al año se liberan 110,000 T dentro de la atmosfera, por lo cual, la constante exposición a la que se encuentra la población mediante la inhalación, crea interés en los efectos que puede ocasionar sobre las espermatogonias (células troncales de espermatozoides) debido a su acumulación en testículo, al ser este un órgano blanco y por consiguiente en la reproducción, por esto es necesario evaluar el daño reprotóxico. La importancia de este estudio es conocer los efectos, genotóxico, citostático y/o citotóxico en células madre de espermatozoides (espermatogonias) en un modelo *in vivo*, y así poder extrapolar los efectos en el gameto masculino de mamíferos (incluyendo al hombre).

HIPÓTESIS

Estudios en roedores indican que los compuestos de V tienen potencial genotóxico, citotóxico y/o citostático, y dependiendo del estado de oxidación se pueden generar diversos efectos, por lo tanto, si administramos distintas concentraciones de V_2O_5 por vía aérea y de forma aguda a ratones de la cepa CD-1, el metal provocara alteraciones a los cromosomas, modificara la proliferación de las espermatogonias y el pool de espermatogonias.

OBJETIVO

GENERAL

- Analizar los efectos genotóxico, citostático y citotóxico en espermatogonias de ratones de la cepa CD-1 tratados por vía aérea y de forma aguda con Pentóxido de Vanadio y las consecuencias sobre la calidad seminal.

PARTICULARES

- Cuantificar la frecuencia de ACE y ACN en cromosomas de espermatogonias de los grupos de ratones tratados con pentóxido de vanadio, para establecer daño genotóxico.
- Obtener el Índice Mitótico de las gonadas (IM) de los grupos tratados, para establecer efectos citostáticos y/o citotóxico.
- Determinar las proporciones de espermatogonias de tipo As, A₁₋₄ y B mediante el número de nucléolos de cada clase de los grupos tratados, para establecer efecto citostático.
- Establecer la calidad seminal y el daño citotóxico mediante la morfología y densidad espermática de los grupos tratados.

MATERIALES Y MÉTODOS

REACTIVOS

Para el desarrollo de los diferentes métodos se utilizaron los siguientes reactivos: El Pentóxido de vanadio (V_2O_5 , pureza del 99.6% y CAS 1314-62-1), Colchicina (CCC, $C_{22}H_{25}NO_6 > 95\%$ CAS 64-86-8), Citrato de sodio dihidratado (CAS 3646-01), Mitomicina C (MMC, CAS 50-07-7), Giemsa (CAS 51811-82-6) de SIGMA-ALDRICH St. Louis, MO USA; El Metanol absoluto (CH_3OH , CAS 67-56-1) y Ácido acético glacial (CH_3COOH , CAS 64-19-7) de JT Baker México; Solución Cloruro de Sodio ($NaCl$, 0.9%) PiSA México.

MODELO BIOLÓGICO: RATÓN CEPA CD-1

Se utilizaron ratones sexualmente maduros de la cepa CD-1, de 8 a 12 semanas de edad, con un peso de 37-45g que fueron proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, mantenidos con fotoperiodos de 12 horas de luz y 12 horas oscuridad a una temperatura estándar ($21 \pm 1^\circ C$) con una humedad de 40-50%. Los animales tuvieron libre acceso al alimento (Rodent diet Tek Lad Global Diets, 18% de proteína) y agua. Los grupos estuvieron conformados por cinco ratones.

GRUPOS Y TRATAMIENTOS

Los tratamientos por vía aérea se realizaron como se indica en la **Tabla 2**. En todos los casos el tratamiento fue de 1 hora, tratamiento agudo. Los 25 ratones fueron divididos en grupos de 5 individuos cada uno; los tratados inhalaban V_2O_5 en las siguientes concentraciones: 0.2 (Rodríguez-Lara, 2013), 0.04 y 0.08M. Para la administración de V, los animales fueron colocados en una caja hermética de plástico de 35.9 X 20 X 12.4 cm y la solución se dispersó en la cámara con un nebulizador de compresor Omron C801 KD con un flujo de 0.25 mL/min. Se incluyeron dos grupos

testigo, el positivo consistió en la administración de una sola dosis de Mitomicina C (MMC) a una concentración de $[1.046 \times 10^{-5}]$ y el testigo negativo (sin tratamiento).

Tabla 2. Grupos y tratamientos

Tratamientos	Dosis [M]	No. Ratones
Testigo negativo	0	5
Testigo positivo Mitomicina C	$[1.046 \times 10^{-5}]$	5
V₂O₅		
Baja	0.02	5
Media	0.04	5
Alta	0.08	5

M, Molaridad.

OBTENCIÓN DE ESPERMATOGONIAS Y METAFASES

Para la obtención de espermatogonias se siguió el procedimiento descrito en el Ensayo de Aberraciones Cromosómicas en Espermatogonias de Mamíferos (Evans, 1964; Hoo y Bowles, 1971; OECD, 2016), 19 horas después de los tratamientos, se les administró Colchicina 0.3% (P/V, vía i.p.) y, después de 5 horas, se sacrificaron por dislocación cervical, se extrajeron ambos epidídimos y testículos, para las obtención de espermatogonias se macero el testículo y se llevó a baño María a 37° C con Citrato de sodio dihidratado al 1% (P/V), se centrifugó a 3500RPM y se eliminó el sobrenadante, se ablandó el botón celular con Ácido Acético al 60% (V/V) y se goteó sobre laminillas frías, se realizó la tinción con Giemsa al 10% (V/V).

CALIDAD SEMINAL

Para el ensayo de anomalías espermáticas, los espermatozoides fueron obtenidos de los epidídimos y conductos deferentes inmediatamente después del sacrificio y colocados en microtubos que contenían solución salina (NaCl) 0.9% (P/V). Para la evaluación de la densidad espermática se vertieron 10 µL de semen fresco sobre una cámara Neubauer y se procedió con el conteo. Los espermatozoides se evaluaron para detectar anomalías morfológicas de la forma de la cabeza y flagelo de acuerdo con los criterios de Wyrobek y Bruce (1975), se utilizó la tinción Eosina- Nigrosina (modificado de la técnica Blom) para mayor contraste (Eliasson, 1977).

EVALUACIONES Y ANALISIS ESTADÍSTICO

Para la evaluación de aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas, se registrarán 50 metafases bien extendidas por ratón (250 por tratamiento) siguiendo la clasificación de Savage (2004). Se evaluó la calidad seminal mediante la densidad (World Health Organization, 2010) y la morfología de espermatozoides contando 200 espermatozoides y estableciendo jerarquía de formas: normales, cabeza con forma de banana, sin gancho/amorfas y daño en el flagelo (Wyrobek, 1975; Otubanjo y Mosuro, 2001). Para obtener el IME, se contabilizarán 2,000 espermatogonias por ratón, distinguiendo aquellas que se encontraban en metafase (2n=40 cromosomas), de las que están en interfase (**Tabla 3**) . Se utilizó la siguiente formula:

Índice Mítico Espermatogonial (IME)

$$= \frac{\text{Espermatogonias en metafase}}{\text{Espermatogonias en interfase}} (100)$$

Para los distintos tipos de espermatogonias se contabilizarán 2,000 células siguiendo los criterios de Huckins (1971) y Oakberg (1971), diferenciando entre las células troncales o de reserva (As), células en renovación (A₁₋₄) y células diferenciadas (B).

Tabla 3. Evaluaciones en el microscopio y pruebas estadísticas

Parámetros		# de Células analizadas	Prueba estadística
Aberraciones Cromosómicas	Estructurales (cromatídicas y cromosómicas) y numéricas .	50 Metafases/ratón=250 por grupo.	ANDEVA-Tukey
Índice Mitótico Espermatogonial	IME = Espermatogonias en metafase / espermatogonias en interfase X 100	2000 Espermatogonias/ratón=10,000 por grupo.	Z para proporciones
Espermatogonias	Espermatogonias A ₀ (Indiferenciadas), Renovación y B (diferenciadas).	2000 Espermatogonias/ratón=10,000 por grupo.	Z para proporciones
Densidad	Espermas / ml	Espermas X 10 ⁶	"t" de Student
Morfología	Formas: Normales, Cabeza de banana, Sin gancho/amorfas y daño en el flagelo	200 Espermatozoides/ratón=1,000 por grupo.	Z para proporciones

RESULTADOS

EFFECTO DEL V₂O₅ SOBRE EL PORCENTAJE DE CÉLULAS CON ACE

Los porcentajes de las células con ACE se presentan en la **Tabla 4**, donde se observa que en todos los grupos expuestos a V₂O₅ se presentó un incremento significativo (**p< 0.05**) en el porcentaje de células con ACE (14.4±1.6*, 14.0±2.05* y 14.8±2.6*) en relación con el testigo negativo (8.8±2.61), no existen diferencias significativas entre los grupos a V₂O₅. La administración de V₂O₅ incrementó el porcentaje de células con ACE (**Figura 8**), los rompimientos fueron los más frecuentes. Las ACE son empleadas para evaluar genotoxicidad ya que son indicadores de daño clastógeno, las aberraciones de tipo cromatídico se generan por daño al material genético y errores en la reparación del ADN en la fase S e inicios de G₂ del ciclo celular, en tanto, las de tipo cromosómico son provocadas en G₁ y en algunos casos en fase de S (Evans, 1984). Los posibles casos que incrementen los ACE podrían ser la formación de ROS y radicales libres mediante la reacción de Fenton o Haber-Weiss alterando la integridad de los cromosomas (Rodríguez-Mercado, 2010).

