



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

## LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

“EFECTO DE LA INHALACIÓN DE PENTÓXIDO DE VANADIO SOBRE LA ACTIVIDAD MOTORA DE RATAS”

# TESIS

Que para obtener el título de:

**BIOLOGO**

Presenta:

**OSCAR ALEXIS MEJÍA GARCÍA**

Directora de tesis:

**DRA. MARÍA ROSA AVILA COSTA**



Los reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México, 2020



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.

## AGRADECMIENTOS

### **A la UNAM y a la FES**

Comenzaré agradeciendo a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, así como a todos los docentes que me brindaron su conocimiento para lograr mi desarrollo académico.

### **A la Dra. María Rosa Avila-Costa**

Muchas gracias por brindarme tu conocimiento, tus correcciones, tus opiniones y por darme la confianza y oportunidad para realizar este trabajo. También quiero agradecerte todas tus pláticas y experiencias que me siguen inspirando a nunca darme por vencido y seguir el camino de la investigación. Y por último quiero agradecerte por todo el apoyo que me has dado emocionalmente en ciertos problemas personales.

### **A mis sinodales**

Quiero agradecer a la Dra. María Rosa Avila-Costa, al Dr. José Luis Ordoñez-Librado, a la Dra. Verónica Anaya-Martínez, al M. en C. Enrique Montiel y al M. en C. Alfonso Reyes Olivera por su tiempo, correcciones y comentarios valiosos, en la realización de este trabajo.

### **Al Laboratorio de Neuromorfología**

A todos aquellos que hacen del laboratorio un lugar ideal para aprender, trabajar, participar y convivir. Gracias a todos los buenos amigos que conocí aquí: María Rosa, Enrique, Ana, José Luis, Chucho, Paty, Vero, Lichita, Alan, y Joshua.

### **A mis papás**

Gracias, por siempre estar al pendiente de mí, por todo su apoyo y amor incondicional, por todos los valores que me han enseñado y por ser un ejemplo para mí. De no ser por ustedes no hubiera podido lograr mi sueño de ser Biólogo y gracias por impulsarme a seguir creciendo tanto profesionalmente como personalmente.

A mi mamá, Ana Elena. Gracias por tu conocimiento, por tus consejos, por siempre darme ánimos, por todos tus cuidados, por tu confianza, por siempre darte tiempo para escucharme y por todo el cariño que me has dado.

A mi papá, Francisco Javier. Gracias por tu dedicación, por nunca darte por vencido, por tus enseñanzas, por tus consejos y por siempre sonreír y dar tu cariño a pesar de cualquier cosa.

### **A mis hermanos**

Christopher y Anahí, gracias, hermanos por siempre estar conmigo en cualquier circunstancia, gracias por sus pláticas, consejos y todo su cariño. También por todo ese ánimo que me dieron para seguir siempre hacia adelante.

### **A toda mi familia**

Gracias a mis abuelitos, mis tíos y primos por todo el apoyo, consejos y su confianza.

### **A mi novia y mejor amiga**

Gracias Mariana, por apoyarme desde el primer semestre y hasta el final de la carrera. Por siempre estar conmigo en cualquier circunstancia, por escucharme, por tus consejos, por hacerme una mejor persona y por todas las experiencias que compartimos durante nuestro desarrollo como Biólogos y personalmente. De igual manera, muchas gracias por tu ayuda en este proyecto.

### **A mis amigos**

A todas las personas que conocí durante la carrera, principalmente a mis compañeros de clase y amigos, con los que crecí y me desarrollé académicamente a lo largo de la carrera, brindándonos ánimos, apoyo, conocimientos. Gracias por esas pláticas, experiencias, viajes, diversión y muchas más cosas. Un agradecimiento especial a Mariana Rodríguez, Christian Aguilera, Karina Ramírez, Frida Sánchez, Fernando Lomelí, y Jesús Miranda por haber sido grandes amigos y biólogos durante la carrera.

## ABSTRACT

Vanadium (V) is a transition metal present in the environment in several oxidation states. It is found in around 50 different minerals, in oil and its derivatives. People are daily exposed to low levels of V in food and water, however, the inhaled way is the main route of exposure, since V is emitted into the atmosphere after the burning of fossil fuels. Several studies have shown that V causes alterations in biological systems due to its toxic potential, since it has an oxidative capacity and generates oxidative stress, lipid peroxidation, as well as alterations in different signaling pathways, leading to cell damage and death, being vanadium pentoxide ( $V_2O_5$ ) the most toxic compound. Studies have shown that V causes alterations in the Central Nervous System. Alterations in motor activity and learning were found in rats exposed to sodium metavanadate orally; A decrease of the number of dendritic spines and necrotic cell death in the hippocampus, as well as, alterations in the morphology of striatum cells was observed in mice exposed to inhaled  $V_2O_5$ . Therefore, in this work it was considered important to evaluate the  $V_2O_5$  inhalation effect causes on motor activity and cytology of the primary motor cortex of exposed rats. The rats inhaled  $V_2O_5$  [0.02 M] 1 h, three times a week for six months. Our results show that there are no obvious alterations in motor activity, although, there is significant loss of dendritic spines in the pyramidal neurons of layer V of the primary motor cortex in exposed group to  $V_2O_5$  (mean=4.1), compared to the control group (mean=8.1). We conclude that  $V_2O_5$  causes neuronal damage in the motor cortex of exposed rats, which could alter motor activity.

## RESUMEN

El vanadio (V) es un metal de transición presente en el ambiente en varios estados de oxidación. Se encuentra en alrededor de 50 minerales diferentes, en el petróleo y sus derivados. La población se encuentra diariamente expuesta a bajos niveles de V en comida y agua, sin embargo, la vía inhalada es la principal ruta de exposición, ya que el V es emitido a la atmósfera tras la quema de combustibles fósiles. Diversos estudios han demostrado que el V causa alteraciones en los sistemas biológicos debido a su potencial tóxico ya que tiene capacidad oxidante y genera estrés oxidativo, peroxidación de lípidos, así como alteraciones en diferentes vías de señalización, lo que lleva al daño y muerte celular, siendo el pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ ) el compuesto más tóxico. Diversos estudios han mostrado que el V causa alteraciones en el Sistema Nervioso Central. En ratas expuestas a metavanadato de sodio vía oral, se encontraron alteraciones en la actividad motora y aprendizaje; en ratones expuestos a  $V_2O_5$  vía inhalada, se observó disminución en el número de espinas dendríticas y muerte neuronal por necrosis en el hipocampo, así como alteraciones en la morfología de las células del estriado. Por ello, en este trabajo se consideró importante evaluar el efecto que provoca la inhalación de  $V_2O_5$  en la actividad motora y citología de la corteza motora primaria de ratas expuestas. Las ratas inhalaron  $V_2O_5$  [0.02M] 1h tres veces por semana durante seis meses. Nuestros resultados muestran que no hay alteraciones evidentes en la actividad motora, aunque sí hay pérdida significativa de espinas dendríticas en las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora primaria del grupo expuesto a  $V_2O_5$  (media= 4.1), en comparación con el grupo control (media= 8). Concluimos que el  $V_2O_5$  provoca daño neuronal en la corteza motora de ratas expuestas, lo que podría alterar la actividad motora.

## ABREVIATURAS

<b>Cisteína</b>	<b>Cys</b>
<b>Densidad espinosa</b>	<b>DE</b>
<b>Espinas Dendríticas</b>	<b>ED</b>
<b>Especies reactivas de oxígeno</b>	<b>EROs</b>
<b>Enfermedad de Alzheimer</b>	<b>EA</b>
<b>Enfermedad de Huntington</b>	<b>EH</b>
<b>Enfermedad de Parkinson</b>	<b>EP</b>
<b>Ion vanadato</b>	<b>VO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>
<b>Ion vanadilo</b>	<b>VO<sup>2+</sup></b>
<b>Metavanadato de sodio</b>	<b>NaVO<sub>3</sub></b>
<b>Pentóxido de vanado</b>	<b>V<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>
<b>Sistema Nervioso Central</b>	<b>SNC</b>
<b>Vanadio</b>	<b>V</b>

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Vanadio .....	1
1.1.1 Historia del Vanadio.....	1
1.1.2 Distribución del Vanadio .....	2
1.1.3 Usos del Vanadio.....	3
1.1.4 Vanadio en la atmósfera .....	3
1.1.5 Pentóxido de Vanadio .....	4
1.1.6 Exposición a Vanadio.....	4
1.1.7 Toxicocinética.....	5
1.1.8 Toxicidad del Vanadio .....	6
1.2 Sistema motor .....	10
1.2.1 Corteza motora .....	10
1.2.2 Alteraciones de la función motora en enfermedades neurodegenerativas .....	11
1.2.3 Espinas dendríticas.....	12
2. JUSTIFICACIÓN.....	14
3. HIPÓTESIS .....	14
4. OBJETIVO GENERAL.....	14
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES .....	14
5. MÉTODO.....	15
5.1 INHALACIÓN .....	15
5.2 PRUEBA DE LA VIGA DE EQUILIBRIO .....	16
5.3 SACRIFICIO DE LAS RATAS .....	17
5.4 TINCIÓN DE GOLGI .....	18
5.5 CONTEO DE ESPINAS DENDRÍTICAS .....	18
6. RESULTADOS .....	20
ACTIVIDAD MOTORA.....	20
ANÁLISIS CITOLÓGICO .....	21
7. DISCUSIÓN.....	23
ACTIVIDAD MOTORA.....	23
ALTERACION EN LAS ESPINAS DENDRITICAS.....	24
8. CONCLUSIONES .....	26
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27



# 1. INTRODUCCIÓN.

## 1.1 Vanadio

El Vanadio (V) es un metal de transición con símbolo V, su número atómico es 23, peso atómico 50.954 y es miembro del Grupo 5B de la tabla periódica. Posee seis estados de oxidación que van desde el -1 hasta el +5, de los cuales únicamente los estados +3, +4 y +5 tienen importancia biológica. Es un elemento esencial para algunas bacterias, algas marinas, líquenes y hongos (Assem y Oskarsson, 2015); se ha reportado que en mamíferos es un elemento ultra traza que participa en el crecimiento celular normal, sin embargo, su desempeño funcional no ha sido establecido con claridad, además es tóxico en altas concentraciones (Ngwa *et al.*, 2017). En su forma pura, es un metal blanco brillante que es suave y dúctil, no obstante, ni el V elemental ni sus compuestos se encuentran de forma pura en la naturaleza (Chasteen, 1984). Se disuelve ligeramente en agua para formar soluciones ácidas y reacciona con bases para formar vanadatos (International program on chemical safety (IPCS), 1990). Por lo general se combina con otros elementos como oxígeno, sodio, azufre o cloro (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012<sup>a</sup>).

### 1.1.1 Historia del Vanadio.

El V fue descubierto en 1801 por el mineralogista hispano-mexicano Andrés Manuel Del Río en Zimapán, México a partir del mineral de plomo pardo (conocido hoy como vanadinita) llamado “pancromio”, un nombre referido a la variedad de colores que el vanadio despliega cuando pasa por sus diversos estados de oxidación. Del Río lo renombró “eritonio”, debido al color rojo de sus componentes. Desafortunadamente, poco después de su descubrimiento, Del Río quedó convencido de que había hallado una forma ordinaria del cromo. Años después, en 1831, el químico sueco Nils Gabriel Sefström, redescubrió el elemento en la mina Falun, al sur de Suecia y lo nombró “Vanadín”, en honor a Vanadis, la diosa de la belleza de los antiguos arios. En ese mismo año, el químico alemán Friedrich Wöhler estableció la identidad del eritonio como vanadio. Del Río, quien ahora vivía en Estados Unidos, escuchó acerca del trabajo de Sefström, por lo que abogó por el reconocimiento de su descubrimiento; se hicieron sugerencias provenientes del nuevo continente para que se cambiara el nombre de “vanadio” a “zimapanio”, sin embargo, los monopolistas europeos de aquella época no solían dar el mérito a los descubrimientos efectuados en el continente

americano. Finalmente, a pesar de que algunas comunidades científicas suecas y alemanas pensaron en reconsiderar la situación, el resto de la comunidad científica no lo consideró importante, por lo tanto, V, es el nombre que se le ha dado a este elemento hasta la fecha (Guevara, 1996; Marshall y Marshall, 2004<sup>a</sup>; Marshall y Marshall, 2004<sup>b</sup>).

