



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“Evaluación de la inducción de
micronúcleos por talio(III) e indio(III) en
ratones de la cepa CD-1”**

TESIS

Que para obtener el título de:

BIÓLOGO

PRESENTA

Sebastián Amaury Consuegra Obregón

DIRECTOR

Dr. Juan José Rodríguez Mercado

ASESOR

Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava

Dra. Lucila Álvarez Barrera



Unidad de Investigación Genética y Toxicología Ambiental (UNIGEN)

Ciudad de México

Noviembre 2022



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.



Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Toxicología Genética bajo la dirección del Dr. Juan José Rodríguez Mercado y la asesoría del Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava y la Dra. Lucila Álvarez Barrera, dentro de la Unidad de Investigación Genética y Toxicología Ambiental (UNIGEN), en el edificio de la UMIEZ de la Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, Campus II, UNAM.

Durante el desarrollo de este trabajo se contó con el apoyo parcial del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT-UNAM, proyecto IN-229220.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
CARRERA DE BIOLOGÍA
FORMATO F-5



OFICIO DE FECHA DE EXAMEN

QFB GRACIELA ROJAS VÁZQUEZ
JEFA DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 Presente

Le comunico que al alumno: **CONSUEGRA OBREGON SEBASTIAN AMAURY** con número de cuenta **313037326** de la carrera **BIOLOGÍA** se le ha fijado el día **28 de Noviembre de 2022** a las **13:00 hrs.**, para presentar la réplica oral de su examen profesional, que tendrá lugar en esta facultad, ante el siguiente jurado:

CARGO	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. EN C. ALVARADO DOMINGUEZ MARIA CRISTINA	<u><i>M. C. Alvarado</i></u>
VOCAL	DR. RODRIGUEZ MERCADO JUAN JOSE	<u><i>Juan José R.M.</i></u>
SECRETARIO	DRA. ALVAREZ BARRERA LUCILA	<u><i>Alvarez Barrera Lucila</i></u>
SUPLENTE	DR. MATEOS NAVA RODRIGO ANIBAL	<u><i>[Firma]</i></u>
SUPLENTE	MTRO. ALCANTARA MEJIA VICTOR ALAN	<u><i>[Firma]</i></u>

El título del trabajo escrito que se presenta es:

Evaluación de la inducción de micronúcleos por talio(III) e indio(III) en ratones de la cepa CD-1

En la modalidad de: **TESIS**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 CDMX, a 19 de Octubre de 2022

DR. VICENTE JESÚS HERNÁNDEZ ABAD
 DIRECTOR DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES ZARAGOZA

**Hemos luchado mucho para estudiar y graduarnos, pero lo irónico de todo esto es que... hoy empieza la verdadera
lucha**

-Fernando Anfus

Agradecimientos

Quisiera agradecer con todo mi corazón a todas las personas que me acompañaron en este largo y maravilloso viaje, del cual llevo no solo mucho conocimiento y aprendizaje, sino también guardo muchas experiencias con amigos y compañeros. Con las cuales tuve el honor de compartir muchísimos momentos de dolor y felicidad, de estrés y de placer, pero sin las cuales tener este camino recorrido no hubiera sido posible.

Primero que todo me gustaría agradecer a los profesores encargados de la Unidad donde se llevó a cabo esta tesis.

A la Dra. Lucila Álvarez que me dio la oportunidad de ingresar en este laboratorio y trabajar con ella cuando no sabía prácticamente nada de esta unidad. Muchas gracias por su paciencia, atención, confianza y comprensión.

Al Dr. Aníbal Mateos que siempre me aporta su conocimiento y nos proporcionó muchos consejos que siempre resultan de utilidad y de gran valor. Muchas gracias por ser una persona muy abierta y con la cual siempre es fácil pedirle un consejo.

Al Dr. Juan Rodríguez quien me permitió realizar este trabajo con él, quien además ha sido muy paciente y amable en todo momento, me ha brindado apoyo y conocimiento necesario para continuar en este camino hacia una vida como profesionista en esta hermosa carrera que es la Biología.

De la misma forma me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento a la Mtra. Cristina Alvarado y al Mtro. Víctor Alcántara por formar parte del jurado.

Quisiera agradecer a todos mis amigos que conocí en la carrera, ya que gracias a todos ustedes este largo viaje fue más alegre aventura que una infernal odisea.

Obviamente no puedo dejar afuera a mi familia, los cuales a lo largo de todos estos años me han brindado todo su apoyo incondicional para que logre realizarme como una persona de bien y exitosa.