Tabla 4. Porcentaje de Aberraciones Cromosómicas Estructurales (ACE) en espermatogonias de ratón macho de la cepa CD-1 tratados con Pentóxido de vanadio (V₂O₅) inhalado

Frecuencia ACE									
Tratamiento [M]	Ratón	Cromatídico			Cromosómico			Total de ACE	Total de células con ACE y (%)
		G	F	R	G	R.C.			
T (-)	1	1	0	3	0	3	7	6	
	2	2	1	0	0	2	5	2	
	3	0	0	2	0	2	4	8	
	4	0	0	2	0	1	3	4	
	5	0	0	0	0	2	2	2	
$\bar{x} \pm EE$							21±1.92	22	8.8±0.55
T+ MMC [1.046X10 ⁻⁵]	1	0	0	2	0	1	3	3	
	2	1	1	1	0	4	7	7	
	3	0	0	7	0	4	11	8	
	4	1	0	0	0	1	2	2	
	5	1	1	0	1	8	11	11	
$\bar{x} \pm EE$							34±4.27	31	12.4±0.78*
V ₂ O ₅ [0.02]	1	1	0	1	3	3	8	8	
	2	2	2	2	2	2	10	9	
	3	1	3	0	1	1	6	6	
	4	1	0	3	2	2	8	8	
	5	0	0	2	2	1	5	5	
$\bar{x} \pm EE$							37±1.95	36	14.4±0.91*
[0.04]	1	1	0	2	1	2	6	5	
	2	0	0	4	1	4	9	9	
	3	1	5	0	0	2	8	7	
	4	0	2	1	0	2	5	4	
	5	2	0	3	0	5	10	10	
$\bar{x} \pm EE$							38±2.07	35	14.0±0.88*
[0.08]	1	1	1	2	2	3	9	8	
	2	1	1	3	1	0	6	6	
	3	1	0	4	0	1	6	4	
	4	2	1	1	2	3	9	8	
	5	3	4	0	0	6	13	11	
$\bar{x} \pm EE$							43±2.88	37	14.8±0.93*

EE, Error Estándar; G, Gap; F, Fragmento; R, Rompimiento; RC, Rompimiento cromosómico. *p<0.05 VS testigo negativo, ANDEVA-Tukey.

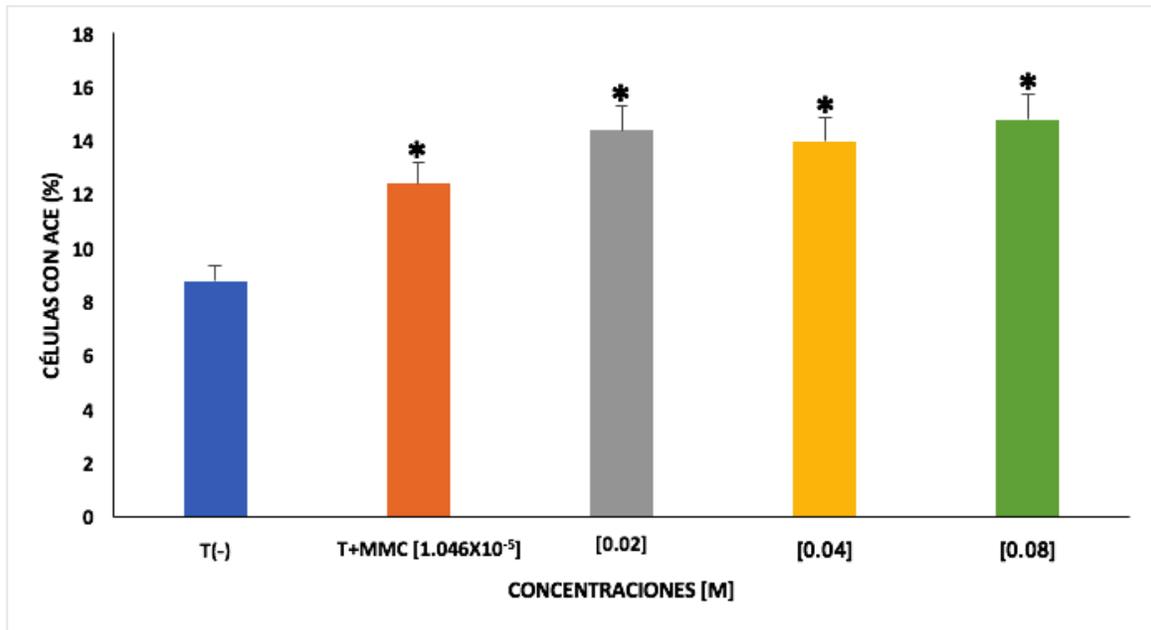


Figura 8. Porcentaje de células espermatogoniales con ACE, en ratones tratados con pentóxido de vanadio (V_2O_5). * $p < 0.05$ VS testigo negativo, ANDEVA-Tukey.

EFEECTO DEL V_2O_5 EN EL PORCENTAJE DE CÉLULAS CON ACN

Los porcentajes de las células con aberraciones cromosómicas numéricas se presentan en la **Tabla 5**, donde se observa que los grupos de ratones tratados con V_2O_5 en la dosis media y alta presentaron un incremento en el porcentaje de células con ACN y presentaron diferencias entre grupos la dosis 0.04M y 0.08M. La administración de V_2O_5 incrementó el porcentaje de células con ACN (**Figura 9 y 10**), las euploidías y aneuploidías fueron las más frecuentes.

Tabla 5. Frecuencia de aberraciones cromosómicas numéricas (ACN) en espermatogonias de ratón macho de la cepa CD-1 tratados con Pentóxido de vanadio (V₂O₅) inhalado

Tratamiento [M]	Ratón	Normal (2n)	Euploide	Aneuploide	Haploide	Total, de células con ACN	Células con ACN (%)
T (-)	1	35	10	5	0	15	30.0
	2	28	13	0	9	22	44.0
	3	32	15	0	3	18	36.0
	4	28	15	2	5	22	44.0
	5	24	12	12	2	26	52.0
$\bar{x} \pm EE$		147	65	19	19	103	41.2±8.44
T+MMC [1.046X10 ⁻⁵]	1	14	23	8	5	36	72.0
	2	12	27	8	3	38	76.0
	3	16	19	14	1	34	68.0
	4	13	29	7	1	37	74.0
	5	13	17	17	3	37	74.0
$\bar{x} \pm EE$		68	115	54	13	182	72.80±3.03
V₂O₅							
[0.02]	1	28	13	2	7	22	44.0
	2	33	7	0	10	17	34.0
	3	29	12	0	8	20	40.0
	4	33	13	2	2	17	34.0
	5	28	14	1	7	22	44.0
$\bar{x} \pm EE$		151	59	5	34	98	39.20±5.02
[0.04]	1	29	10	6	5	21	42.0
	2	25	17	8	0	25	50.0
	3	24	13	9	4	26	52.0
	4	12	25	10	3	38	76.0
	5	20	20	9	1	30	60.0
$\bar{x} \pm EE$		110	85	42	13	140	56.00±12.88*
[0.08]	1	18	18	14	0	32	64.0
	2	22	12	16	0	28	56.0
	3	15	16	15	4	35	70.0
	4	21	18	10	1	29	58.0
	5	23	13	12	2	27	54.0
$\bar{x} \pm EE$		99	77	67	7	151	60.40±6.54*

*p<0.05 VS testigo negativo, ANDEVA, •p<0.05 [0.04M] VS [0.02M] y [0.08M] VS [0.02M] ANDEVA-Tukey.

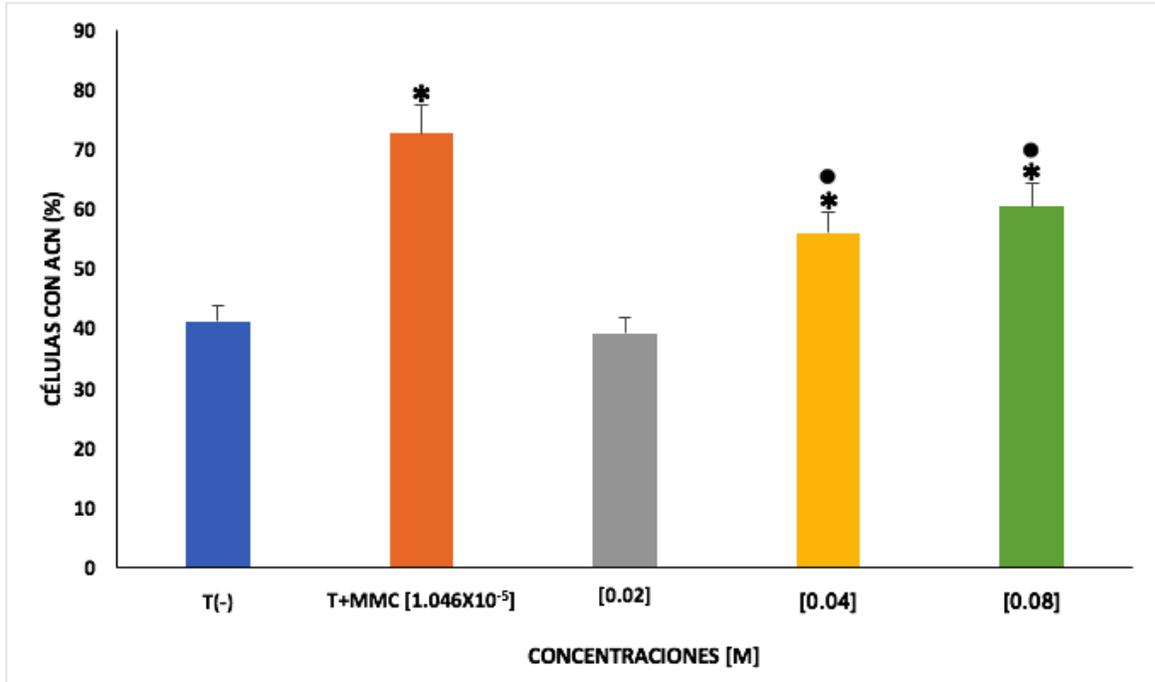


Figura 9. Porcentaje de células espermatogoniales con ACN, en ratones tratados con pentóxido de vanadio (V_2O_5). * $p < 0.05$ VS testigo negativo, ANDEVA, • $p < 0.05$ [0.04M] VS [0.02M] y [0.08M] VS [0.02M] ANDEVA-Tukey.