### 1.1.2 Distribución del Vanadio

Es el 22° elemento más abundante en la corteza terrestre, está ampliamente distribuido en rocas, suelo, plantas y animales. La concentración de V en agua dulce raramente alcanza 0.1 ppb, mientras que la concentración en agua salada es cerca de 0.0025 ppm (Chasteen, 1984). En la biosfera se encuentra en mayor proporción en la flora y fauna marina, aunque está presente en todos los tejidos de mamíferos en concentraciones aproximadas de 0.01 ppm, mientras que, en frutas, vegetales y granos, se encuentra en un rango de 0.1 a 5 ppm (Chasteen, 1984). En la litósfera ha sido encontrado en niveles de hasta 150 ppm en rocas basálticas e ígneas y forma parte de aproximadamente 50 minerales diferentes, incluidos carnotita, patronita, roscoleita y vanadita (ATSDR, 2012<sup>b</sup>). Los países que extraen mayores cantidades de V son Sudáfrica (42.2 %), Rusia (39.2 %) y China (12.7 %) (García, 2006). Los compuestos de V de mayor importancia fisiológica son el metavanadato de amonio ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ), metavanadato de sodio ( $\text{NaVO}_3$ ), ortovanadato de sodio ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ) y pentóxido de vanadio ( $\text{V}_2\text{O}_5$ ), siendo este último el compuesto más común y usado (Mukherjee *et al*, 2004; Imtiaz, *et al*, 2015). También, el V se encuentra naturalmente en los combustibles derivados del petróleo (Grayson, 1983; García, 2006; Amorim *et al.*, 2007). En muestras de petróleo se ha encontrado como el metal traza más abundante en cantidades que varían de 1 a 1500 ppm (Nriagu y Pirrone, 1998; Amorim *et al.*, 2007). Altos niveles de V (hasta 50%), se encuentran en los depósitos de gases de combustión del petróleo de Irak, Irán, Venezuela y México (Nriagu y Pirrone, 1998).

### 1.1.3 Usos del Vanadio

El V es utilizado ampliamente en procesos industriales, pero, principalmente en la industria metalúrgica para la producción de resortes y acero para herramientas de alta velocidad resistentes a la corrosión; también se usa para formar aleaciones no ferrosas, las cuales son utilizadas en tecnología espacial y en la industria de energía atómica. La adición de compuestos de V mejora la dureza, maleabilidad y resistencia del acero (Barceloux, 1999; García, 2006). En menor cantidad, el V se usa en la fabricación de plásticos, pinturas, cerámicas, reveladores fotográficos, caucho y en la producción de imanes superconductores, siendo el  $V_2O_5$ , el compuesto más utilizado (Niño-Cabrera, 2005). También, el  $V_2O_5$  se utiliza como catalizador para la producción de ácido sulfúrico (Barceloux, 1999). Debido a su amplio uso en procesos industriales, y por la liberación de este metal tras la quema de combustibles fósiles la concentración de V se incrementa cada día en la atmósfera (Guevara, 1996; Pyrzynska y Wierzbicki, 2004).

### 1.1.4 Vanadio en la atmósfera

El V es emitido a la atmósfera durante la quema de combustibles fósiles, carbón y aceites pesados utilizados para la generación de electricidad y calor, así como por gases del escape de automóviles (Barceloux, 1999; Fatola *et al.*, 2018) En las áreas rurales ( $0.4-500 \text{ ng/m}^3$ ) el nivel de V en el aire es mucho menor que en áreas urbanas, así, en grandes ciudades, hay niveles de  $20$  a  $1230 \text{ ng/m}^3$  de V en el aire, siendo las industrias siderúrgicas y refinerías petroleras las principales fuentes emisoras (IPCS, 1990; Pyrzynska y Wierzbicki, 2004; ATSDR, 2012<sup>b</sup>). Además, se estima que cerca de  $8.4$  toneladas (tn) de V son emitidas anualmente por actividades naturales (ej. emisiones volcánicas), mientras que  $64,000$  tn por la quema de combustibles fósiles, proveniente de actividades antropogénicas (World Health Organisation (WHO), 2001; García, 2006). Se ha calculado que las cenizas de la combustión del petróleo contienen cerca de un  $80 \%$  de  $V_2O_5$  (Wenning y Kirsch, 1988). Por lo tanto, el  $V_2O_5$  es un compuesto al que la población está expuesta constantemente, principalmente en zonas urbanas y sus niveles en la atmósfera van aumentando cada año. Un estudio realizado en México demostró que las concentraciones de V en pulmón incrementaron de  $1.04 \text{ } \mu\text{g/g}$  peso en seco en la década de los sesenta a  $1.36$  en los años noventa, insinuando un incremento en la concentración de V en el aire, debido posiblemente al elevado número de vehículos con motores de combustión interna (Fortoul *et al.*, 2002).

#### 1.1.5 Pentóxido de Vanadio

El  $V_2O_5$  es el compuesto de V más común y utilizado en las industrias (Imtiaz, *et al*, 2015). En este compuesto, el V se encuentra en estado de oxidación +5, por lo tanto, es muy reactivo (WHO, 2001). Es un polvo cristalino de color amarillento a marrón que es poco soluble en agua (Barceloux, 1990). Durante la quema de combustibles fósiles, se forman residuos sólidos de V, los cuales contienen de 12 a 24% de  $V_2O_5$ , de igual manera, este compuesto es liberado al ambiente mediante las cenizas derivadas de la combustión. (WHO, 2001). Debido a que el V es un compuesto ampliamente usado por las industrias y, por lo tanto, liberado constantemente a la atmósfera, los estudios sobre su papel biológico han ganado mucha importancia en los últimos años debido a su potencial tóxico, mutagénico y genotóxico (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). El  $V_2O_5$  ha sido empleado en diversos estudios en animales, en los cuales se han evaluado los efectos que puede producir en los diferentes sistemas biológicos.

#### 1.1.6 Exposición a Vanadio

Para los humanos, la principal fuente de exposición al V es la contaminación atmosférica producida por la quema de combustibles; diariamente, la población adquiere alrededor de 1  $\mu\text{g}$  de V proveniente del aire (García, 2006). Además, se consumen de 11 a 30  $\mu\text{g}$  este elemento en alimentos como carnes, leguminosas, cereales, hígado, pescado, espinacas, hongos, ostras y calamares. El agua proporciona de 1 a 30  $\mu\text{g}/\text{L}$  (Myron *et al.*, 1977; WHO, 1990). Se estima que, en total, el consumo diario es entre 10 y 70  $\mu\text{g}/\text{día}$  (Nielsen y Sandstead, 1974). Así mismo, el V se encuentra en los cigarros, en concentraciones de 1.1  $\mu\text{g}/\text{g}$ , y el humo del tabaco contiene de 1 a 8 ppm de V, por lo que el cigarro también se convierte en una importante fuente de exposición al V (Byrne y Kosta, 1978; WHO, 2001). La población más propensa a exponerse a este metal, son los trabajadores de industrias, tanto en las que usan V, como en las que lo producen, ya que están constantemente expuestos a partículas y humo que contiene  $V_2O_5$ , absorbiendo así, mayor cantidad de este metal en su organismo (Barceloux, 1999).

### 1.1.7 Toxicocinética

#### 1.1.7.1 Absorción.

La absorción de los compuestos de V depende de su solubilidad y ruta de exposición. La vía inhalada es la principal ruta de exposición, debido a que el  $V_2O_5$  se absorbe a través de los alveolos pulmonares y pasan al sistema circulatorio (Niño-Cabrera, 2005). Por vía oral, solamente el 10% del V ingerido es absorbido desde el tracto gastrointestinal (Mukherjee *et al*, 2004).

Las especies de V que predominan en condiciones fisiológicas son los iones vanadato ( $VO_4^{3-}$ ) y vanadilo ( $VO^{2+}$ ) (Guevara, 1996). Los iones  $VO_4^{3-}$  (forma pentavalente) son más comunes en fluidos extracelulares alcalinos, mientras que, los iones  $VO^{2+}$  (forma tetravalente) predominan intracelularmente en soluciones ácidas (Barceloux, 1999). La coexistencia de estas especies depende del pH, potencial redox y la fuerza iónica del sistema. Además, son los compuestos más estudiados, ya que ambos son capaces de reaccionar con la maquinaria genética de la célula: pueden interactuar con grupos fosfatos, inhibiendo o estimulando algunas enzimas (Pyrzynska y Wierzbicki, 2004). En la forma aniónica el  $VO_4^{3-}$  es absorbido cinco veces más que en la forma  $VO^{2+}$ , a través de un sistema de transporte aniónico (Hirano y Suzuki, 1996). Una vez que entra al sistema circulatorio, el  $VO_4^{3-}$  es reducido a  $VO^{2+}$  por la NADH reductasa y por antioxidantes no enzimáticos, aunque también se encuentra  $VO_4^{3-}$  en la sangre (Sharma *et al*, 1986; Mukherjee *et al*, 2004). Sólo una pequeña parte (0.1-2%) del V ingerido es absorbido (IPCS, 1990). En humanos y animales la absorción cutánea no es significativa (García, 2006).

#### 1.1.7.2 Distribución

Dentro del sistema circulatorio, la distribución del V es rápida, tanto  $VO_4^{3-}$  como  $VO^{2+}$ , se unen a transferrina y en menor grado a albumina, las cuales transportan estos iones a distintos tejidos, siendo el hígado, pulmones y riñones los órganos principales en acumular V (Cortizo *et al.*, 1982; Svodova *et al.*, 1984; Fantus *et al*, 1995; Barceloux, 1999). También se ha reportado acumulación de V en testículos de ratas que inhalaban  $V_2O_5$  por 1- 12 semanas (Fortoul,*et al.* 2007). Únicamente el 5% del V que entra al organismo es transportado hacia el cerebro (Barceloux, 1999).

### 1.1.7.3 Eliminación

La eliminación del V es relativamente rápida, debido a que la mayor parte del V ingerido es eliminado a través de la orina, bilis y finalmente por las heces. Tiene una vida media de 20 a 40 h en la orina (Barceloux, 1999).

### 1.1.8 Toxicidad del Vanadio

El V entra a las células como  $\text{VO}_4^{3-}$  por un sistema de transporte aniónico, mientras que como  $\text{VO}^{2+}$  por difusión pasiva y endocitosis unido a transferrina (Yang *et al.*, 2003). El V tiene la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica induciendo cambios neuroquímicos en las células del sistema nervioso (Wikowska y Brzezinski, 1979; Folarin *et al.*, 2017). Una vez dentro de la célula la forma pentavalente es reducida por el glutatión a la forma tetravalente con su subsecuente generación de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Barceloux, 1999; Fatola *et al.*, 2018), mientras que el  $\text{VO}^{2+}$  es oxidado por  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{VO}_4^{3-}$  en una reacción tipo Fenton con su concomitante producción de radicales hidroxilo (Capella *et al.*, 2002; Valko *et al.*, 2005; Olopade y Connor, 2011). El incremento en la concentración citoplasmática de  $\text{VO}_4^{3-}$  provoca estrés oxidativo con sus efectos nocivos sobre lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Fatola *et al.*, 2018). También se ha reportado que el  $\text{VO}^{2+}$  puede sufrir oxidación espontánea a  $\text{VO}_4^{3-}$  intracelularmente (Li *et al.*, 1996).