Muchas Gracias de todo corazón a mi Padre, Jesús Renato Consuegra Carrillo, persona que me ha servido de inspiración y ejemplo de trabajo duro y perseverancia. Me ha apoyado en todo y desea siempre lo mejor para mí y para todos mis hermanos.

Quisiera agradecer especialmente a mi Madre Ma. Edith Obregón Moreno, mi pilar y la principal razón de que me encuentre aquí en este momento. La persona que más confió en mí y siempre me ha brindado su amor y confianza. Ella que ha dado todo de sí para que yo me convierta en un hombre exitoso y que cumpla con sus objetivos. La persona más fuerte y mi modelo para seguir. Mamá te quiero mucho y esto es por ti.

MUCHAS GRACIAS A TODOS, TODO ESTO ES POR USTEDES.

**Ahora es cuando empieza la verdadera aventura de
la vida. ¡Adelante!**

ÍNDICE

Abreviaturas	1
Lista de figuras	1
Lista de cuadros	2
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
1. MARCO TEÓRICO.....	5
1.1. Metales.....	5
1.2. Metales pesados	5
1.3. Talio (Tl)	6
1.3.1. Propiedades físicas y químicas	6
1.3.2. Producción y presencia en el ambiente	8
1.3.3. Usos y aplicaciones	9
1.3.4. Toxicocinética: exposición, absorción y distribución	10
1.3.5. Toxicidad	11
1.4. Indio (In)	13
1.4.1. Propiedades físicas y químicas	13
1.4.2. Producción y presencia en el ambiente.	14
1.4.3. Usos y aplicaciones	14
1.4.4. Toxicocinética: exposición, absorción y distribución	16
1.4.5. Toxicidad	18
1.5. Ácido desoxirribonucleico (ADN).....	21
1.5.1. Daño al ADN y cromosómico.....	22
1.6. El ratón como modelo biológico	24
1.7. Toxicología.....	24
1.8. Ensayo de micronúcleos (MN)	25
1.8.1. Mecanismos de formación de MN	27
1.9. Hematopoyesis y eritropoyesis en mamíferos.....	28
2. JUSTIFICACIÓN	32
3. HIPÓTESIS	33
4. OBJETIVOS	34
4.1. General	34

4.2. Particulares	34
5. MATERIAL Y MÉTODO	35
5.1. Animales	35
5.2. Reactivos.....	35
5.3. Diseño experimental.....	35
5.4. Obtención de muestra	36
5.5. Prueba de viabilidad.....	37
5.5.1. Evaluación de la viabilidad.....	37
5.6. Ensayo de MN.....	38
5.6.1. Evaluación de MN.....	38
5.7. Análisis estadístico.....	38
6. RESULTADOS.....	39
6.1. Evaluación de la viabilidad celular.....	39
6.2. Evaluación de la proliferación de EPC	43
6.3. Evaluación de la frecuencia de MN	45
7. DISCUSIÓN	49
8. CONCLUSIONES.....	58
9. REFERENCIAS.....	59
ANEXO.....	71

Abreviaturas

TI	Talio
TICl₃	Cloruro de talio(III) o tricloruro de talio
In	Indio
InCl₃	Cloruro de indio(III) o tricloruro de indio
ITO	Óxido de indio estaño
EPC	Eritrocitos policromáticos, reticulocitos
ENC	Eritrocitos normocromático
NA	Naranja de acridina
BE	Bromuro de etidio
MN	Micronúcleos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
\bar{x}	Media aritmética
DE	Desviación estándar
CAS	Registros químicos de sustancias (<i>Chemical Abstracts Service</i>)
DI₅₀	Dosis letal media
ip	Intraperitoneal
UV	Luz ultravioleta
LED	Diodo emisor de luz (<i>light-emitting diode</i>)
LCD	Pantalla de cristal líquido (<i>liquid crystal display</i>)

Lista de figuras

Figura 1. Principales vías de exposición y distribución del TI en el organismo (modificado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

Figura 2. Producción mundial de In de 1980 a 2001 (modificado de Fowler y Maples-Raynolds, 2015).

Figura 3. Diagramas de las principales vías de exposición y distribución del In en el organismo (modificado de Fowler y Maples-Raynolds, 2015).

Figura 4. Proceso de formación de MN (tomada de Sierra y Gaivao, 2014).

Figura 5. Proceso de eritropoyesis y tiempo en médula ósea y sangre (modificado de Zivot *et al.*, 2018).