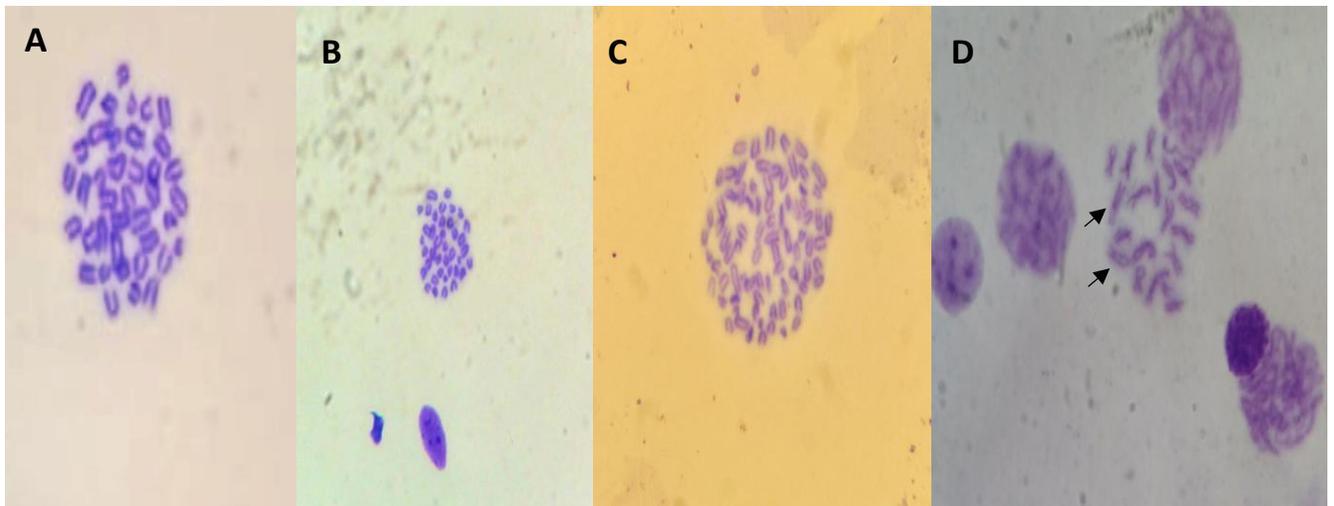


Figura 10. Microfotografías de células en metafase de espermatogonias de ratones macho CD-1, (A) Metafase ($2n=40$), (B) Metafase aneuploide ($2n=40-1$), (C) Metafase euploide ($4n=80$) y (D) Metafase con translocación (Flechas). Aguilar y Roldán, 2019, Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, FES Zaragoza, UNAM (campo claro, 100X).

EFEECTO DEL V₂O₅ SOBRE LOS TIPOS DE ESPERMATOGONIAS E IME

Los resultados sobre las proporciones de cada tipo de espermatogonias e Índice Mitótico Espermatogonial se presentan en la **Tabla 6 y Figura 11**, como se puede observar, hay un aumento significativo ($p < 0.05$) en la proporción de espermatogonias de tipo intermedio ($71.09 \pm 0.95\%*$ VS $67.19 \pm 1.00\%$) y en las Diferenciadas una disminución ($4.75 \pm 0.49\%*$ VS $8.17 \pm 1.11\%$) en el grupo de animales tratados con la dosis más alta de V₂O₅ (0.08 M). Las espermatogonias A₀ al tener una proliferación menor no se ven afectadas, pero, las espermatogonias en renovación al encontrarse en constante división se ven afectadas por el vanadio deteniéndolas en este estadio (efecto citostático) lo cual explicaría la disminución de las espermatogonias B (efecto citotóxico).

Podemos observar como es que el IME disminuye en todas las concentraciones 0.02, 0.04 y 0.08 M ($17.88 \pm 1.2\%$, $15.16 \pm 0.63\%$ y $15.26 \pm 1.52\%$) en relación al testigo negativo (**Figura 12**), esta disminución en la proliferación celular lo podemos atribuir al efecto de los Especies Reactivas de Oxígeno, debido a que el V₂O₅ al ingresar al cuerpo sufre una serie de reacciones de oxo-reducción y es transformado de V⁵⁺ a V⁴⁺ donde este es acumulado en testículo y en otros órganos (Elinder *et al.*, 1988; Mukherjee, *et al.*, 2004; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Se ha demostrado que los metales promueven la generación de las Especies Reactivas de Oxígeno mediante la reacción de Fenton y Haber-Weiss (Leonard *et al.*, 2004). El Estrés Oxidante se define como un desequilibrio entre los mecanismos prooxidantes y los mecanismos antioxidantes de los organismos, al existir este desequilibrio sobre las células, estas ven afectado su metabolismo.

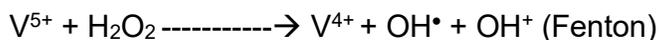


Tabla 6. Porcentaje de tipos de espermatogonias e IME en ratones macho de la cepa CD-1 tratados con Pentóxido de vanadio (V₂O₅) inhalado

Tratamientos	Ratón	Espermatogonias A0 (%)	Espermatogonias en renovación (%)	Espermatogonias B (%)	IME (%)
[M]					
(T-)	1	23.75	66.80	9.45	27.3
	2	22.30	68.90	8.80	27.3
	3	23.20	67.25	9.55	26.00
	4	27.05	63.65	9.30	22.90
	5	26.90	69.35	3.750	20.30
$\bar{x}\pm EE$		24.64±0.98	67.19±1.00	8.17±1.11	24.76±1.37
T+MMC [1.046X10 ⁻⁵]	1	21.85	68.50	9.65	3.40
	2	16.75	66.30	16.95	4.50
	3	24.25	65.90	9.85	11.73
	4	14.9	73.950	11.15	3.70
	5	29.00	58.50	12.50	2.60
$\bar{x}\pm EE$		21.35±2.54*	66.63±2.48	12.02±1.33*	5.18±1.66*
V ₂ O ₅ [0.02]	1	26.60	67.15	6.25	19.30
	2	15.15	76.75	8.10	16.30
	3	27.10	65.75	7.15	13.90
	4	22.05	70.05	7.90	19.70
	5	25.80	67.70	6.50	20.20
$\bar{x}\pm EE$		23.34±2.23	69.48±1.94	7.18±0.36*	17.88±1.2*
[0.04]	1	14.70	74.45	10.85	15.20
	2	25.00	68.75	6.25	17.00
	3	29.75	63.35	6.90	14.10
	4	25.90	66.90	7.20	13.50
	5	26.20	65.85	7.95	16.00
$\bar{x}\pm EE$		24.31±2.53	67.86±1.86	7.83±0.80	15.16±0.63*
[0.08]	1	24.80	69.65	5.55	17.10
	2	23.65	71.00	5.35	15.20
	3	21.50	74.65	3.85	15.40
	4	25.90	70.80	3.30	16.30
	5	24.95	69.35	5.70	12.30
$\bar{x}\pm EE$		24.16±0.75	71.09±0.95*	4.75±0.49*	15.26±0.81*

*p<0.05 VS testigo negativo, Z para proporciones.

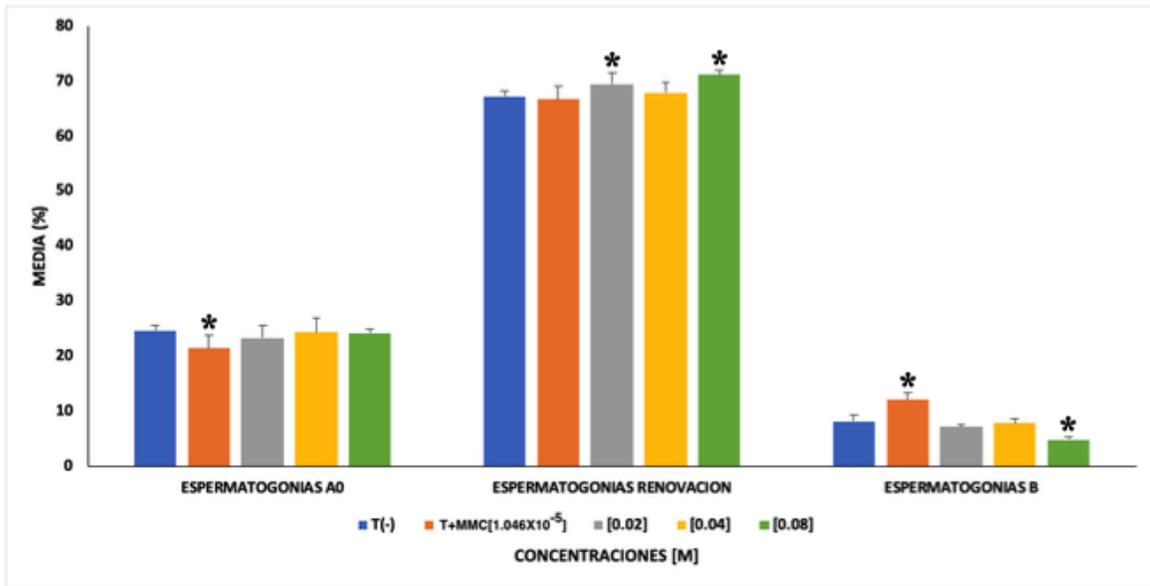


Figura 11. Efecto del V₂O₅ sobre los diferentes tipos de espermatogonias en ratones macho CD-1. *p<0.05 VS testigo negativo, Z para proporciones.