Las especies de  $\text{VO}_4^{3-}$  tienen carga y estructura similar a los fosfatos, lo cual le permite tener cierta afinidad por algunas enzimas (Chasteen, 1984; Shaver *et al.*, 1995; Pyrzynska y Wierzbicki, 2004). Mientras que las especies de  $\text{VO}^{2+}$  se comportan como un típico ion de metal de transición, el cual compite con otros compuestos y ligandos biogénicos (Pyrzynska y Wierzbicki, 2004). Se ha reportado que el  $\text{VO}_4^{3-}$  es un fuerte inhibidor de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa, mientras que el  $\text{VO}^{2+}$  parece ser un inhibidor más débil (Patel *et al.*, 1990). Además, estos compuestos también impiden la activación de diferentes ATPasas (Sabbioni *et al.*, 1991), proteínas cinasas (Bollen *et al.*, 1990), ribonucleasas (Lau *et al.*, 1993) y fosfatasas, incluidas las proteínas tirosina fosfatasas (PTPs) (Chasteen, 1984; Tracey, 2000). El  $\text{VO}_4^{3-}$  actúa uniéndose a los residuos de cisteína de las proteínas inactivándolas de manera reversible, además, la unión  $\text{VO}_4^{3-}$ -proteína puede reaccionar posteriormente con  $\text{H}_2\text{O}_2$  para formar iones pervanadato que, a su vez, pueden oxidar directamente los residuos de cisteína (Cys) inactivando enzimas de manera irreversible. Estos residuos de Cys están presentes en

los sitios activos de algunas enzimas, por lo que su oxidación resulta en la inactivación de la enzima (Crans *et al.*, 2004; Fatola *et al.*, 2018).

El estrés oxidativo provocado por este metal también disminuye la síntesis de lípidos y provoca lipoperoxidación (Snyder y Cornatzer, 1958; García *et al.*, 2004). El V no sólo produce EROs, sino que también disminuye el nivel de antioxidantes intracelulares como el glutatión reducido (GSH), glutatión peroxidasa y glutatión-S-transferasa (Folarín *et al.*, 2018).

La interacción de los compuestos de V con estas moléculas trae como consecuencia profundos efectos en las cascadas de señalización intracelular implicadas en la supervivencia de la célula o a respuestas apoptóticas (Kummer *et al.*, 1997; Ngwa, 2017), que podrían alterar los niveles de fosforilación intracelular, o incluso causar muerte celular por apoptosis. (Morinville *et al.*, 1998). También se ha reportado muerte por necrosis en la región CA1 del hipocampo en ratones expuestos a V (Avila-Costa *et al.*, 2006).

La toxicidad del V se presenta principalmente por su estado de oxidación y va en aumento conforme se incrementa dicho estado. Así, el  $V_2O_5$  es la forma más tóxica (Barceloux, 1999; Ngwa *et al.*, 2017). Esta característica le permite al V participar en diferentes reacciones dentro de la célula que alteran su fisiología como: formación de radicales libres (Crans *et al.*, 2004), inhibición de diferentes enzimas, modificando las vías de señalización intracelular, lo cual puede ocasionar la muerte de la célula. Se ha reportado que el vanadio es más tóxico cuando se inhala que cuando es ingerido (Pyrzynska y Wierzbicki, 2004).

En animales, los efectos tóxicos del V son varios: cambios hematológicos y bioquímicos, pérdida de masa corporal, hepatotoxicidad, disturbios nerviosos, parálisis de los miembros, falla respiratoria, convulsiones, deposiciones sanguinolentas y muerte (Sánchez *et al.*, 1998; Barth *et al.*, 2002).

En humanos, la exposición al V provoca náusea, irritación de ojos, piel y del tracto respiratorio superior con sangrado nasal, tos, rinitis, conjuntivitis, diarrea y dolor de garganta (Barceloux, 1999). También se han reportado casos de exposición aguda a V con secuelas de anemia, debilidad, vómitos, anorexia, náuseas, dolor de cabeza, mareos, dermatitis, coloración verdosa en la lengua, leucopenia y niveles bajos de colesterol (Friberg *et al.*,

1986). Los efectos leves son sibilancias, estornudos, rinitis, dolor de garganta, tos seca, dolor de pecho, dolor de cabeza y conjuntivitis (Assem y Oskarsson, 2015).

La población expuesta ocupacionalmente al V, son más propensos a inhalar los vapores de  $V_2O_5$  y sufrir alteraciones importantes en diferentes sistemas biológicos, como el sistema nervioso central (SNC) (Barceloux, 1999; WHO, 2001). Estudios han reportado que la exposición laboral a V resultó en deterioro neuro-conductual, disminuyendo las habilidades visuo-espaciales y de atención (Barth *et al.*, 2002). Trabajadores de calderas expuestos a  $0.05-5.3 \text{ mg/m}^3 V_2O_5$ , por alrededor de 10 h/día, 6 días/semana, por 4-6 semanas durante la conversión de una planta de energía de petróleo a carbón, presentaron problemas respiratorios: tos con esputo, dolor de garganta, dolor de pecho, dolor de cabeza, secreción nasal, sibilancias, estornudos e irritación ocular. Setenta de cien trabajadores fueron diagnosticados con bronquitis (Roshchin *et al.*, 1980).

Debido a la gran capacidad del V para generar estrés oxidativo, lipoperoxidación, inhibir diferentes enzimas, así como disminuir los niveles de antioxidantes se le considera como un potente neurotóxico (Fatola *et al.*, 2018). La toxicidad de los compuestos de V ha sido bien documentada en la literatura. Se ha reportado que la exposición ocupacional de trabajadores en industrias que utilizan V, así como la contaminación ambiental producida por la quema de combustibles fósiles y escapes industriales fungen como las principales fuentes de toxicidad y un probable factor predisponente en la etiopatogenia de enfermedades neurodegenerativas (Fatola *et al.*, 2018).

#### 1.1.8.1 Neurotoxicidad del Vanadio

Se han realizado diversos estudios sobre el papel del V en el SNC, en los cuales han reportado alteraciones tanto en el comportamiento como en la citología. Se demostró que la exposición al V en humanos induce déficits motores y neuroconductuales (Li *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2016; Ngwa *et al.*, 2017). Además, niveles elevados de V en tejidos se han asociado con enfermedades maniacodepresivas (Naylor, 1983). También se reportó la presencia de V en el cabello de pacientes que padecen manías (Naylor *et al.*, 1984; Sánchez *et al.*, 1998).

Los estudios en animales son muy variados y han demostrado alteraciones en el SNC por exposición a V; Sasi y cols. en 1994, reportaron que se alteró el metabolismo de los lípidos

y la concentración de proteínas en el mesencéfalo, cerebelo, cuerpo estriado y corteza cerebral de ratas expuestas a  $\text{NaVO}_3$ . Sánchez y colaboradores, en 1998 reportaron que hubo disminución significativa, tanto en la actividad motora como en el aprendizaje y memoria de ratas expuestas por dos meses a  $\text{NaVO}_3$ . En ese mismo año, Haider y cols. mostraron incremento de la peroxidación lipídica después de la administración intraperitoneal (i.p) de V en ratas. Más recientemente se reportó que la exposición a  $\text{NaVO}_3$ , resultó en la desmielinización del cerebelo y el cuerpo calloso de ratones lactantes (Mustapha *et al.*, 2014). Folarin y cols. en 2016 demostraron que hay disminución significativa de la memoria en ratas expuestas a  $\text{NaVO}_3$  durante 3 a 12 meses, utilizando el laberinto de agua de Morris. Un trabajo realizado por los mismos autores mostró aumento en los niveles de EROs, así como disminución en la concentración de antioxidantes en el cerebro de ratones expuestos a V por vía i.p. (Folarín *et al.*, 2018).

Debido a que la exposición ambiental al V es más probable que ocurra por vía inhalada, los modelos experimentales por exposición intranasal son los más utilizados para imitar la exposición ambiental (Fatola *et al.*, 2018). En nuestro laboratorio se implementó un modelo de inhalación de  $\text{V}_2\text{O}_5$  donde se reportó pérdida de neuronas dopaminérgicas en la *sustancia nigra*, así como disminución de espinas dendríticas de las neuronas espinosas medianas del cuerpo estriado en ratones expuestos (Avila-Costa *et al.*, 2004). Usando el mismo modelo, también se reportó disminución en la densidad espinosa (DE) de las células granulares y muerte celular apoptótica en el bulbo olfatorio de ratones expuestos (Avila-Costa *et al.*, 2007). Además, la inhalación de dicho compuesto produjo muerte celular necrótica, pérdida de espinas dendríticas (ED) y alteraciones del neuropilo del hipocampo, lo que resultó en el deterioro de la memoria espacial (Avila-Costa *et al.*, 2006). Más recientemente, Colín-Barenque y cols., en 2014, observaron pérdida de ED y disminución del tamaño del soma en células granulares del bulbo olfatorio.

En resumen, estos trabajos muestran la vulnerabilidad de ciertas regiones del cerebro a sufrir alteraciones a causa del V y su capacidad de alterar la maquinaria intracelular que, a su vez, produce citotoxicidad y como consecuencia, alteraciones funcionales. Por ello, en este trabajo se consideró importante evaluar el efecto del V en el sistema motor, ya que hay pocos trabajos que aborden este tema.

## 1.2 Sistema motor

El sistema motor está dispuesto como una jerarquía de niveles de control. El nivel más alto, representado por las áreas de asociación de la corteza motora y los ganglios basales, tienen que ver con el objetivo y la estrategia motora que mejor logra el movimiento deseado. El nivel medio, representado por la corteza motora y el cerebelo, tiene que ver con las tácticas: las secuencias de contracciones musculares, en el espacio y tiempo, necesarios para lograr el objetivo estratégico sin problemas y con precisión. El nivel más bajo, representado por el tronco encefálico y la médula espinal, tiene que ver con la ejecución: la activación de las neuronas motoras inferiores y los grupos de interneuronas que generan el movimiento dirigido hacia el objetivo y realizan los ajustes necesarios de la postura (Purves *et al.*, 2008). Entonces, para generar movimiento se inicia desde la corteza cerebral, la cual tiene información, basada en la visión, audición, sensación somática y propiocepción, acerca de dónde se encuentra el cuerpo en el espacio (Purves *et al.*, 2008). Para ello se crean alternativas de movimiento que se filtran a través de los ganglios basales y tálamo regresando a la corteza motora hasta que se toma la decisión final, basada en gran medida en la experiencia (Purves *et al.*, 2008). Las áreas motoras de la corteza y el cerebelo toman la decisión táctica y emiten instrucciones al tallo cerebral y la médula espinal. La activación de las neuronas en el tronco encefálico y la médula espinal hace que se ejecute el movimiento correcto generando la coordinación entre las articulaciones destinadas a dicho movimiento (Bear *et al.*, 2016). La estructura de interés en el presente trabajo es la corteza motora primaria, ya que en ella se encuentran las neuronas de proyección principales para la generación del movimiento voluntario, tema que se abordará en el siguiente apartado.

### 1.2.1 Corteza motora

La corteza motora es una región de cerebro localizada en la parte superior y rostral del encéfalo, en la parte posterior del lóbulo frontal; tiene como función la iniciación del movimiento. Se divide en dos, la corteza motora primaria que controla la ejecución del movimiento y la corteza motora secundaria que, junto con los ganglios basales y el tálamo actúan para filtrar y planificar el movimiento (Young *et al.*, 2012).

En este trabajo nos centraremos en la corteza motora primaria, la cual posee una citoarquitectura similar en los mamíferos (Whitlock, 2017). Esta consta de seis capas, la más distintiva es la de salidas descendentes (capa V), que contiene neuronas piramidales gigantes

o también llamadas células de Betz, las cuales son las células piramidales que pueden llegar a medir hasta 100  $\mu\text{m}$ , poseen un soma en forma triangular con un diámetro que va desde 10  $\mu\text{m}$  hasta más de 50  $\mu\text{m}$ . Además, presentan un axón principal proyectado de dicho soma, así como dendritas basales y apicales proyectadas desde el soma (Antúnez, 1979).