Figura 6. Protocolo de administración de los compuestos metálicos (TlCl_3 o InCl_3) y obtención de las muestras

Figura 7. Leucocitos de sangre completa de ratón, teñidos con NA-BE; a la izquierda esquema y a la derecha fotografía. Célula viable (a), célula en apoptosis temprana (b), célula en apoptosis tardía (c) y célula necrótica (d) (McGanon *et al.*, 1995; García-Rodríguez *et al.*, 2016).

Figura 8. Viabilidad de los leucocitos de ratones de la cepa CD-1 teñidos con NA-BE, a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de TlCl_3 (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI_{50} de InCl_3 (B).

Figura 9. Apoptosis de los leucocitos de ratones de la cepa CD-1 determinada con la tinción dual de NA-BE, a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de TlCl_3 (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI_{50} de InCl_3 (B).

Figura 10. Necrosis de los leucocitos de ratones de la cepa CD-1 determinada con la tinción dual de NA-BE, a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de TlCl_3 (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI_{50} de InCl_3 (B).

Figura 11. Numero de EPC presentes en sangre periférica de ratones tratados con diferentes dosis de TlCl_3 o InCl_3 . EPC presentes en 2000 eritrocitos totales, a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg)

o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de $TlCl_3$ (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI_{50} de $InCl_3$ (B).

Figura 12. Frecuencia de MN en 2000 EPC de sangre periférica de ratones a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de $TlCl_3$ (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI_{50} de $InCl_3$ (B).

Figura 13. Tendencia de la relación dosis-efecto de la inducción de MN en ratones tratados con 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg), 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de $TlCl_3$ a las a las 0 (A) y 24 (B), 48 (C) o 72 (D) h.

Figura 14. Tendencia de la relación dosis-efecto de la inducción de MN en ratones tratados con 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg), 1/2 (2.5 mg/kg) de $InCl_3$ a las 0 (A) y 24 (B), 48 (C) o 72 (D) h.

Lista de cuadros

Cuadro I. Principales usos de distintos compuestos de In en la industria

Cuadro II. Toxicidad de distintos compuestos de In en distintos modelos biológicos

Cuadro III. Distribución de los grupos tratados vía ip con las distintas dosis de $TlCl_3$ e $InCl_3$

Cuadro IV. Porcentaje de viabilidad de leucocitos de ratones tratados con cloruro de talio(III) ($TlCl_3$) o cloruro de indio(III) ($InCl_3$).

Cuadro V. Porcentaje de EPC en sangre periférica de ratones tratados con cloruro de talio(III) ($TlCl_3$) o cloruro de indio(III) ($InCl_3$).

Cuadro VI. Frecuencia de MN en EPC de sangre periférica de ratones tratados con cloruro de talio(III) ($TlCl_3$) o cloruro de indio(III) ($InCl_3$).

RESUMEN

Los metales son indispensables para humanos, por su importancia biológica y sus usos en la industria, la medicina, entre otras actividades. Como consecuencia de sus diversos usos, su presencia en el ambiente ha aumentado considerablemente, volviéndolos contaminantes que deterioran la calidad del agua, del aire y tienden a encontrarse en los alimentos en concentraciones no habituales. Dentro de los metales encontramos al talio (Tl) e indio (In) en estado de oxidación I y III, los cuales son considerados tóxicos por inducir daño en tejidos, células y el material genético. Ambos son de interés para la toxicología, sin embargo, la información que se tiene acerca de la toxicidad y los mecanismos de acción en el estado III es escasa. Por tal motivo, el objetivo de la presente tesis fue evaluar el efecto citotóxico y genotóxico del cloruro de talio(III) ($TlCl_3$) y del cloruro de indio(III) ($InCl_3$) en células de sangre periférica de ratón de la cepa CD-1 utilizando el ensayo de micronúcleos (MN).