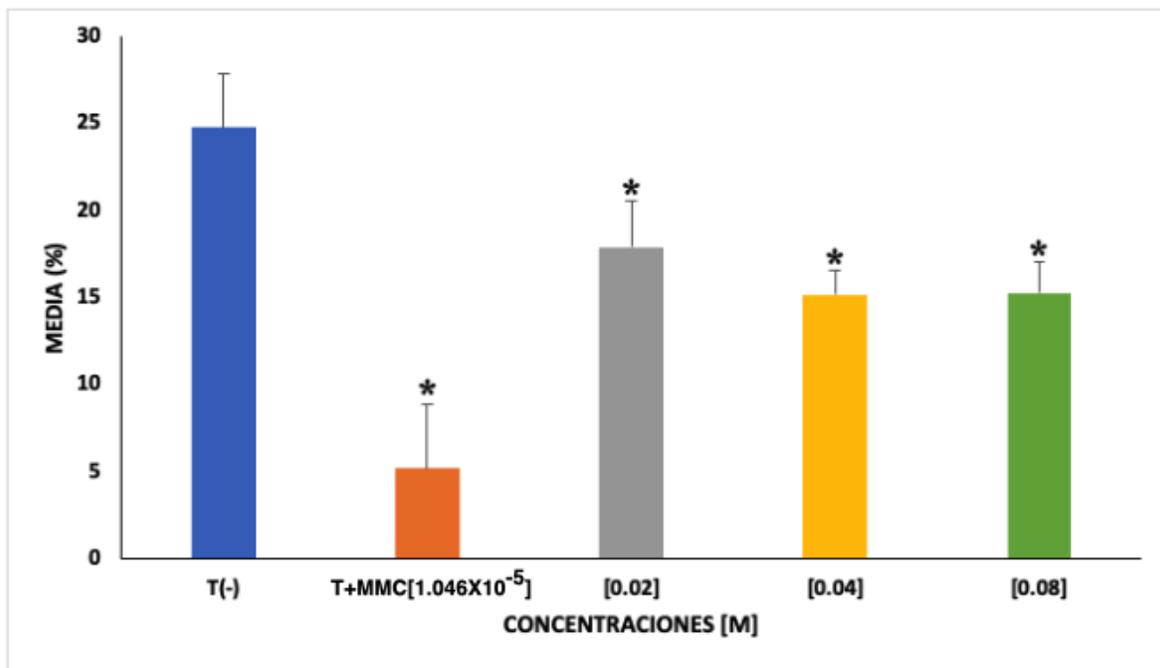


Figura 12. Efecto del V₂O₅ sobre el índice mitótico espermatogonial en ratones macho CD-1. *p<0.05 VS testigo negativo, Z para proporciones.

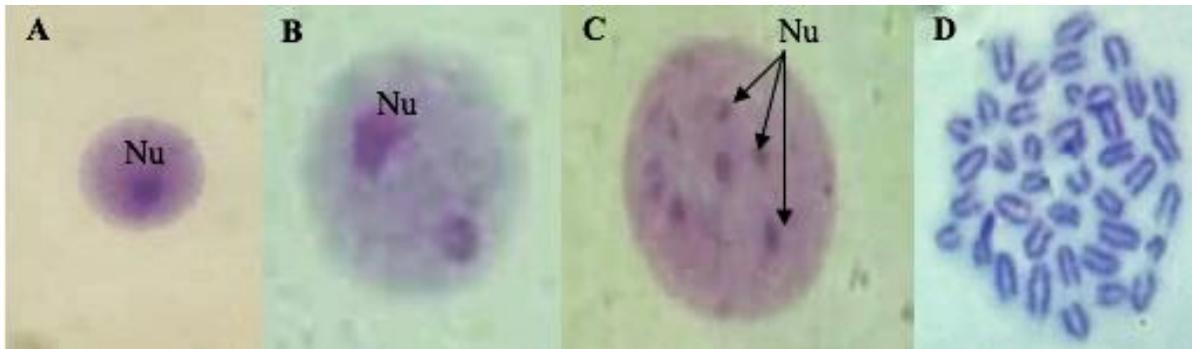


Figura 13. Microfotografías de los diferentes tipos de espermatogonias, (A) Espermatogonia A0, (B) Espermatogonia en renovación, (C) Espermatogonia B y (D) Metafase espermatogonial. (Nu= nucléolos). Aguilar y Roldán, 2019, Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, FES Zaragoza, UNAM (Campo claro 100X).

EFFECTO DEL V_2O_5 EN LA DENSIDAD Y PROPORCIONES DE LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA

En la **Tabla 7** se muestra la densidad y las proporciones de la morfología espermática de los grupos (**Figura 14, 15 y 16**), se puede apreciar como la densidad disminuyó significativamente ($p < 0.05$) en todas las concentraciones administradas al comparar con el testigo negativo, la morfología resultó alterada con todas las dosis, con una mayor cantidad de alteraciones en las concentraciones 0.04 y 0.08M, en base a los resultados obtenidos podemos decir que los grupos tratados con diferentes concentraciones de vanadio presentan **mala calidad seminal**. Estudios relacionan al estrés oxidativo con una mala calidad seminal, debido a que, al existir una mayor producción de especies reactivas de oxígeno interfieren con el citoesqueleto alterando la conformación de la actina, lo que conlleva a problemas con la morfología y densidad espermática (Jomova, 2011; González-Bustamante *et al.*, 2017).

Tabla 7. Densidad y proporciones de la morfología espermática de ratones macho de la cepa CD-1 tratados con Pentóxido de vanadio (V₂O₅) inhalado

Tratamientos [M]	Ratón	Densidad (10 ⁶)	Normal (%)	Banana (%)	Sin gancho (%)	Daño flagelo (%)
T (-)	1	84.25	75.00	12.00	7.00	6.00
	2	87.75	87.50	4.00	2.50	6.00
	3	78.00	89.50	5.50	1.50	3.50
	4	91.00	80.50	6.50	3.00	10.00
	5	66.50	85.50	1.50	5.50	7.50
$\bar{x} \pm EE$		81.5 \pm 4.32	83.60 \pm 2.61	5.90 \pm 1.74	3.90 \pm 1.01	6.60 \pm 1.06
T+MMC [1.046X10 ⁻⁵]	1	41.87	68.00	6.00	3.00	23.00
	2	30.00	92.50	3.50	1.50	2.50
	3	28.00	87.50	6.50	3.50	2.50
	4	84.00	72.00	7.00	9.00	12.00
	5	38.00	81.00	2.50	1.00	15.50
$\bar{x} \pm EE$		44.37 \pm 10.01	80.20 \pm 4.5*	5.10 \pm 0.88	3.60 \pm 1.42	11.10 \pm 3.9*
V ₂ O ₅ [0.02]	1	57.00	56.00	5.00	3.00	36.00
	2	84.50	62.00	6.50	2.50	29.00
	3	46.25	70.00	9.00	7.00	14.00
	4	48.25	57.00	8.50	10.00	24.50
	5	35.75	61.50	8.50	6.50	23.50
$\bar{x} \pm EE$		54.3 \pm 8.26 ^a	61.30 \pm 2.4*	7.50 \pm 0.75*	5.80 \pm 1.38*	25.40 \pm 3.9*
[0.04]	1	17.10	62.00	12.50	5.50	20.00
	2	36.50	51.00	28.00	8.00	13.00
	3	19.00	51.50	19.50	5.00	24.00
	4	38.00	50.00	18.50	2.50	29.00
	5	10.40	46.00	15.50	14.50	24.00
$\bar{x} \pm EE$		24.2 \pm 5.51 ^a	52.10 \pm 2.65	18.80 \pm 2.6*	7.10 \pm 2.04*	22.00 \pm 2.66*
[0.08 M]	1	15.20	39.00	27.50	9.50	24.00
	2	8.80	46.00	24.50	7.50	22.00
	3	27.75	39.50	42.00	9.50	9.00
	4	26.30	43.00	27.50	8.00	21.50
	5	30.50	42.50	30.50	6.50	21.50
$\bar{x} \pm EE$		21.71 \pm 4.14 ^a	42.00 \pm 1.27	30.40 \pm 3.0	8.20 \pm 0.58*	19.60 \pm 2.68*

^ap<0.05 VS testigo negativo, "t" Student. *p<0.05 VS testigo negativo, Z para proporciones.

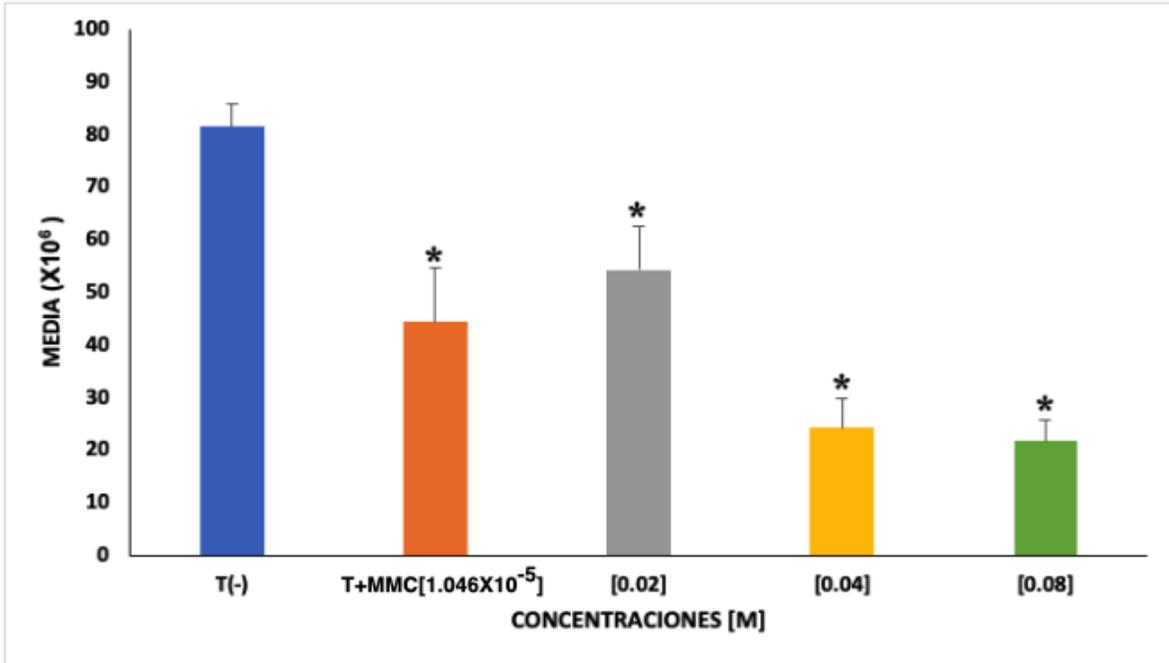


Figura 14. Efecto del V₂O₅ sobre la densidad espermática en ratones macho CD-1. *p<0.05 VS testigo negativo, “t” de Student.