Estas neuronas son las que tienen mayor proyección descendente a los ganglios basales, tallo cerebral y médula espinal, los axones de estas neuronas activan las neuronas motoras inferiores e interneuronas de la médula espinal, las cuales son responsables de enviar señales a las fibras de los músculos flexores y extensores y, finalmente generar el movimiento (Haines, 2014). La acción de las neuronas piramidales está significativamente influenciada por la actividad de sus conexiones dendríticas, que reciben información de la corteza motora secundaria (Davidson *et al.*, 2019), estas neuronas sintetizan glutamato, por lo que sus axones establecen sinapsis excitatorias principalmente en las espinas dendríticas de sus células blanco (Valverde, 2002). Además, de que estas neuronas se han visto ampliamente relacionadas en patologías neurodegenerativas (Rivara *et al.*, 2003).

#### 1.2.2 Alteraciones de la función motora en enfermedades neurodegenerativas

Existen distintas enfermedades neurodegenerativas que manifiestan alteraciones motoras. Una de ellas, la Enfermedad de Huntington, la cual es una enfermedad que se hereda en forma autosómica dominante y se caracteriza por el inicio gradual de defectos en el comportamiento, la cognición y el movimiento (Purves *et al.*, 2008). El principal síntoma se manifiesta como un trastorno que implica movimientos rápidos con sacudidas sin propósito claro. Se piensa que estas manifestaciones clínicas son causadas por la mutación en el gen *Huntingtina*, que es causante de atrofia profunda pero selectiva de los núcleos caudado y putamen, con cierta degeneración asociada de las cortezas frontal y temporal (Ghosh y Tabrizi, 2018<sup>a</sup>; Ghosh y Tabrizi, 2018<sup>b</sup>).

La Enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno que se caracteriza por presentar temblor en reposo, bradicinesia, rigidez de las extremidades y el cuello, y expresiones faciales, marcha lenta y postura inclinada hacia adelante. Además de estas alteraciones motoras, los pacientes también llegan a presentar demencia (Purves *et al.*, 2008). Estos síntomas se deben a la pérdida progresiva de las neuronas dopaminérgicas en la porción compacta de la sustancia nigra (Ascherio y Schwarzschild, 2016; Capriotti y Terzakis, 2016).

La Esclerosis Lateral Amiotrófica, es una enfermedad cuyas principales manifestaciones clínicas son debilidad progresiva de las extremidades y espasticidad, debido a la disminución de neuronas de la corteza motora (Wong *et al.*, 2012).

También, se ha reportado que pacientes con Enfermedad de Alzheimer (EA), además de presentar alteraciones cognitivas, también manifiestan déficit de las funciones motoras (Pettersson *et al.*, 2002; Maquet *et al.*, 2010; Buchman y Bennett, 2011). Orta-Salazar y colaboradores, utilizando el modelo de ratón transgénico 3xTg-AD, demostraron que hay disminución en el número de neuronas sanas y aumento en el número de neuronas dañadas en la corteza motora primaria, además de mostrar astrocitos con signos de reactividad, hipertrofia y aumento del cuerpo celular, lo cual se relacionó con la disminución en la actividad locomotora del ratón transgénico (Orta-Salazar *et al.*, 2017).

### 1.2.3 Espinas dendríticas.

Las ED son protuberancias estructurales que sobresalen del eje dendrítico, constituyen la pieza postsináptica de casi todas las conexiones excitatorias del cerebro y son estructuras características de las neuronas piramidales de la corteza cerebral e hipocampo, neuronas espinosas medianas estriatales, neuronas granulares olfatorias y neuronas de Purkinje del cerebelo (Shepherd, 1996; Davidson *et al.*, 2019). Son estructuras ricas en F-actina y G-actina cuya morfología consta de una cabeza unida al eje dendrítico por un cuello estrecho. Se han descrito diferentes formas de las espinas: forma de hongo, espinas delgadas, en forma de copa, etc. (Valencia *et al.*, 2018). Tienen un tamaño de 0.5 a 2  $\mu\text{m}$  y su función principal es servir como sitios de contacto neuronal, ya que generalmente reciben impulsos del axón de otra neurona (Valencia *et al.*, 2018). También tienen receptores de calcio, por lo que se les considera como un reservorio de este elemento (Shepherd, 1996). Se encuentran en muchas especies, pero son particularmente abundantes en el sistema nervioso de vertebrados (Yuste, 2010).

Las ED poseen propiedades críticas para el procesamiento eficaz de la información, así como para los cambios plásticos lentos inherentes a la memoria y el aprendizaje y, están relacionadas con la neuroplasticidad (Yuste, 2010; Sala y Segal, 2014; Borovac *et al.*, 2018)

### 1.2.3.1 Pérdida de espinas dendríticas

Las ED son vulnerables a sufrir cambios en su forma y densidad; estos cambios se han relacionado con alteraciones en el Sistema Nervioso (Fiala *et al.*, 2002). Se ha reportado pérdida en la DE en ciertas patologías, como retraso mental, epilepsia, alcoholismo, exposición a toxinas, malnutrición y en enfermedades neurodegenerativas como la EA, EH y en la EP cuyos pacientes presentan disminución en el número de ED en áreas corticales y subcorticales (Fiala *et al.*, 2002; Herms y Dorostkar, 2016).

## 2. JUSTIFICACIÓN

La principal fuente de exposición al V es la vía inhalada, ya que este metal se acumula en la atmósfera como partículas suspendidas al ser emitido por la quema de combustibles fósiles. Aunado a ello, se sabe que provoca alteraciones en ciertas regiones del SNC, debido a su alta capacidad para generar estrés oxidativo, alterar moléculas y vías de señalización celular que tienen como consecuencia la muerte de la célula y la alteración de algunas funciones normales del organismo. Por lo tanto, en este trabajo se consideró importante evaluar los efectos de este metal en la citología de la corteza motora de ratas y determinar si las alteraciones están relacionadas con cambios en la actividad motora, ya que, hasta ahora, no se han realizado estudios en roedores en los que se evalúe la inhalación de dicho compuesto en esta región del cerebro y su correlación con la actividad motora.

## 3. HIPÓTESIS

La inhalación de  $V_2O_5$  provoca alteraciones en el SNC, tanto en la citología como en el comportamiento de los roedores expuestos. Por lo tanto, es probable que la inhalación de dicho compuesto altere la citología de las neuronas de la corteza motora y, por consecuencia, la actividad motora de ratas expuestas.

## 4. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto que tiene la inhalación de  $V_2O_5$  sobre la actividad motora y la citología de la corteza motora de las ratas expuestas.

### 4.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar si existen alteraciones motoras mediante la prueba de la viga de equilibrio en ratas expuestas a  $V_2O_5$ .
- Examinar el número de ED de las neuronas piramidales de la corteza motora (capa V) de ratas expuestas a  $V_2O_5$ , utilizando la tinción de Golgi.

## 5. MÉTODO

Todos los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Neuromorfología, UIICSE, en la Facultad de Estudios Iztacala-UNAM. Se emplearon 15 ratas macho de la cepa Wistar con peso inicial de 120-180 gr, las cuales se mantuvieron en cajas controladas con ciclos de luz/oscuridad (12 h de luz, 12 h de oscuridad) y libre acceso al alimento y al agua.

Todas las ratas fueron entrenadas para la prueba de viga de equilibrio durante 1 semana, posteriormente se dividieron al azar en dos grupos: control (n=5) y expuestos (n=10) para comenzar con la primera inhalación.

### 5.1 INHALACIÓN

Para la inhalación ambos grupos (control y expuestos) se colocaron en una caja de acrílico transparente conectada a un nebulizador (Figura 1). El grupo control inhaló agua desionizada, mientras que el grupo experimental inhaló  $V_2O_5$  [0.02M]. Ambos grupos inhalaron a las 15:00 durante una hora, tres veces por semana durante seis meses (Avila-Costa et al., 2004).



Figura 1. Inhalación. Se observa las ratas dentro de la caja de acrílico expuestas a  $V_2O_5$  proveniente del nebulizador.

## 5.2 PRUEBA DE LA VIGA DE EQUILIBRIO

Para evaluar la conducta motora, los individuos fueron entrenados y evaluados en la prueba de la viga de equilibrio. Esta prueba evalúa la función motora, permitiendo observar la coordinación, disfunción motora, sensorial y cognitiva (Phillips *et al.*, 1997; Allbutt y Henderson, 2007). En esta prueba se utiliza un aparato de madera con dos pedestales, a los cuales va unida una viga de madera de 2 m de largo con una inclinación de 15° (Figura 2). Se utilizó una viga de 12 mm de ancho, donde los animales caminaron hasta alcanzar su caja hogar desde la parte más baja del aparato.

Previo a la inhalación, los animales fueron entrenados durante una semana. En los primeros dos días se realizó la habituación de las ratas en el aparato. La habituación consistió en colocar una rata por vez en la parte inferior de la viga durante 2 min, realizando cinco repeticiones por día. En los siguientes días se les colocó en la parte inferior de la viga y se les dio un pequeño empujón para que fueran capaces de caminar hasta la parte más alta, donde se encontraba su caja hogar. Este paso se repitió cinco veces por día, hasta que cada rata pudiese cruzar toda la viga por sí sola. Una vez que cada rata pudo realizar la prueba sin exceder el tiempo límite (2 min), se dividieron al azar en dos grupos y fueron evaluadas en una prueba control. Tres días después fueron expuestas a su primera inhalación y cada mes se realizó la evaluación motora de la viga de equilibrio.

Durante la evaluación se registró el tiempo en el que los animales atravesaron la viga. Se esperó como tiempo máximo 2 min, y si el animal no cruzaba en el tiempo estipulado se daba por terminada la actividad asignando el valor de 120 segundos a su evaluación (Allbutt y Henderson, 2007). Las ratas fueron evaluadas una vez cada mes durante seis meses a partir de la primera inhalación. Se utilizó como análisis estadístico ANOVA de un factor con prueba *post hoc* de Bonferroni.



Figura 2. Viga de equilibrio.

### 5.3 SACRIFICIO DE LAS RATAS

Una vez terminado el tiempo de inhalación (6 meses) las ratas fueron perfundidas vía intracardiaca a través de la aorta ascendente, donde se pasó primero solución salina isotónica (0.9%) para posteriormente administrar formaldehído al 2% en buffer de fosfatos con solución salina (PBS, 0.1 M, pH 7.4) como solución fijadora. Una vez perfundidas las ratas de ambos grupos, se extrajeron los cerebros y se conservaron en un vial de cristal con fijador durante un día (Figura 3), posteriormente los cerebros se procesaron con la técnica histológica tinción de Golgi.



Figura 3. Cerebros colectados en frascos viales con fijador.

#### 5.4 TINCIÓN DE GOLGI

Los fragmentos de cerebro que contenían la corteza motora se sumergieron en una mezcla de tetraóxido de osmio-dicromato de potasio (OsO<sub>4</sub> 1g, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 8g, H<sub>2</sub>O 300 ml) durante siete días a temperatura ambiente en oscuridad. Posteriormente se realizaron tres lavados con nitrato de plata al 0.75% y se conservaron por 24 horas a temperatura ambiente en la misma solución en oscuridad en un recipiente bien cerrado. Una vez retirado el exceso de nitrato de plata con papel filtro, los fragmentos se encastraron en bloques de parafina para obtener cortes coronales de la corteza motora en el microtomo de deslizamiento de 120 µm de espesor.

#### 5.5 CONTEO DE ESPINAS DENDRÍTICAS

Los cortes una vez impregnados se observaron en un microscopio óptico y se realizó el análisis cuantitativo de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora (Figura 4) en donde se contó el número de ED en las dendritas secundarias en una longitud de 10µm a partir del inicio de la primera bifurcación. El conteo del número de espinas dendríticas se llevó a cabo en cinco dendritas secundarias de 20 neuronas piramidales de cada animal de cada grupo. Se utilizó como análisis estadístico la prueba de t de Student para muestras independientes, con prueba *post hoc* de Bonferroni.