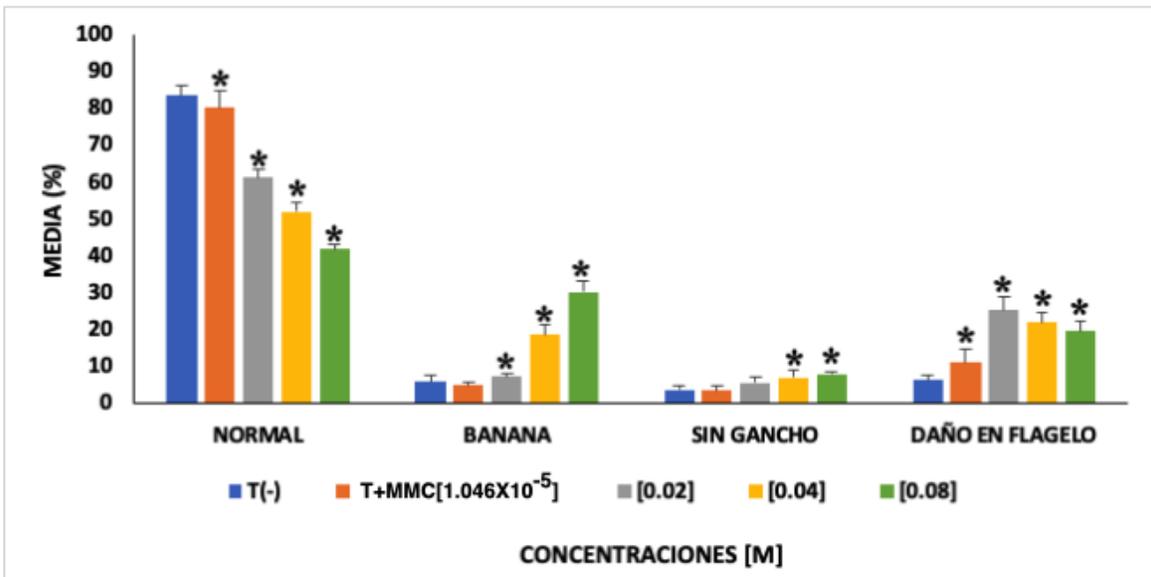


Figura 15. Efecto del V₂O₅ en la morfología espermática en ratones macho CD-1. *p<0.05 VS testigo negativo, Z para proporciones.

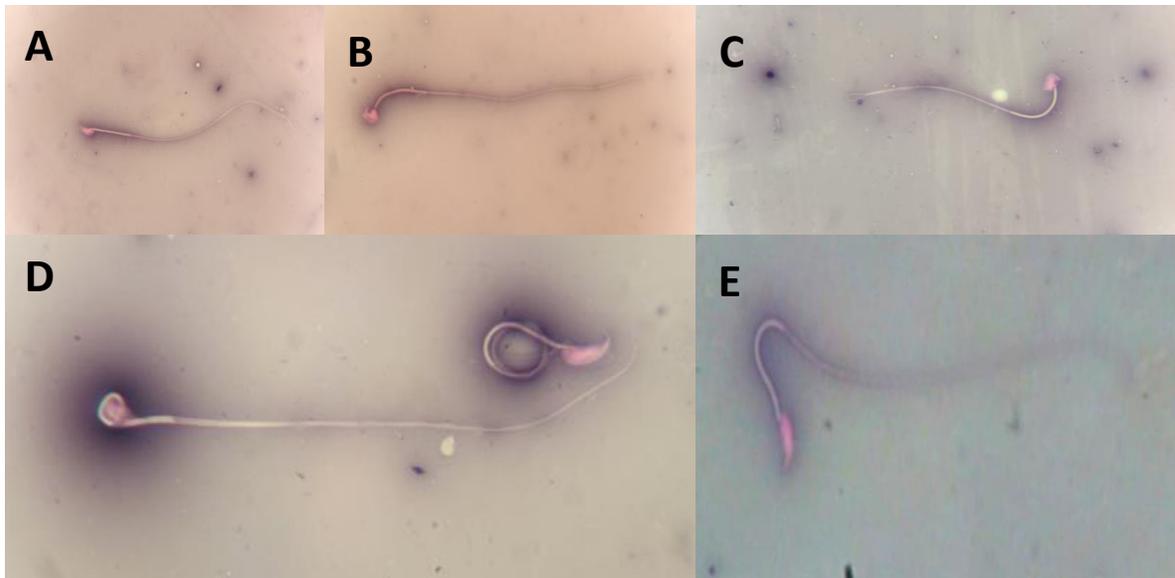


Figura 16. Microfotografías del efecto del V_2O_5 sobre la morfología espermática de ratones CD-1, (A) Espermatozoide normal, (B) Espermatozoide con cabeza amorfa, (C) Espermatozoide sin gancho (D) Espermatozoide con cabeza amorfa y flagelo enrollado y (E) Espermatozoide con cabeza de banana. Aguilar y Roldán, 2019, Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, FES Zaragoza, UNAM, (Campo claro, 100X).

DISCUSIÓN

ABERRACIONES CROMOSÓMICAS ESTRUCTURALES ASOCIADAS A GENOTOXICIDAD

La frecuencia de AC en células espermátogonias, es un ensayo citogenético clásico en células en metafase y se ha utilizado de forma rutinaria como una herramienta para evaluar genotóxicos *in vivo* (OECD, 2016).

El daño al ADN es inducido por agentes exógenos como los contaminantes ambientales (Taylor, 1994) o los endógenos (radicales libres) (Lindahl y Wood, 1999). El ensayo de aberraciones cromosómicas espermátogonias de mamíferos se ha utilizado ampliamente para la predicción de mutaciones hereditarias en mamíferos *in vivo* y es recomendada para la evaluación de sustancias químicas, de las que se sospecha que tengan un efecto advers (OECD,2016). Además, esta prueba es relevante para evaluar la genotoxicidad, porque, aunque pueden variar entre las

especies, los factores del metabolismo *in vivo*, la farmacocinética y los procesos de reparación del ADN se encuentran activos y contribuyen a la respuesta (OECD, 2016).

Las ACE se utilizan para evaluar la genotoxicidad, ya que estos son indicadores de efecto clastógeno. Se han clasificado en dos grupos, las de tipo cromatídico y cromosómico, las de tipo cromatídico surgen por daño al material genético o una mala reparación del mismo en la última etapa de fase S y al inicio de G₂ del ciclo celular y las de tipo cromosómico en G₁ (Evans, 1982).

En 2011 Rodríguez-Mercado *et al.* reportaron la inducción de la fragmentación del ADN en leucocitos en presencia de V₂O₅ de manera dosis/tiempo dependiente. Es conocido que la fragmentación del ADN puede estar relacionada con el estadio del ciclo celular, de modo que células en proceso activo de proliferación resultan más susceptibles a tal alteración. En este estudio todas las concentraciones de V₂O₅ lograron inducir aberraciones estructurales, el tipo de daño más frecuente fueron los rompimientos.

ABERRACIONES CROMOSÓMICAS NUMÉRICAS

Uno de los tipos posibles de daño al material genético es la aneuploidía, que consiste en la pérdida o ganancia de uno o más cromosomas enteros en las células de un organismo y que se origina en la no disyunción de uno o más cromosomas en anafase. Los mecanismos que la originan pueden ser diversos: por un lado, pueden ocurrir alteraciones en el huso mitótico debido a trastornos en la polimerización de las tubulinas.

Las pruebas propuestas para analizar la inducción de aneuploidía se basan en el conteo de cromosomas en células diploides (Dulout y Olivero, 1984; Danford, 1985). Se sabe que el V₂O₅ y otros compuestos de vanadio en el estado de oxidación 5+ o 4+ inducen efectos aneuploidogénicos en cultivos celulares, que incluyen: hipoploidías, hiperploidías y euploidías (Roldán y Altamirano, 1990; Migliore *et al.*, 1993; Zhong *et*

al., 1994; Rodríguez- Mercado y Altamirano-Lozano, 2006), lo cual apoya los resultados obtenidos.

ÍNDICE MITÓTICO ESPERMATOGONIAL (IME) LIGADO A CITOSTATICIDAD/CITOTOXICIDAD

El principal método de evaluación de citotoxicidad lo representa la determinación del **Índice Mitótico (IM)**, el cual nos brinda una idea de la proliferación celular y los posibles cambios sufridos a lo largo de los tratamientos.

El IM es un parámetro que se utiliza ampliamente para evaluar la proliferación de un grupo de células, normales o transformadas (Schneider *et al.*, 1981; Palma, 1993), la disminución de este puede deberse a diferentes causas, como retardo de una fase del ciclo celular tarde más de lo normal afectando a las siguientes etapas o que el compuesto provoque un daño irreparable sobre la célula lo que conllevaría a la muerte celular.

En el presente trabajo se aplicó el IM a las espermatogonias, le denominamos **Índice Mitótico Espermatogonial (ÍME)**, con el cual se observó que la administración de V_2O_5 mediante inhalación provocó una disminución significativa del IME en todas las dosis administradas en relación con el testigo negativo, no existen reportes sobre daño generado en espermatogonias utilizando esta vía de administración, al ver el ÍME afectado podemos inferir que el V afecta el ciclo celular normal de las espermatogonias, como ya fue mencionado, podría ser que el V tuviera un efecto sobre la división celular al detener alguna de las etapas, esto podría indicar de igual manera el efecto citostático y/o citotóxico del V. En 2003, Rodríguez-Mercado reportó efectos similares en linfocitos tratados con V en diferentes estados de oxidación de 3+, 4+ y 5+, lo cual apoya los resultados obtenidos.