Los criterios de selección utilizados para identificar las neuronas piramidales de la capa V fueron: Un soma aislado con proyecciones dendríticas relativamente bien impregnadas, despejadas y lo más completas posible (Jacobs *et al.*, 2018). Que cumpla con la morfología característica de estas neuronas (Scheibel y Scheibel, 1974). Y para determinar la capa V se basó en la profundidad relativa de una neurona dada frente a otras neuronas del mismo tejido (Jacobs *et al.*, 2018)

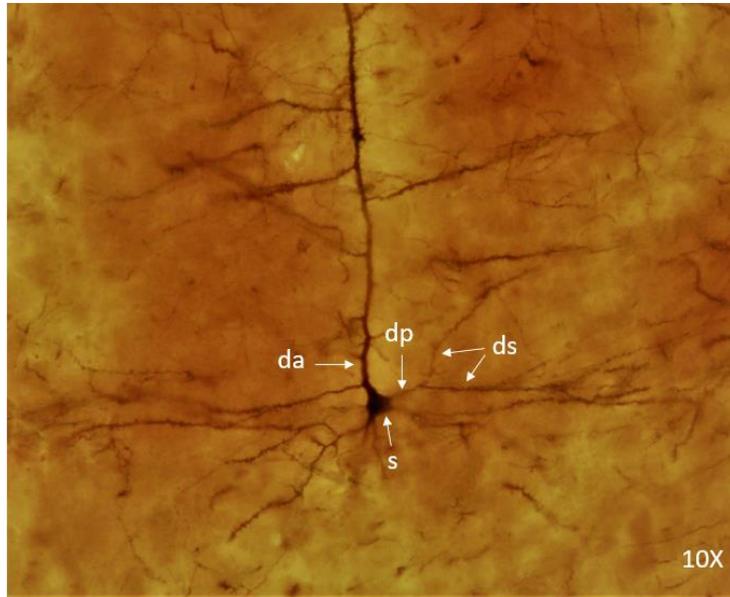
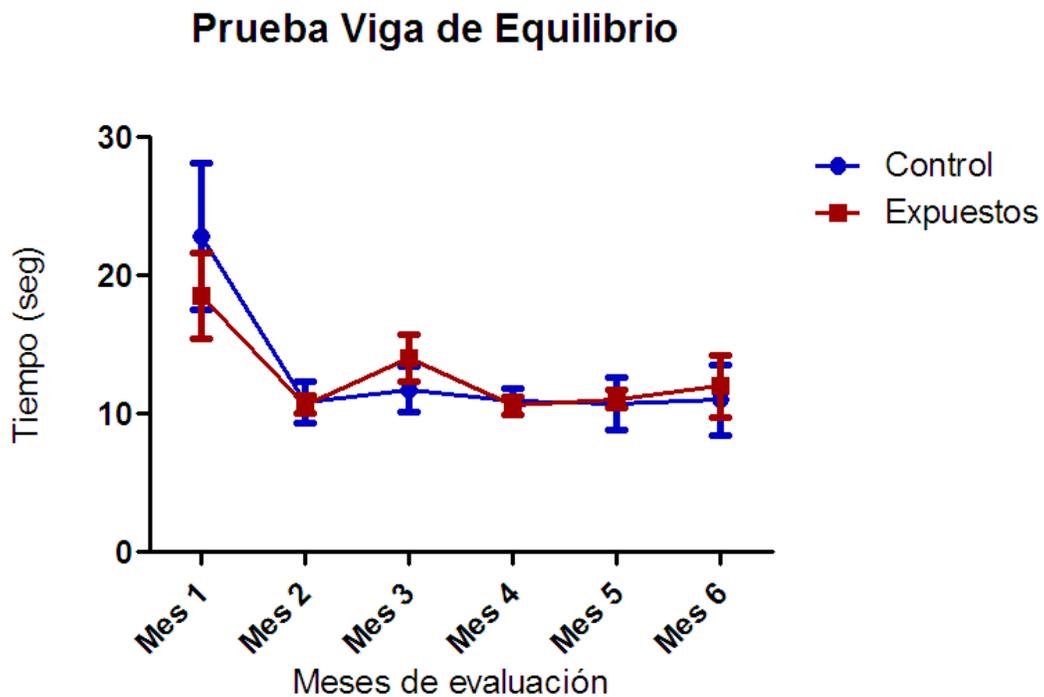


Figura 4. Micrografía de una neurona piramidal de la corteza motora (capa V) de rata vista con un microscopio óptico a 10x utilizando la tinción de Golgi. Se observa el soma (s), dendrita apical (da), dendrita primaria (dp) y dendrita secundaria (ds).

## 6. RESULTADOS

### ACTIVIDAD MOTORA

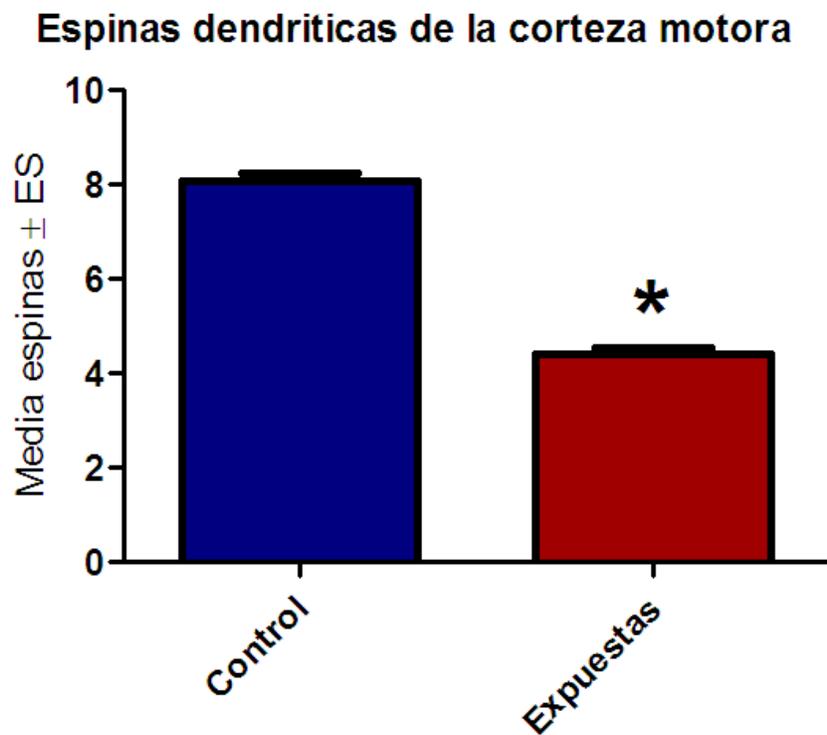
Después de la primera inhalación de  $V_2O_5$ , se realizó la evaluación de la actividad motora una vez cada mes, durante seis meses, utilizando la prueba de la viga de equilibrio (Gráfica 1). Se observó que no hubo diferencias significativas en el tiempo en que recorrieron la viga para llegar su caja hogar (meta), en ningún mes de evaluación, entre el grupo expuesto al metal (media = 13.53 seg) y el grupo control (media = 13.02 seg).



Grafica 1. Evaluación de la actividad motora mediante la prueba de viga de equilibrio. Se muestra el tiempo (segundos) en que se tardó en realizar la prueba tanto el grupo expuesto (rojo), como el grupo control (azul), a los diferentes meses de exposición.

## ANÁLISIS CITOLÓGICO

Se realizó el conteo de espinas de las dendritas secundarias de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora para determinar si la inhalación de  $V_2O_5$  produce pérdida de espinas. Se obtuvo como resultado disminución estadísticamente significativa ( $p= 0.05$ ) en el número de ED en las ratas expuestas a  $V_2O_5$  (media = 4.419) en comparación con el grupo control (media = 8.074) (Gráfica 2.)



Gráfica 2. Densidad espinosa de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora. Se observa la media del número total de espinas de las dendritas secundarias de las ratas del grupo control (8.074) y el grupo expuesto a  $V_2O_5$  (4.419). t de Student  $*= p < 0.05$

La figura 5 muestra micrografías representativas de las neuronas piramidales de la corteza motora. Se observa que hubo evidente disminución de ED provocada por la inhalación de  $V_2O_5$ , lo que demuestra daño a las neuronas de la corteza motora causado por este compuesto.

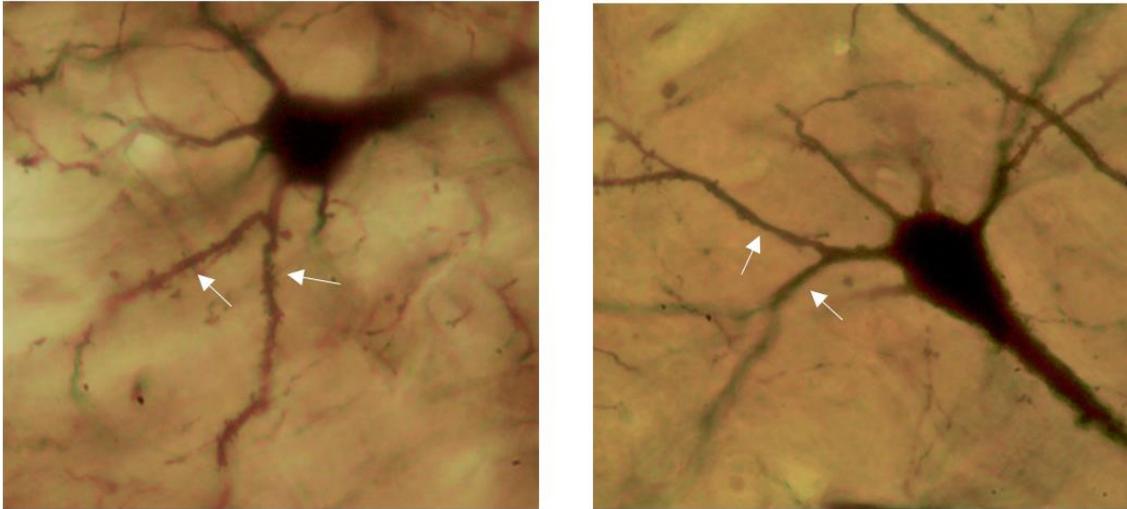


Figura 5. Micrografías de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la corteza motora vistas a 40x. Se observa un mayor número de espinas en las dendritas secundarias del grupo control (Izquierda), en comparación al grupo expuesto a vanadio (Derecha). Las flechas señalan las dendritas secundarias.

## 7. DISCUSIÓN

Se han realizado diversos estudios sobre el papel del  $V_2O_5$  sobre el Sistema Nervioso los cuales han mostrado la vulnerabilidad de ciertas regiones del cerebro a sufrir alteraciones celulares y funcionales. (Avila-Costa *et al.*, 2007)

Por otro lado, la corteza motora tiene como función la iniciación del movimiento. Se divide en dos, la corteza motora primaria que controla la ejecución del movimiento y la corteza motora secundaria que, junto con los ganglios basales y el tálamo actúan para planificar el movimiento (Young *et al.*, 2012). Específicamente en la capa V de la corteza motora primaria, se encuentran las neuronas piramidales gigantes, las cuales son las principales neuronas de salida en la corteza motora con proyecciones hacia áreas subcorticales como núcleo estriado, tálamo, tronco encefálico y médula espinal (Lemon, 2008; Jeong *et al.*, 2016; Economo *et al.*, 2018). La activación de las neuronas en el tronco encefálico y la médula espinal hace que se ejecute el movimiento correcto generando la coordinación entre las articulaciones destinadas a dicho movimiento (Bear *et al.*, 2016). Por lo tanto, es posible que alteraciones en neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora pueda reducir la actividad neuronal en el tracto corticoespinal y en áreas subcorticales, provocando alteraciones en la actividad motora (Xu, 2019).