Muchos informes han demostrado que las concentraciones μM de V_2O_5 y los compuestos de vanadio 4+ o 5+ interfieren con la actividad de varios iones como son: Na^{\pm} , K^{\pm} , H^{\pm} o Ca^{2+} , activan los factores de transcripción e inhiben las señales de

proliferación y el crecimiento celular mediado por las proteínas MAPK todo esto puede llevar a la apoptosis y por lo tanto a la disminución del índice mitótico (Ye *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2000; Chen y Shi, 2002; Zhang *et al.*, 2003; IARC, 2006). Podemos decir que el V administrado por vía aérea inhibe la proliferación de las espermatogonias lo que daría como resultado final una disminución en la densidad espermática, por su efecto citotóxico.

ESPERMATOGONIAS LIGADAS A CITOSTATICIDAD/CITOTOXICIDAD

Existen pocos estudios sobre los efectos del V₂O₅ sobre células germinales, la mayoría de los estudios tienen como objetivo analizar células diferenciadas (espermatozoides). Por lo cual, es difícil hacer una comparación entre estudios, pero, podemos inferir dichos efectos mediante el uso del IME provocados por V. Los resultados obtenidos indican el efecto citostático del V, al detener a las espermatogonias en algún estadio de la división celular o causar un daño irreparable conllevaría las células a sufrir apoptosis, lo que daría como resultado la modificación del pool de espermatogonias.

CALIDAD SEMINAL ASOCIADA A CITOTOXICIDAD

Los resultados muestran efectos reprotóxicos que se observan como alteraciones en la espermatogénesis y en la espermiogénesis, lo cual es evidenciado por la disminución de la densidad espermática y el aumento de alteraciones morfológicas, respectivamente. La densidad y la morfología espermática se vieron afectadas en cuanto al aumento de la concentración de V administrada a los ratones, la densidad disminuyó en todos los grupos, y, la morfología anormal aumentó también en todos los grupos, notándose un mayor número de células anormales con la dosis más alta (0.08M), dichos cambios en la densidad y morfología espermática nos permiten catalogar al V como un elemento citotóxico y/o citostático.

La exposición a la contaminación ambiental parece ser un factor importante relacionado con los problemas de salud reproductiva; sin embargo, hay pocos

reportes de mecanismos descritos por los cuales estos causan alteraciones. Los resultados obtenidos mostraron que la exposición al V_2O_5 inhalado el cual es uno de los principales contaminantes ambientales produce una disminución en la calidad seminal.

El V ingresa a las células de forma inespecífica, mediante canales iónicos o la difusión pasiva cuando las partículas son pequeñas e hidrófobas (Zaporowska y Scibior, 1998; Cheng y Mruk, 2002; Baran, 2003; Yang *et al.*, 2003; Mukherjee *et al.*, 2004). Dentro de la célula el vanadio sufre procesos de oxo-reducción lo cual genera un aumento en los niveles de ROS.

Estudios recientes confirman la asociación entre el estrés oxidativo y la infertilidad masculina. Las ROS ejercen un papel importante en la fisiología de los espermatozoides y, por lo tanto, son imprescindibles para su correcta funcionalidad. Fisiológicamente hablando, las ROS controlan la maduración, capacitación e hiperactivación del espermatozoide, además de intervenir en la reacción acrosómica y fusión del espermatozoide con el óvulo.

Cuando existe un desequilibrio entre la generación de ROS y la capacidad de un sistema biológico de desintoxicar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante se dice que hay estrés oxidativo (Agarwal, 2003; Roldán, 2016) y cuando el equilibrio entre ROS y anti-oxidantes se rompe, afecta tanto a las características que regula, como a la concentración, morfología y motilidad, induciendo, daño al DNA y apoptosis (Kothari *et al.*, 2010; Aktan *et al.*, 2013).

El estrés oxidativo puede originar daños o deformidades a los espermatozoides y eventualmente infertilidad masculina. Entre estos daños, se registran la peroxidación lipídica a la membrana espermática. El proceso de lipoperoxidación consiste en el ataque de radicales libres a lípidos insaturados, dando como resultado una reacción en cadena que finaliza en la formación de productos lipídicos: alcoholes lipídicos, aldehídos, o pequeños fragmentos como el malondialdehído (Jomova, 2011;

González-Bustamante *et al.*, 2017), lo cual apoya los resultados obtenidos en cuanto a la disminución de la calidad espermática.

Los cambios morfológicos y funcionales en las células testiculares que provocan la muerte celular sugieren alteraciones del citoesqueleto producidas por el V, Rodríguez *et al.* (2013) asociaron que la inhalación de V en ratones produce cambios en la actina del citoesqueleto de células testiculares, lo que podría desencadenar una calidad seminal disminuida (morfología, densidad y motilidad) y la posible asociación entre la infertilidad y la contaminación del aire. La actina, como otras proteínas del citoesqueleto, es muy sensible al efecto del estrés oxidativo. Hertelendi *et al.* (2008) han demostrado que los cardiomiocitos humanos sometidos a estrés oxidativo acumulan actina oxidada, y los estudios de proteómica en células mononucleares de sangre periférica humana han identificado a la actina como un objetivo de oxidación (Laragione *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo establecen que el V_2O_5 aplicado por vía aérea y de forma aguda, a ratones macho de la cepa CD-1:

- Aumenta el número de células con ACE y ACN estableciendo **efecto genotóxico**.
- Disminuyó el **IME**, es decir que altera el proceso de la división celular, altera los diferentes tipos de espermatogonias ya sea por **efectos citostático o citotóxico**.
- **La densidad espermática** disminuyó por efecto citotóxico de las **espermatogonias tipo B** que son las que darían como resultado final a los espermatozoides, reforzando el **efecto citotóxico de Vanadio**.
- La morfología espermática se vió alterada en todas las concentraciones, ligada posiblemente al efecto de los ROS o a daño genotóxico de las espermatogonias en renovación y diferenciadas en la dosis alta [0.08M] estableciendo al vanadio como un agente que induce **toxicidad celular**.

PERSPECTIVAS

- Medir las Especies Reactivas de Oxígeno en sangre y espermatogonias.
- Observar teratogénesis en fetos obtenidos de la cruce de machos tratados con V_2O_5 y hembras no tratadas.
- Analizar ACE y ACN en meiosis I.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler, I. D. (1984). Cytogenetic Tests in Mammals. In: Mutagenicity Testing: A Practical Approach. Ed. S. Venitt and J. M. Parry. IRL Press, Oxford, Washington DC, pp. 275-306.
- Adler I. D., Shelby M. D., Bootman, J., Favor, J., Generoso, W., Pacchierotti, F., Shibuya, T. y Tanaka N. (1994). *International Workshop on Standardisation of Genotoxicity Test Procedures*. Summary Report of the Working Group on Mammalian Germ Cell Tests. *Mutation Res.*, 312, 313-318.
- Aktan, G., Doğru-Abbasoğlu, S., Küçükgergin, C., Kadioğlu, A., Özdemirler-Erata, G., y Koçak-Toker, N. (2013). Mystery of idiopathic male infertility: Is oxidative stress an actual risk? *Fertility and Sterility*, 99(5), 1211-1215.
- Akeson, E. C. y Davisson, M. T. (2001). Mitotic Chromosome Preparations from Mouse Cells for Karyotyping. *Current Protocols in Human Genetics*.
- Baran, E. J. (2003). Model studies related to vanadium biochemistry: Recent advances and perspectives. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14(6), 878- 888.
- Carvallo F. (2007) Efectos antiproliferativos y apoptóticos de las Casiopeínas. Tesis de Doctorado. UNAM. Programa de Doctorado en Ciencias de la Producción y Salud Animal UNAM, México D.F.
- Chen, F. y Shi, X. (2002). Intracellular signal transduction of cells in response to carcinogenic metals. *Crit Rev Oncol/Hematol* 42:105–121.
- Cheng, C. Y., y Mruk, D. D. (2002). Cell Junction Dynamics in the Testis: Sertoli- Germ Cell Interactions and Male Contraceptive Development. *Physiological Reviews*, 82(4), 825-874.
- Crans D.C., Amin S.S. y Keramidas A.D. (1998). Chemistry of relevance to vanadium in the environment. En: *Vanadium in the Environment*. Primera parte: *Chemistry and Biochemistry* (J.O. Nriagu, Ed.). Wiley, Nueva York, pp. 73–96.
- Crans, D. C., Smee, J. J., Gaidamauskas, E. y Yang, L. (2004). The Chemistry and Biochemistry of Vanadium and the Biological Activities Exerted by Vanadium Compounds. *ChemInform*, 35(20).
- Danford, N. (1985) Tests for chromosome aberrations and aneuploidy in Chinese hamster fibroblast cell line CH1-L. In Ashby J, De Serres F, Draoer M, Ishidate M Jr, Margolin B, Matter by Shelby M (eds), *Progress in Mutation Research*, Elsevier, Amsterdam, vol. 5 pp 397-411.