### ACTIVIDAD MOTORA

En este estudio se observó que después de la inhalación de  $V_2O_5$  no hubo alteraciones significativas en la actividad motora del grupo expuesto comparado con el grupo control en ningún mes de exposición al metal. Como se observa en la gráfica 1 ambos grupos (expuestos y control) obtuvieron un tiempo promedio similar al realizar la prueba en los distintos meses de evaluación, además se obtuvo reducción en los tiempos posteriores al primer mes de evaluación. Esto podría deberse a que los movimientos voluntarios, al ser más complejos, en gran medida son aprendidos y su ejecución mejora con la práctica y experiencia (Kandel, 2013; Allbutt y Henderson, 2007), por lo tanto, ambos grupos de ratas redujeron el tiempo de desplazamiento en la viga.

A pesar de que las ratas del grupo expuesto a  $V_2O_5$  presentaron un daño evidente en las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora primaria, en comparación con el grupo control (Gráfica 2 y Figura 5), esta alteración no se vio reflejada en la actividad motora, ya que, es probable que las ratas con daño en la corteza motora hayan usado movimientos corporales compensatorios para tener éxito en la prueba (Wishaw *et al.*, 1991). Estos movimientos involucran otras áreas corticales, los ganglios basales o áreas subcorticales, ya que se ha visto que, en ratas con daño en la corteza motora o el tracto corticoespinal, se puede compensar la pérdida de movimiento mediante una variedad de ajustes posturales compensatorios (Wishaw *et al.*, 1991; Girgis *et al.*, 2007). Además, a pesar de que la viga de equilibrio ha sido utilizada para medir daño corticoespinal en roedores (Goldstein y Davis, 1990; Held *et al.*, 1985; Kunkel-Bagden *et al.*, 1993), esta prueba es mayormente utilizada para evaluar estructuras involucradas en la motricidad fina, como lo son los ganglios basales (Allbutt y Henderson, 2007; Ordoñez-Librado, 2007). Por lo tanto, sería recomendable utilizar otra prueba motora como la de campo abierto, la cual cuenta con una gama de conductas medibles que están estrechamente relacionadas con la locomoción de la rata (Sánchez *et al.*, 1998).

#### ALTERACION EN LAS ESPINAS DENDRITICAS

Después de seis meses de exposición a  $V_2O_5$  observamos disminución estadísticamente significativa ( $*p=0.05$ ) del número de ED en las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora primaria, en comparación con el grupo control (Gráfica 2). Esto se puede comparar con diversos estudios que reportan pérdida de ED provocada por la inhalación de  $V_2O_5$  en distintas áreas del cerebro: Avila-Costa y cols. en 2004, reportaron que la inhalación de  $V_2O_5$  en ratones, indujo pérdida de ED en las neuronas espinosas medianas del estriado, provocada probablemente por la denervación de dopamina, ya que en este estudio también se observó disminución de neuronas positivas a Tirosina Hidroxilasa. De igual manera, Juárez, en 2007, reportó una importante pérdida de ED en las neuronas espinosas medianas del estriado en ratones macho y hembra, siendo menor el daño en las hembras debido a que los estrógenos pudieron actuar como antioxidantes, contrarrestando los efectos provocados por la capacidad del V de generar estrés oxidativo. También se reportó pérdida de ED y alteraciones en el neuropilo del hipocampo, lo que resultó en el deterioro de la memoria

espacial al evaluar a los individuos por el laberinto de Morris (Avila-Costa *et al.*, 2006). En 2014, Colín-Barenque y cols., reportaron pérdida de ED, disminución del tamaño del soma y muerte celular tipo necrótica y tipo apoptótica en células granulares del bulbo olfatorio de ratones que inhalaban  $V_2O_5$  durante 1 a 4 semanas.

Se ha observado la pérdida de ED en varias condiciones como el retraso mental (Huttenlocher, 1991), epilepsia (Jiang *et al.*, 1998), alcoholismo (Berman *et al.*, 1996), exposición a neurotóxicos (Carpentier *et al.*, 1991; Robinson y Kolb, 1999; Avila-Costa *et al.*, 2006) y enfermedades neurodegenerativas (Herms y Dorostkar, 2016). Aunque estas condiciones difieren en las vías involucradas, también tienen características en común que incluyen inflamación, disfunción mitocondrial y estrés oxidativo (Danysz., 2001; Angoa y Rivas, 2007). Ha sido bien documentada la participación del V en la generación de estrés oxidativo y sus consecuentes efectos negativos sobre la homeostasis celular que podrían conducir a alteraciones funcionales (Snyder y Cornatzer, 1958; García *et al.*, 2004; Angoa y Rivas, 2007; Fatola *et al.*, 2018)

Por otro lado, se ha reportado que el  $V_2O_5$  puede alterar diferentes proteínas del citoesqueleto como la gamma-tubulina y actina, en células testiculares de ratón (Mussali-Galante, 2005; Rodríguez-Lara *et al.*, 2013). La actina es el principal componente estructural de las ED ya que juega un papel importante para determinar la forma, tamaño y motilidad de la espina (Fischer *et al.*, 1998; Valencia *et al.*, 2018). La actina dentro de las ED es hasta seis veces más elevada que en el eje dendrítico y se encuentra tanto en su forma globular (G-actina) como en su forma polimerizada (F-actina) (Fiala *et al.*, 2002; Valencia *et al.*, 2018). La polimerización y depolimerización de esta proteína conduce a la mayoría de los cambios morfológicos en las ED (Segal y Andersen, 2000). Además, se ha reportado que la actina presenta sitios de unión de alta afinidad al V, el cual es capaz de inducir cambios en la estructura y polimerización de esta proteína (Ramos *et al.*, 2006; Rodríguez-Lara *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 1995).

Los compuestos pentavalentes de V pueden imitar al fosfato e inhibir algunas fosfatasa (Assem y Levy, 2009). Por ejemplo, el  $VO_4^{3-}$ , es análogo estructuralmente al fosfato, ya que ambos poseen una forma tetraédrica y poseen casi el mismo tamaño. Por lo tanto, el  $VO_4^{3-}$  tiene la capacidad de sustituir al fosfato en enzimas como fosfatasa y quinasas. Sin embargo,

esta sustitución resulta en la inactivación de las enzimas (Rehder, 2015). Se ha propuesto que el  $\text{VO}_4^{3-}$  es capaz de inducir cambios en la actina debido a su capacidad para inhibir proteínas tirosina fosfatasas (Bennett *et al.*, 1993), también se ha reportado que el  $\text{VO}_4^{3-}$  oxida los residuos de Cys de la actina (Ramos *et al.*, 2009). Esta oxidación podría estar involucrada con la despolimerización de esta proteína (Ramos *et al.*, 2009). Esto podría explicar la disminución de ED obtenida en este trabajo, ya que el  $\text{V}_2\text{O}_5$  al ser un compuesto pentavalente, pudo provocar alteraciones en la actina de igual manera que las provocadas por  $\text{VO}_4^{3-}$  (Bennett *et al.*, 1993). Además, dentro de las células, el  $\text{V}_2\text{O}_5$  inhalado es reducido por el glutatión a la forma tetravalente con su subsecuente generación de EROs (Barceloux, 1999; Fatola *et al.*, 2018), a su vez, el V con su estado de oxidación 4+ es oxidado al estado de oxidación 5+ a través de reacciones tipo Fenton con su concomitante producción de radicales hidroxilo (Capella *et al.*, 2002; Valko *et al.*, 2005; Olopade y Connor, 2011). Esta generación de EROs resulta en la oxidación de la actina, provocando su despolimerización lo cual se vio reflejado en la disminución de la DE (Rodríguez-Lara *et al.*, 2013). Sin embargo, estas alteraciones en las neuronas motoras no afectaron el movimiento de las ratas expuestas, utilizando la prueba de viga de equilibrio.

## 8. CONCLUSIONES

-La inhalación de este compuesto produjo disminución en el número de espinas de las neuronas piramidales de la capa V de la corteza motora primaria, como ocurre en algunas enfermedades neurodegenerativas como la Enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, no se observaron alteraciones motoras durante este tiempo (6 meses) y utilizando como prueba conductual la viga de equilibrio.

- Este trabajo de exposición a  $\text{V}_2\text{O}_5$  por vía inhalada, utilizando un modelo animal nos muestra otra evidencia de la importancia del V como potente neurotóxico.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012<sup>a</sup>). ToxFAQs sobre el vanadio. 1600 Clifton Road Ne., Atlanta GA 30333 U.S.A. Tomado de [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs58.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs58.html).
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012<sup>b</sup>). Toxicological Profiles\_ Vanadium. 4770 Buford Hwy NE Atlanta, GA 30341. Tomado de <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp.asp?id=276&tid=50>
- Allbutt N. y Henderson M. (2007). Use of the narrow-beam test in the rat, 6-hydroxydopamine model of the Parkinson's disease. *J. Neurosci. Methods*. 159: 195-202
- Amorim A.C., Welz B., Costa C.S., Lepri F.G., Vale M.G. y Ferreira S.L. (2007). Determination of vanadium in petroleum and petroleum products using atomic spectrometric techniques. *Talanta*. 72: 349-359
- Angoa M. y Rivas S. (2007). Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿causa o consecuencia?. *Arch Neurocién*. 12: 45-54.
- Antúnez L.L. (1979). Sistemas, estructuras y células que componen nuestro sistema nervioso. En: Anatomía funcional del sistema nervioso. 1ra Ed. México. Limusa S.A de C.V. pp. 55-81
- Ascherio A. y Schwarzschild M.A. (2016). The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *Lancet Neurol*. 15(12): 1257-1272
- Assem F.L. y Levy L.S. (2009). A review of current toxicological concerns on vanadium pentoxide and other vanadium compounds: gaps in knowledge and directions for future research. *J. Toxicol. Environ. Health*. 12: 289-306
- Assem F.L. y Oskarsson A. (2015). Vanadium. Handbook on the Toxicology of Metals. 4Ed. Elsevier. USA
- Avila-Costa M.R., Flores E.M., Colín-Barenque L., Ordoñez-Librado J.L., Gutiérrez-Valdez A.L., Niño-Cabrera H.G., Mussali-Galante P. y Fortoul T.I. (2004). Nigrostriatal modifications after vanadium inhalation: an immunocytochemical and cytological approach. *Neurochem Res*. 29 (7): 1365-1369
- Avila-Costa M.R., Fortoul T.I., Niño-Cabrera H.G., Colín-Barenque L., Bizarro-Nevares P., Gutiérrez-Valdez A.L., Ordoñez-Librado J.L., Rodríguez-Lara V.,

Mussali-Galante P., Díaz-Bech Y. y Anaya-Martínez V. (2006). Hippocampal cell alterations induced by the inhalation of vanadium pentoxide ( $V_2O_5$ ) memory deterioration. *Neurotoxicol.* 27: 1007-1012.

- Avila-Costa M.R., Fortoul T.I., Colín-Barenque L., Ordoñez-Librado J.L., Gutiérrez-Valdez A.L. y Anaya-Martínez V. (2007) Vanadium and the nervous system. En: Fortoul T.I. y Avila-Costa M.R. ed. Vanadium: Its impact on health. Nova Science Publishers, Inc. New York.
- Barceloux D.G. (1999). Vanadium. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 37(2): 265-278.
- Barth A., Schaffer W., Konaris C., Blausenteiner R., Winker R., Osterode W. y Rudiger H.W. (2002). Neurobehavioral effects of vanadium. *J. Toxicol. Environ Health.* 65: 677-683
- Bear M.F., Connors B.W. y Paradiso M.A. (2016). Neuroscience. Exploring the Brain. 4th Ed. Editorial Wolters Kluwer. China. Pp. 483-516
- Bennett P.A., Dixon R.J. y Kellie S. (1993). The phosphotyrosine phosphatase inhibitor vanadyl hydroperoxide induces morphological alterations, cytoskeletal rearrangements, and increased adhesiveness in rat neutrophil leucocytes. *J. Cell. Scien.* 106: 891-901
- Berman R.F., Hannigan J.H., Sperry M.A. y Zajac C.S. (1996). Prenatal alcohol exposure and the effects of environmental enrichment on hippocampal dendritic spine density. *Alcohol.* 13: 209-216
- Bollen M., Miralpeix M., Ventura F., Toth B., Bartrons R. y Stalmans, W. (1990). Oral administration of vanadate to streptozotocin-diabetic rats restores the glucose-induced activation of liver glycogen synthase. *Biochem J.* 267 (1): 269-271
- Borovac J., Bosch M. y Okamoto K. (2018). Regulation of actin dynamics during structural plasticity of dendritic spines: Signaling messengers and actin-binding proteins. *Mol Cell Neurosci.* 91: 122-130
- Buchman A.S. y Bennett D.A. (2011). Loss of motor function in preclinical Alzheimer's disease. *Expert Rev. Neurother.* 11 (5): 665-676.
- Byrne A.R. y Kosta L. (1978). Vanadium in foods and in human body fluids and tissues. *Sci Total Environ.* 10:17-30

- Capella L.S., Gefé M.R., Silva E.F., Affonso-Mitidieri O., Lopes A.G., Rumjanek V.M. y Capella M.A. (2002). Mechanism of vanadate-induced cellular toxicity: role of cellular glutathione and NADPH. *Arch. Biochem. Biophys.* 406: 65-72
- Capriotti T. y Terzakis K. (2016). Parkinson disease. *Home Healthc Now.* 34(6): 300-307
- Carpentier P., Lambrinidis M. y Blanchet G. (1991). Early dendritic changes in hippocampal pyramidal neurones (field CA1) of rats subjected to acute soman intoxication: a light microscopy study. *Brain Res.* 541: 293-299
- Chasteen N.D. (1984). The biochemistry of vanadium. *Structure and Bonding.* 53, 105-208
- Colín-Barenque L., Pedraza-Chaverri J., Medina-Campos O., Jimenez-Martínez R., Bizarro-Nevares P., González-Villalva A., Rojas-Lemus M. y Fortoul T.I. (2014). Functional and morphological olfactory bulb modifications in mice after vanadium inhalation. *Toxicol. Pathol.* 20: 1-10
- Cortizo A.M., Bruzzone L., Molinuevo S. y Etcheverry S.B. (1982). A possible role of oxidative stress in the vanadium-induced cytotoxicity in the MC3T3E1 osteoblast and UMR106 osteocroms cell lines. *Toxicol.* 147: 89-99
- 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. *Chem. Rev.* 104 (2): 849-902
- Danysz W. (2001). Neurotoxicity as a mechanism for neurodegenerative disorders: basic and clinical, aspects. *Expert Opin Investig Drugs.* 10(5): 985-999
- Davidson A.M., Mejía-Gómez H., Jacobowitz M. y Mostany R. (2019). Dendritic spine density and dynamics of layer 5 pyramidal neurons of the primary motor cortex are elevated with aging. *Cereb Cortex.* 30:767-777.
- Economo M.N., Viswanathan S., Tasic E., Winnubst J., Menon V., Graybuck L.T., Nguyen T.N., Smith K.A., Yao Z., Wang L., Gerfen C.R., Chandrashekar J., Zeng H., Looger L.L y Svoboda K. (2018). Distinct descending motor cortex pathways and their roles in movement. *Nat.* 563: 79-84

- Fantus I.G., Deragon G., Lai R., Tang S. (1995). Modulation of insulin action by vanadate: evidence of a role for phosphotyrosine phosphatase activity to alter cellular signaling. *Mol. Cell. Biochem.* 153: 103-112.
- Fatola O.I., Olaolorun F.A., Olopade F.E. y Olopade J.O. (2018). Trends in vanadium neurotoxicity. *Brain Research Bulletin.* 145: 75-80
- Fiala J.C., Spacek J. y Harris K. M. (2002). Dendritic spine pathology: Cause or consequence of neurological disorders? *Brain Res. Rev.* 39: 29-24
- Fischer M., Kaech S., Knutti D. y Matus A. (1998). Rapid actin-based plasticity in dendritic spines. *Neuron.* 20(5): 847-854
- Folarin O., Olopade F., Onwuka S. y Olopade J. (2016). Memory deficit recovery after chronic vanadium exposure in mice. *Oxid. Med. Cell.* 4: 1-7.
- Folarin O.R., Snyder A.M., Peters D.G., Olopade F., Connor J.R. y Olopade J.O. (2017). Brain metal distribution and neuro-inflammatory profiles after chronic administration and withdrawal in mice. *Front. Neuroanat.* 11: 58.
- Folarin O.R., Asaeamoye O.A., Akanni O.O. y Olopade J.O. (2018). Changes in the brain antioxidant profile after chronic vanadium administration in mice. *Metab. Brain Dis.* 33 (2): 377-385
- Fortoul T.I., Bizarro-Nevarés P., Acevedo-Nava S., Piñón-Zárate G., Rodríguez-Lara V., Colín-Barenque L., Mussali-Galante P., Avila-Casado M., Avila-Costa. M.R. y Saldivar-Osorio L. (2007). Ultrastructural findings in murine seminiferous tubules as a consequence of subchronic vanadium pentoxide inhalation. *Repro. Toxicol.* 23: 588-592.
- Fortoul T.I., Quan-Torres A. y Sánchez I. (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
- Friberg L., Nordberg G.F., Kessler E. y Vouk V.B. (1986). Handbook of the toxicology of metal. New York: Elsevier Science Publishers BV.
- García G.B., Quiroga A.D., Sturtzb N., Matineza A.I. y Biancardia M.E. (2004). Morphological alterations of central nervous system (CNS) myelin in vanadium (V)-exposed adult rats. *Drug Chem. Toxicol.* 27 (3): 281-293

- García B. (2006). El vanadio, un elemento ambiguo. *Acta Toxicol. Argent.* 14 (2): 32-36
- Ghosh R. y Tabrizi S.J. (2018<sup>a</sup>). Clinical features of Huntington´s Disease. *Adv Exp Med Biol.* 1049: 1-28
- Ghosh R. y Tabrizi S.J. (2018<sup>b</sup>). Huntington disease. *Handb Clin Neurol.* 147: 255-278
- Girgis J., Merrett D., Kirkland S., Metz G.A.S. Verge V. y Fouad K. (2007). Reaching training in rats with spinal cord injury promotes plasticity and task specific recovery. *Brain.* 130: 2993-3003
- Goldstein L.B. y Davis J.N. (1990). Beam-walking in rats: studies towards developing an animal model of functional recovery after brain injury. *J Neurosci Methods.* 31:101-107
- Guevara J.A. (1996). Una semblanza de la química bioinorgánica del vanadio. *Educación Química.* 7(4): 185-189
- Grayson M. (1983). *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.* New York, USA: Hohn Wiley & Sons.4: 891-894.
- Haider S.S., Andel-Gayoum A.A., El-Fahri M. y Ghwarsha K.M. (1998). Effect of selenium on vanadium toxicity in different regions of rat brain. *Human Exp. Toxicol.* 17: 23-28
- Haines D.E. (2014). Principios de Neurociencia. Aplicaciones básicas y clínicas. Elsevier. Barcelona, España. Pp. 324-369
- Held J.M., Gordon J. y Gentile A.M. (1985). Environmental influences on locomotor recovery following cortical lesions in rats. *Behav Neurosci.* 13-585-589
- Herms J. y Dorostkar M. M. (2016). Dendritic spine pathology in neurodegenerative diseases. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 11: 221-50 Hirano, S., y Suzuki, K. T. (1996). Exposure metabolism and toxicity for rare earths and related compounds. *Environ. Health. Perspect.* 104: 85-95
- Hirano S. y Suzuki K. (1996). Exposure, metabolism, and toxicity rare earths and related compounds. *Environ. Health Perspect.* 104: 85-95
- Huttenlocher P.R. (1991). Dendritic and synaptic pathology in mental retardation. *Pediatr. Neurol.* 7: 79-85

- Intiaz M., Rizwan M.S., Xiong S., Li H., Sher M., Shahzad M., Rizwan M y Tu S. (2015). Vanadium, recent advancements and research prospects: A review. *Environ Int.* 80: 79-78
- International programme on chemical safety (IPCS). (1990). Vanadium and some vanadium salts. Health and safety guide. World Health Organization, Geneva. Tomado de: <http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg042.htm>
- Jacobs B., García M.E., Shea-Shumsky N.B., Tennison M.E., Schall M., Saviano M.S., Tummino T.A., Bull A.J., Driscoll L.L., Raghanti M., Lewandosky A.H., Wicinski B., Chui H.K., Bertelsen M.F., Walsh T., Bhagwandin A., Spocter M.A., Hof P.R., Sherwood C.C. y Manger P.R. (2018). Comparative morphology of gigantopyramidal neurons in primary motor cortex across mammals. *J Comp Neurol.* 526 (3): 496-536
- Jeong M., Kim Y., Kim J., Ferrate D.D., Mitra P.P., Osten P. y Kim D. (2016). Comparative three-dimensional connectome map of motor cortical projections in the mouse brain. *Sci Rep.*
- Jiang M., Lee C.L., Smith K.L. y Swann J.W. (1998). Spine loss and other persistent alterations of hippocampal pyramidal cell dendrites in a model of early-onset epilepsy. *J. Neurosci.* 18: 8356-8368
- Jiang M., Li Y., Zhang B., Zhou A., Zheng T., Qian Z., Du X., Zhou Y., Pan X., Hu J., Wu C., Peng Y., Liu W., Zhang C., Xia W. y Xu S. (2016). A nested case-control study of prenatal vanadium exposure and low birthweight. *Hum Reprod.* 31 (9): 2135-2141
- Juárez M.L. (2007). Efecto de la inhalación de vanadio (V) en la sustancia nigra y estriado de ratones. Comparación entre sexos. Tesis que para obtener el título de bióloga. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessell T.M., Siegelbaum S.A. y Hudspeth A.J. (2013). Principles of neural science. 5ta Ed. Editorial Medical. Pp. 835-865
- Kummer J.L., Rao P.K. y Heidenreich K.A. (1997). Apoptosis induced by withdrawal of trophic factors is mediated by p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem.* 272 (33): 20490-20494

- Hunkel-Bagden E. Dai H.N. y Bregman B.S. (1993). Methods to assess the development and recovery of locomotor function after spinal cord injury in rats. *Exp Neurol.* 119:153-164
- Lau J.Y., Qian K.P., Wu P.C. y Davis G.L. (1993). Ribonucleotide vanadyl complexes inhibit polymerase chain reaction. *Nuclei Acids Res.* 21 (11): 2777
- Lemon R.N. (2008) Descending pathways in motor control. *Annu Rev Neurosci.* 31: 195-218
- Li J., Elberg G., Crans D.C., y Schechter Y. (1996). Evidences for the distinct vanadyl (+4)-dependent activating system for manifesting insulin-like effects. *Biochemisrty.*35: 227-231
- Li H., Zhou D., Zhang Q., Feng C., Zheng W., He K. y Lan Y. (2013) Vanadium exposure-induced neurobehavioral alterations among Chinese workers. *Neurotoxicol.* 36: 49-54
- Maquet D., Lekeu F., Warzee E., Gillian S., Wojtasik V., Salmon E., Petermans J. y Croisier J. L. (2010). Gait analysis in elderly adult patients with mild cognitive impairment and patients with mild Alzheimer's disease: simple versus dual task: a preliminary report. *Clin Physiol Funct Imaging.* 30(1), 51-56
- Marshall J.L. y Marshall V.R. (2004<sup>a</sup>). The Undiscovery of Vanadium. *THE HEXAGON*. Tomado de: <https://digital.library.unt.edu/ark:/67531/metadc111199/>.
- Marshall J.L. y Marshall V.R. (2004<sup>b</sup>). The Second Discovery of Vanadium. *THE HEXAGON*. Tomado de <https://digital.library.unt.edu/ark:/67531/metadc111200/>
- Morinville A., Maysinger D. y Shaver A. (1998). From Vanadis to Atropos: vanadium compounds as pharmacological tools in cell death signaling. *Trends Pharmacol Sci.* 19 (11): 452-460
- Mukherjee B., Patra B., Mahapatra S., Banerjee P., Tiwari A. y Chatterjee M. (2004). Vanadium-an element of atypical biological significance. *Toxicol. Letters.* 150: 135-143
- Mussali-Galante P., Rodríguez-Lara V., Hernandez-Tellez B., Avila-Costa M.R., Colín-Barenque L., Bizarro-Nevarez P., Martínez-Levy G., Rojas-Lemus M., Piñón-Zarate G., Saldivar-Osorio L., Diaz-Beck P., Herrera-Enríquez A., Tovar-Sanchez E.