- D'Cruz, O., Ghosh, P. y Uckun F. (1998). Spermicidal activity of metallocene complexes containing vanadium (IV) in humans. *Biol Reprod.*, 58, 1515-26.
- D'Cruz, O. J. y Uckun, F. M. (2005). Vaginal contraceptive activity of a chelated vanadocene. *Contraception*, 72(2), 146-156.
- De Kretser, D. M. y Kerr, J. B. (1994). The cytology of the testis. En: Knobil E, Neill JD, editors. *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press.
- Dettin, L., Ravindranath, N., Hofmann, M. y Dym, M. (2003). Morphological Characterization of the Spermatogonial Subtypes in the Neonatal Mouse Testis1. *Biology of Reproduction*, 69(5), 1565-1571.
- Dulout, F. y Olivero, O. (1984). Anaphase-telophase analysis of chromosomal damage induced by chemicals. *Environ Mutagen.* 6: 299-310.
- European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemical (ECETOC). (1983). Technical Report N0. 8. Biodegradation Testing: Assessment of the Present Status.
- Eliasson, R. (1977) Supravital staining of human spermatozoa. *Fertility and Sterility.* 28: 1257; Eliasson, R. (1981) Analysis of semen. En *The Testis*, ed. H. Burger y D. de Kretser, New York, Raven Press, pp. 381-99.
- Elinder, C., Gerhardsson, L. y Oberdoerster, G. (1988). Biological Monitoring of Toxic Metals - Overview. *Biological Monitoring of Toxic Metals*, 1-71.
- Evangelou, A. M. (2002). Vanadium in cancer treatment. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42(3), 249-265.
- Evans, H. J. (1982). Chromosomal mutations in human populations. *Cytogenetic. Cell Genet.* 33, 48-56.
- Fariss, M. W. (2005). Role of mitochondria in toxic oxidative stress. *Molecular Interventions*, 5(2), 94-111.
- FDA (Food and Drug Administration) (2000) IV. C.1 Short-Term Test for Genetic Toxicology. Redook 2000.
- Fortoul, T.I., Quan-Torres A., Sanchez I., Lopez I.E., Bizarro P., Mendoza M.L., Osorio L.S., Espejel-Maya G., Avila-Casado M. del C., Avila-Costa M.R., Colin Barenque L., Villanueva D.N. y Olaiz-Fernandez G. (2002). Vanadium in ambient air: concentrations in lung tissue from autopsies of Mexico City residents in the 1960s and 1990s. *Arch. Environ. Health*, 57, 446-449.
- Fortoul, T. I., Rojas-Lemus, M., Rodriguez-Lara, V., González-Villalba, A., Ustarroz-Cano, M., Cano-Gutierrez, G., Gonzáles-Rendon S. E., Montañó, L. F.

y Altamirano-Lozano, M. (2014). Overview of environmental and occupational vanadium exposure and associated health outcomes: An article based on a presentation at the 8th International Symposium on Vanadium Chemistry, Biological Chemistry, and Toxicology, Washington DC, August 15–18, 2012, *Journal of Immunotoxicology*.

- French, R. J. y Jones J. H. (1993). Role of vanadium in nutrition: metabolism, essentiality and dietary considerations. *Lif. Sci.* 52, 339-346.
- Gândara, R., Soares, S., Martins, H., Gutiérrez-Merino, C. y Aureliano, M. (2005). Vanadate oligomers: In vivo effects in hepatic vanadium accumulation and stress markers. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99(5), 1238-1244.
- Gardner, P. J. y Holyoke, E. A. (1964). Fine structure of the seminiferous tubule of the Swiss mouse. I. The limiting membrane, sertoli cell, spermatogonia, and spermatocytes. *The Anatomical Record*, 150(4), 391-404.
- González-Bustamante L.O., Retana-Ugalde R, Roldán-Reyes E. Capacidad antioxidante, lipoperoxidación y calidad seminal de individuos jóvenes clínicamente sanos. *Revista Iberoamericana de Ciencias*. 2017; 4(4):63-70.
- Gutiérrez-Castillo M.E., Roubicek D.A., Cebrián-García M.E., De Vizcaya-Ruíz A., Sordo-Cedeño M. y Ostrosky-Wegman P. (2006). Effect of chemical composition on the induction DNA damage by airborne particulate matter. *Environ. Mol. Mutagen.* 47, 199-211.
- Harkness, J. E. y Wagner, J. E. (1989). The biology and medicine of rabbits and rodents. *Lean y Febiger*, London.
- Hartwig, A. (1995). Current aspects in metal genotoxicity. *Biometals*, 8(1).
- Hoo, S. y Bowles, C. (1971). An air-drying method for preparing metaphase chromosomes from the spermatogonial cells of rats and mice. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 13(1), 85-88.
- Huang, C., Zhang, Z., Ding, M., Li, J., Ye, J., Leonard, S.S., et al. (2000). Vanadate induces p53 transactivation through hydrogen peroxide and causes apoptosis. *J Biol Chem* 275:32516–32522.
- Huckins, C. (1971). The Spermatogonial Stem Cell Population In Adult Rats. *Cell Proliferation*, 4(4), 335-349.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2006). Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Cobalt in hard-metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide. Lyon, Vol. 86.

- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2006). Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Cobalt in hard-metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide, and vanadium pentoxide (p 86). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS). (1988). Vanadium. Environmental Health Criteria, World Health Organization, Ginebra, No. 81.
- International Program on Chemical Safety (IPCS). (2001). Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds, World Health Organization, Ginebra, No. 29.
- Imtiaz, M., Rizwan, M. S., Xiong, S., Li, H., Ashraf, M., Shahzad, S. M. y Tu, S. (2015). Vanadium, recent advancements and research prospects: A review. *Environment International*, 80, 79-88.
- Irene, O. B., Robert, T.A., Helen, A. V. y Derek R. L. (2004). Vanadium respiration by *Geobacter metallireducens*: novel strategy for in situ removal of vanadium from groundwater. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70 (5), pp. 3091-3095.
- Jain, G., Paraek, H., Sharma, S., Bhardwaj M. y Khajja B. (2007). Reproductive toxicity of vanadyl sulphate in male rats. *J. Health Sci*; 53:137-41.
- JoVE Science Education Database. BIOLOGY II: RATÓN, PEZ CEBRA Y POLLUELO. Una introducción para el ratón de laboratorio: *Mus musculus*. JoVE, Cambridge, MA. <https://www.jove.com/science-education-library/4/biology-ii-ratn-pez-cebra-y-polluelo?language=Spanish> (18/12/2018).
- Jomova, K., Jenisova, Z., Feszterova, M., Baros, S., Liska, J., Hudecova, D., Valko, M. (2011). Arsenic: Toxicity, oxidative stress and human disease. *Journal of Applied Toxicology*.
- Kerr, J. B. (1992) Functional cytology of the human testis. *Bailliere Clin Endocrinol Metab*, 6,235- 250.
- Kokkinaki, H. Z. M. y Dym, M. (2009). Signaling molecules and pathways regulating the fate of spermatogonial stem cells. *Microscopy Research and Technique*, 72(8), 586–595.
- Korbecki, J., Baranowska-Bosiacka, I. y Gutowska-Chlubek D. (2012) Biochemical and medical importance of vanadium compounds. *Acta Biochim Pol.*, 59, 195-200.
- Kordowiak, A. M. y Holko, P. (2009). Vanadium derivatives as compounds of high biological significance. Part I. Antidiabetic activity. *Postepy Biol. Komorki*, 36 (2009), pp. 361-376.

- Kothari S, Thompson. A, Agarwal. A. y Plessis. S. S. (2010). Free radicals: Their beneficial and detrimental effects on sperm function. *Indian Journal Experimental Biology*; 48(5):425-435.
- Lagerkvist, G. Nordberg, G.F. y Vouk, V. (1986). Vanadium. En: Handbook on the toxicology of metals. *Elsevier Science Publishing, Amsterdam*, Vol. II, pp. 638-663.
- Lehninger, A. L., Nelson D. L., Cox, M. M. y Cuchillo C. M. (2005). *Principios de bioquímica*. Barcelona: Ediciones Omega.
- Léonard, A. (1988). Mechanisms in metal genotoxicity: The significance of in vitro approaches. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 198(2), 321-326.
- Léonard, A. y Gerber, G. (1994). Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of vanadium compounds. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 317(1), 81-88.
- Leonard, S. S., Harris, G. K. y Shi, X. (2004). Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radic Biol Med*. 37:1921–1942.
- Lewin, B. (2002). *Genes: VII*. New York, Oxford University Press.
- Lindahl, T. y Wood, R. D. (1999). Quality control by DNA repair. *Science*. 1999;286(5446):1897–1905.
- Michibata, H. (2012) Vanadium: Biochemical and Molecular Biological Approaches, pp. 228.
- Migliore, L., Bocciardi, R., Macri, C. y Jacono, F.L. (1993). Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by four vanadium compounds and micronucleus analysis by fluorescence *in situ* hybridization with a centromeric probe. *Mutat Res* 319:205–213.
- Morrell, B. G., Lepp, N. W. y Phipps, D.A. (1986). Vanadium uptake by higher plants: some recent developments. *Environ. Geochem. Health*, 8, pp. 14-18.
- Moskalyk, R. y Alfantazi, A. (2003). Processing of vanadium: A review. *Minerals Engineering*, 16(9), 793-805.
- Mukherjee, B., Patra, B., Mahapatra, S., Banerjee, P., Tiwari, A. y Chatterjee, M. (2004). Vanadium—an element of atypical biological significance. *Toxicology Letters*, 150(2), 135-143.

- National Human Genome Research Institute. (2015). Anomalías cromosómicas. USA. <https://www.genome.gov/27562612/anomalias-cromosmicas/> (10/10/2018).
- National Toxicology Programm (NTP) (2002) "Technical report on the Toxicology and Carcinogenesis studies of vanadium pentoxide" (CAS NO. 1314-62-1) in F344/N rates and B6C3F1 mice (inhalation studies).
- Oakberg, E. F. (1971). Spermatogonial stem-cell renewal in the mouse. *The Anatomical Record*, 169(3), 515-531.
- Opinion of the Scientific Panel on Dietetic products, nutrition and allergies [NDA] related to the Tolerable Upper Intake Level of Vanadium. (2004). *EFSA Journal*, 2(3), 33.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (2016). Test No. 483: Mammalian Spermatogonial Chromosomal Aberration Test. *Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4*.
- OECD (2016). Overview of the set of OECD Genetic Toxicology Test Guidelines and updates performed in 2014-2015. ENV Publications. *Series on Testing and Assessment*, No. 234, OECD, Paris.
- Otubanjo, O. y Mosuro, A. (2001). An in vivo evaluation of induction of abnormal sperm morphology by some anthelmintic drugs in mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 497(1-2), 131-138.
- Palma, V., Tudón, H., Buentello, L., Nava, S., Ostrosky, P. y Salamanca, F. (1993). Methods for the analysis of cellular kinetics in PHA-stimulated blood lymphocytes using BrdU incorporation. A comparative study. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 286(2), 267-273.
- Parry E., Parry J., Corso C., Doherty A., Haddad F., Hermine T., Johnson G., Kayani M., Quick E., Warr T. y Williamson J. (2002) Detection and characterization of mechanisms of action of aneugenic chemicals. *Mutagenesis* 17:6, 509- 521.
- Pennington, J. A. T. y Jones, J.W. (1987). Molybdenum, nickel, cobalt, vanadium, and strontium in total diets. *Journal of the American Dietetic Association*, 87, 1644–1650.
- Pierce B. (2006) *Genética: Un enfoque conceptual*. Ed. Médica Panamericana. 2a Edición.

- Rehder, D. (2012). The potentiality of vanadium in medicinal applications. *Future Medicinal Chemistry*, 4 (14) (2012), pp. 1823-1837.
- Ringelband, U. y Hehl, U. (2000) Kinetics of vanadium bioaccumulation by the brackish water hydroid *Cordylophora caspia* (Pallas). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65, pp. 486-493.
- Roldán, E. y Altamirano, M. (1990). Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, cell-cycle kinetics and satellite association in human lymphocytes culture exposed to vanadium pentoxide. *Mutat. Res.* 245, 61-65.
- Roldán Reyes Elia (2016). *Introducción a la toxicología*. Ed. UNAM-FES-Zaragoza. ISBN: 978-607-02-8172-3.
- Rodríguez-Lara, V., Morales-Rivero, A., Rivera-Cambas, A. M. y Fortoul, T. I. (2013). Vanadium inhalation induces actin changes in mice testicular cells. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2), 367-374.
- Rodríguez-Mercado, J. J. y Altamirano-Lozano, M. A. (2006). Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 22, 173 – 189.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Alvarez-Barrera, L. y Altamirano-Lozano, M. A. (2010). Chromosomal damage induced by vanadium oxides in human peripheral lymphocytes. *Drug Chem Toxicol* 33:97-102.
- Rodríguez-Mercado, J., Mateos-Nava, R. y Altamirano-Lozano M. (2011). DNA damage induction in human cells exposed to vanadium oxides *in vitro*. *Toxicol in Vitro*. 25: 1996-2002.
- Savage, J. R., (2004). On the nature of visible chromosomal gaps and breaks. *Cytogen. Gen. Res.* 104,46-55.
- Schneider, L. E., Nakanishi, Y. y Sternberg, L. H. L. (1981) Simultaneous Examination of Sister Chromatid Exchanges and Cell Replication Kinetics in Tumor and Normal Cells *in Vivo*. *Cancer Research*, 41(12), 4973-4975.
- Scior, T., Guevara-Garcia, A., Bernard, P., Do, Q., Domeyer, D. y Laufer, S. (2005). Are Vanadium Compounds Drugable? Structures and Effects of Antidiabetic Vanadium Compounds: A Critical Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 5(11), 995-1008.
- Tagelenbosch, R. A. y Rooij, D. G. (1993). A quantitative study of spermatogonial multiplication and stem cell renewal in the C3H/101 F1 hybrid mouse. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 290(2), 193-200.

- Taylor, J. S. (1994). Unraveling the molecular pathway from sunlight to skin cancer. *Accounts of Chemical Research*. 27(3):76–82.
- Thompson, K. H. y Orvig, C. (2004). Vanadium compounds in the treatment of diabetes. *Metal Ions Biological. Systems*, 41, 221-252.
- Vilar-Rojas, C., Guzman-Grenfell., A. M. y Hicks., J. J. (1996). Participation of oxygen-free radicals in the oxidoreduction of proteins. *Archive Medical Research*, 27(1) 1-6.
- Wang, X. L., Rainwater, D. L., Vandeberg, J. F., Mitchell, B. D. y Mahaney, M. C. (2001). Genetic Contributions to Plasma Total Antioxidant Activity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21(7), 1190-1195.
- Woodin, M. A., Liu Y., Neuberg, D., Hauser, R., Smith, T. J. y Christiani D.C. (2000). Acute respiratory symptoms in workers exposed to vanadium-rich fuel-oil ash. *Am. J. Ind. Med.* 37, 353-363.
- World Health Organization (WHO) (2000). "Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds". Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) 29.
- World Health Organization (WHO) (2001). Air quality guidelines for Europe. Copenhagen, No. 91.
- World Health Organization (WHO) (2010). Laboratory manual for the examination and processing of human semen. Geneva: World health organization.
- Wyrobek, A. J. y Bruce, W. R. (1975). Chemical induction of sperm abnormalities in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(11), 4425-4429.
- Yang, X. (2003). Membrane transport of vanadium compounds and the interaction with the erythrocyte membrane. *Coordination Chemistry Reviews*, 237(1-2), 103-111.
- Ye, J., Ding, M., Leonard, S., Robinson, V.A., Millecchia, L., Zhang, X., et al. (1999). Vanadate induces apoptosis in epidermal JB6 P+ cells via hydrogen peroxide-mediated reactions. *Mol Cell Biochem* 202:9–17.
- Zaporowska, H. y Scibior, A. (1998). Vanadium and its significance in animal cell metabolism. In: Nriagu, JO (ed) Vanadium in the Environment. Health effects. Part 2. *Advances in Environmental Science and Technology*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, pp. 121–133.

- Zhang, Z., Leonard, S.S., Huang, C., Vallyathan, V., Castranova, V. y Shi, X. (2003). Role of reactive oxygen species and MAPKs in vanadate-induced G2/M phase arrest. *Free Radic Biol Med* 34:1333–1342.
- Zini, A. y Sigman, M. (2009). Are Tests of Sperm DNA Damage Clinically Useful? Pros and Cons. *Journal of Andrology*, 30(3), 219-229.
- Zhong, B.Z., Gu, Z.W., Wallace, W.E., Whong, W.Z. y Ong, T. (1994). Genotoxicity of vanadium pentoxide in Chinese hamster V79 cells. *Mutat Res* 321:35–42.

PARTICIPACIÓN ACADÉMICA

XXI FORO DE INVESTIGACIÓN ESCOLAR EN BIOLOGÍA FES ZARAGOZA, FEBRERO 2018. PRESENTACIÓN DE TRABAJO LIBRE (ORAL): ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN ESPERMATOGONIAS *IN VIVO* CAUSADAS POR VANADIO.

XXII SIMPOSIO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD EN LA UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITNANA UNIDAD IZTAPALAPA, OCTUBRE 2018. PRESENTACION TRABAJO LIBRE (CARTEL): EFECTOS DE CONTAMINANTE AMBIENTAL SOBRE LAS ESPERMATOGONIAS DE RATON Y CALIDAD SEMINAL.

14º CONGRESO DE INVESTIGACIÓN EN FES ZARAGOZA, SEPTIEMBRE 2018. PRESENTACIÓN TRABAJO LIBRE (CARTEL): EFECTOS DE CONTAMINANTE AMBIENTAL SOBRE LAS ESPERMATOGONIASDE RATON Y CALIDAD SEMINAL.

XVII CONGRESO LATINOAMERICANO DE GENÉTICA EN ALAG MENDOZA ARGENTINA 2019. PRESENTACIÓN TRABAJO LIBRE (CARTEL): EFECTOS DE LA INHALACIÓN DE VANADIO SOBRE LAS ESPERMATOGONIAS Y LA CALIDAD SEMINAL DE RATÓN *IN VIVO*.



**UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



Constancia

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través de la Unidad de
Formación Integral

A Aguilar Garcia Edwin Manuel, Toledo
Padilla David, Vargas Vega Alberto, Roldán
Reyes Elia.

Por su participación con el trabajo: Alteraciones cromosómicas
en espermatogonias in vivo causadas por vanadio; en el Marco
del XXI Foro de Investigación Escolar en Biología; organizado
del 31 de enero al 2 de febrero del año en curso.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad de México, febrero de 2018.

Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez
Director



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO



CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a *Elia Rodón Reyes, Edwin Manuel Aguilar García, Alberto Vargas Vega,
David Teodoro Padilla*

Por la presentación del Trabajo en Cartel: Efectos de Contaminante Ambiental sobre las Espermatogonias de Ratón y la Calidad Seminal, dentro del 14° Congreso de Investigación, el día 20 de septiembre del año en curso, organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación de esta Facultad.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, a 30 de noviembre de 2018.



Dr. Vicente Jesús Hernández Abad
Director





LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
y
EL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD



Otorgan la presente

Constancia

a:

Aguilar Garcia Edwin Manuel, Roldán Reyes Elia

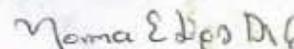
Por la presentación del trabajo:

**"EFECTOS DE CONTAMINANTE AMBIENTAL SOBRE LAS ESPERMATOGONIAS DE RATÓN
Y LA CALIDAD SEMINAL"**

en el XXIII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud

22 al 26 de Octubre de 2018
Sala Cuicacalli


Dr. José Luis Gómez Olivares
Jefe del Dpto. de Ciencias de la Salud


Dra. Norma Edith López Díaz-Guerrero
Coordinadora


Dra. Elsa Cervantes Ríos
Coordinadora

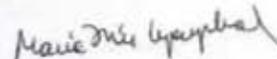


CERTIFICO que el trabajo:

**EFFECTOS DE LA INHALACIÓN DE VANADIO SOBRE LAS
ESPERMATOGONIAS Y CALIDAD SEMINAL DE RATÓN IN
VIVO.** Roldán E.¹, E. Aguilar¹, ¹MÉXICO, UNAM. FES Zaragoza.

ha sido aceptado para ser presentado en la Sección de Comunicaciones Libres "Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental" que tendrá lugar durante el desarrollo del XVII Congreso Latinoamericano de Genética, XLVII Congreso Argentino de Genética, LII Reunión Anual de la Sociedad de Genética de Chile, VI Congreso de la Sociedad Uruguaya de Genética, V Congreso Latinoamericano de Genética Humana y V Simposio Latinoamericano de Citogenética y Evolución (ALAG/2019), a realizarse en la ciudad de Mendoza del 6 al 9 de octubre de 2019.

Buenos Aires, 12 de julio de 2019.



Dra. María Inés Oyarzabal
Presidente ALAG