- y Fortoul T.I. (2005). Inhaled vanadium pentoxide decreased gamma-tubulin of mouse testes at different exposure times. *Toxicol Ind Health*. 21: 215-222
- Mustapha O., Oke B., Offen N., Siren A. y Olopade. (2014). Neurobehavioral and cytotoxic effects of vanadium during oligodendrocyte maturation: a protective role for erythropoietin. *Env. Toxicol. Pharmacol*. 38, 98-111.
  - Myron D.R., Givand S.H., Nielsen F.H. (1977). Vanadium content of selected foods as determined by flameless atomic absorption spectroscopy. *J Agric Food Chem*. 25: 297-299
  - Naylor G.J. (1983). Vanadium and affective disorders. *Biol. Psychiatry*. 18: 103-112
  - Naylor G.J., Smith, A. H. W., Bryce-Smith, D. y Ward, N. I. (1984). Elevated vanadium levels of hair in mania. *Biol Psychiatry*. 19: 759-764
  - Ngwa H.A., Ay M., Jin H., Anantharam V., Kanthasamy A. y Kanthasamy A.G. (2017). Neurotoxicity of Vanadium. En: *Neurotoxicity of Metals*. Eds. Aschner M., y Costa L. G. Springer. N.Y. USA. 287-301
  - Nielsen F.H., y Sandstead M.D. (1974). Are nickel, vanadium, silicon, fluorine and, tin essential for man? *The Am. J. Clinl. Nutr*. 27. 515-520
  - Niño-Cabrera H.G. (2005). Alteraciones morfológicas y conductuales en hipocampo por la exposición inhalada a vanadio. Tesis que para obtener el grado académico de maestra en ciencias biológicas. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
  - Nriagu J.O. y Pirrone N. (1998). Emission of Vanadium into the atmosphere. En: Nriagu J., ed. *Vanadium in the enviroment*. Parte 1: Chemistry and biochemistry. New York, NY, John Wiley & Sons, pp. 25-36
  - Olopade J.O. y Connor J.R. (2011). Vanadium and neurotoxicity: a review. *Curr. Top. Toxicol*. 7, 33-39
  - Ordoñez-Librado J.L. (2007). Caracterización de un modelo experimental de la Enfermedad de Parkinson por inhalación de manganeso. Tesis que para obtener el grado académico de maestro en ciencias biológicas. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Orta-Salazar E., Feria-Velasco A.I. y Diaz-Cintra S. (2017) Primary motor cortex alterations in Alzheimer disease: A study in the 3xTg-AD model. *Neurol.* 34:429-436.
- Patel B., Henderson G.E., Haswell S.J. y Grzeskowiak R. (1990). Speciation of vanadium present in a model yeast system. *Analyst.* 115: 1063
- Pettersson A.F., Engardt M., y Wahlund L.O. (2002). Activity level and balance in subjects with mild Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 13: 213-216
- Phillips L., Lyeth B., Hamm R., Jiang J., Povlishock. y Revves T. (1997). Effect of prior receptor antagonism on behavioral morbidity produced by combined fluid percussion injury and entorhinal cortical lesion. *J Neurosci Res.* 49: 197-206
- Purves D., Augustine G.J., Fitzpatrick D., Hall W.C., Lamantia A.S., McNamara J.O. y Williams S.M. (2008). Neurociencia. 3 Ed. Editorial Panamericana. Pp. 407-459
- Pyrzynska K. y Wierzbicki T. (2004). Determination of vanadium species in environmental samples. *Talanta.* 64: 823-829.
- Ramos S., Manuel M., Tiago T., Duarte R., Martins J., Gutiérrez-Merino C., Moura J.J. y Aureliano M. (2006). Decavanadate interactions with actin: inhibition of G-actin polymerization and stabilization of decameric vanadate. *J. Inorganic Biochem.* 100: 1734-1743
- Ramos S., Duarte R., Moura J.J. y Aureliano M. (2009). Decavanadate interactions with actin: cysteine oxidation and vanadyl formation. *Dalton Transactions.* 14: 7985-7994
- Rehder D. (2015). The role of vanadium in biology. *Metallomics.* 7 (5): 730-42
- Rivara C.B., Sherwood C.C. Bouras C. y Hof P.R. (2003). Stereologic characterization and spatial distribution patterns of Betz cells in the human primary motor cortex. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 270(2):137-131
- Robinson T.E. y Kolb B. (1999). Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. *Eur. J. Neurosci.* 11: 1598-1604.
- Rodríguez-Lara V., Morales-Rivero A., Rivera-Cambas A. y Fortoul T.I. (2013). Vanadium inhalation induces actin changes in mice testicular cells. *Toxicol Ind Health.* 32(2): 367-374

- Rodríguez-Mercado J.J. y Altamirano-Lozano M.A. (2006). Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 22 (4): 173-189
- Roshchin A.V., Ordzhonikidze E.K. y Shalganova I.V. (1980). Vanadium-toxicity, metabolism, carrier state. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 24: 377-383
- Sala C. y Segal M. (2014). Dendritic spines: The locus of structural and functional plasticity. *Physiol Rev.* 94: 141-188.
- Sabbioni E., Pozzi G., Pintar A., Casella L. y Garattini S. (1991). Cellular retention, cytotoxicity and morphological transformation by vanadium (IV) and vanadium (V) in BALB/3T3 cell lines. *Carcin.* 12 (1): 47-52.
- Sánchez D.J., Colomina M.T. y Domingo J.L. (1998). Effects of vanadium on activity and learning in rats. *Physiol. And Behavior.* 63(3): 345-350
- Sasi M.M., Haider S.S., El-Fakhri M. y Ghwarsha K.M. (1994). Microchromatographic análisis of lipids, protein, and occurrence of lipid peroxidation of vanadium neurotoxicity. *Neurotoxicol.* 15: 413-420
- Scheibel M.E., Davies T.L., Lindsay R.D. y Scheibel A.B. (1974). Basilar dendrite bundles of giant pyramidal cells. *Exp Neurol.* 42: 307-319
- Segal M. y Andersen P. (2000). Dendritic spines shaped by synaptic activity. *Curr. Opin. Neurobiol.* 10: 582-586.
- Sharma R.P., Coulombe R.A. y Srisuchart B. (1986). Effects of dietary vanadium exposure on levels of regional brain neurotransmitters and their metabolites. *Biochem. pharm.* 35: 461-465.
- Shaver A., Jesse B., Hall D.A. y Posner B.I. (1995). The chemistry of peroxovanadium compounds relevant to insulin mimesis. *Mol Cell Biochem.* 153. 5-15.
- Shepherd G.M. (1996). The dendritic spine: A multifunctional integrative unit. *J. Neurophysiol.* 75 (5): 2197-2210
- Snyder F. y Cornatzer W.E. (1958). Vanadium inhibition of phospholipid synthesis and sulphhydryl activity in rat liver. *Nature.* 182: 462

- Svodova P., Teisinger J., Pilart J. y Vyskocil F. (1984). Vanadyl ( $\text{VO}^{2+}$ ) and vanadate ( $\text{VO}_3^-$ ) ions inhibit the brain microsomal Na, K-ATPase with similar affinities, protección by transferrin and noradrenaline. *Biochem Pharm.* 33 (15): 2485-2491.
- Tracey A.S. (2000). Hydroxamido vanadates: aqueous chemistry and function in protein tyrosine phosphatases and cell cultures. *J Inorg Biochem.* 80 (1-2): 11-16
- Valencia R.K., Colín-Barenque L. y Fortoul T.I. (2018). Las espinas dendríticas, su función y algunas alteraciones. *Rev. Fac. Med. UNAM.* 61 (1): 46-55
- Valko M., Morris H. y Cronin M.T.D. (2005). Metal toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 12, 1161-1208
- Valverde F. (2002). Estructura de la corteza cerebral. Organización intrínseca y análisis comparativo del neocórtex. *Rev Neuro.* 34: 758-780
- Wenning R. y Kirsch N. (1988). *Vanadium*. En: Hans G. Seiler, Helmut Sigel y Astrid Sigel (Eds), Handbook on toxicity of inorganic compounds. New York., New York, pp. 749-765.
- Whitlock J.R. (2017). Posterior parietal cortex. *Current Biol.* 27(14): 691-695
- Wikowska D. y Brzezinski J. (1979). Alteration of brain noradrenaline, dopamine and 5-hydroxytryptamine levels during vanadium poisoning. *Pol J Pharmacol Pharm.* 31 (4): 393-398.
- Wishaw I.Q., Pellis S.M., Gorny B.P. y Pellis V.C. (1991). The impairments in reaching and the movements of compensation in rats with motor cortex lesions: an endpoint, videorecording, and movement notations análisis. *Behav Brain Res.* 42:77-91
- World Health Organization (WHO) (2001). Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds. *Concise International Chemical Assessment Document (CICAD).* 29
- World Health Organization (WHO) & International Programme on Chemical Safety. (1990). Vanadium and some vanadium salts. *Environmental and Health Criteria.* tomado de: <http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg042.htm>
- Wong P.C., Chiang P., Martin L., Koliatsos V. y Price D.L. (2012). Motor Neuron Diseases. En: Basic Neurochemistry. Brady S. T., George J. S., Wayne-Albers R. y

Price D. L. ed. Principles of Molecular, Cellular, and Medical Neurobiology. Elsevier Inc. Amsterdam. Pp. 801-814

- Xu Z., Adler A., Li H., Pérez-Cuesta L.M., Lai B., Li W. y Wen-Biao G. (2019). Fear conditioning and extinction induce opposing changes in dendritic spine remodeling and somatic activity of layer 5 pyramidal neurons in the mouse motor cortex. *Sci Rep.* 9: 4619
- Yang X., Wang K., Lu J. y Crans D.C. (2003). Membrane transport of vanadium compounds and the interaction with the erythrocyte membrane. *Coord. Chem. Rev.* 237: 103-111
- Young N., Stepniewska I. y Kaas J. (2012). Motor Cortex. In C. Watson, Paxinos G. y Puelles L. (Ed), The mouse nervous system: Academic Press. Pp 528-538
- Yu S.P., Canzoniero L.M. y Choi D.W. (2001). Ion homeostasis and apoptosis. *Curr Opin Cell Biol.* 13 (4): 405-411
- Yuste R. (2010), Dendritic Spines. The MIT Press. London, England. Pp. 161-180
- Zhang B., Wang K, y An F. (1995). Binding of vanadyl ions to G-actin and its impact on the polymerization of G-actin. *J. In. Biochem.* 59: 591
- Zhu C.W., Liu Y.X., Huang C.J., Gao W., Hu G.L., Li J., Zhang Q. y Lan Y.J. (2016) Effect of vanadium exposure on neurobehavioral function in workers. *Chin J Hyg Occup Dis.* 34 (2): 103-106