Se formaron grupos de cinco ratones y se les administró intraperitonealmente 1/2, 1/4 y 1/8 de la DI_{50} de $TlCl_3$ (4.56, 9.12 o 18.24 mg/kg) o de $InCl_3$ (0.75, 1.25 o 2.5 mg/kg), respectivamente. Se tomaron muestra de sangre de la cola de los animales a las 0 h y 24, 48 o 72 h después de la administración del compuesto metálico. Se evaluó la viabilidad celular con la técnica de tinción dual de naranja de acridina (NA) con bromuro de etidio (BE) y la frecuencia de MN con la prueba de NA. Las muestras se observaron en el microscopio de fluorescencia donde se registró el número de eritrocitos policromáticos (EPC), en 2000 eritrocitos totales y la frecuencia de MN en 2000 EPC. Los resultados no muestran cambios en la viabilidad celular ni en la proporción de EPC en ninguno de los tratamientos de $TlCl_3$ con respecto al grupo testigo, sin embargo, el $InCl_3$ disminuyó la proporción de EPC en todas las dosis a las 48 y 72 h. Por otro lado, la frecuencia de MN aumentó en todos los tratamientos de $TlCl_3$ y $InCl_3$, además el pico de inducción ocurre 24 h posteriores al tratamiento, aunado a que los resultados muestran comportamiento dosis-dependiente. Esto coloca al Tl e In en estado de oxidación III como agentes genotóxicos en el modelo *in vivo* a bajas dosis (1/8 de la DI_{50}).

INTRODUCCIÓN

Los metales elementos de suma importancia que forman parte de la corteza terrestre, los cuales han sido fundamentales para el desarrollo cultural y tecnológico de las civilizaciones humanas desde la antigüedad hasta la actualidad. Es sabido que el humano se ha visto beneficiado de su manejo en el pasado y presente, principalmente desde inicios del anterior siglo donde el uso de estos se ha visto incrementado considerablemente con el desarrollo de nuevos materiales, medicamentos y tecnologías (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006; Balali-Mood *et al.*, 2021). En consecuencia, la exposición humana a estos y su descarga al medio ambiente también ha aumentado considerablemente, deteriorando la calidad del aire y el agua, cambiando las propiedades del suelo y contaminando alimentos (Rojas *et al.*, 1999; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

Existen 67 elementos metálicos, algunos son esenciales y tienen importancia biológica porque forman parte de diversas reacciones bioquímicas y metabólicas, como ejemplos de ellos se tiene al hierro (Fe), sodio (Na), potasio (K), magnesio (Mg), entre otros. Por otro lado, existen metales que no son esenciales y poseen propiedades curativas a bajas cantidades, pero que a altas tienen la capacidad de causar alteraciones a nivel molecular, celular, tisular y de órganos, debido a la incapacidad del organismo a adaptarse a estos. Ambos grupos en concentraciones no habituales pueden representar riesgo para la salud (Apostoli, 2002; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Flora, 2014). Entre estos últimos encontramos el **talio** (Tl) y el **indio** (In), los cuales son conocidos por su elevada toxicidad.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Metales

Los metales son elementos de suma importancia para la vida. Mucho de ellos son considerados como esenciales, debido a que estos forman parte de prácticamente la mayoría de las funciones bioquímicas y fisiológicas de los organismos. Muchos son oligoelementos imprescindibles en el mantenimiento de los sistemas bioquímicos de los seres vivos, por ejemplo, el cobre (Cu), el manganeso (Mn), el potasio (K) o el zinc (Zn), son indispensables en el metabolismo de los mamíferos (Bengtsson *et al.*, 2006).

Pueden actuar, dependiendo de la dosis, la vía de administración, la naturaleza química del compuesto, entre otros factores, como potentes tóxicos para los organismos. Todos estos elementos y sus compuestos derivados, dependiendo de la concentración en el medio ambiente o en los sistemas biológicos pueden ser considerados, peligrosos contaminantes o agentes tóxicos de alto riesgo. Ciertos metales pueden incluso llegar a ser considerados cancerígenos (Ferre *et al.*, 2007).

En años recientes la creciente actividad antropogénica y desecho de metales al ambiente los ha convertido en importantes contaminantes. Entre las principales fuentes de liberación encontramos a la minería, la agricultura, la metalurgia y la industria automotriz (Covarrubias y Cabriales, 2017).

La población está expuesta a estos contaminantes como consecuencia de su extensa difusión en el medio. Una de las vías más importantes de exposición suele ser el consumo de los diferentes grupos de alimentos que los contienen, de forma natural o como contaminantes al superar sus niveles habituales (Bocio *et al.*, 2005).

1.2. Metales pesados

Son elementos naturales que tienen un alto peso atómico y una densidad al menos 5 veces mayor que la del agua, es decir 5.0 g/cm^3 . En la actualidad diversos autores

consideran más acertado denominar pesado a aquellos metales o metaloides que generan toxicidad a concentraciones trazas. Los ejemplos incluyen al mercurio (Hg), cadmio (Cd), cromo (Cr), **talio** (Tl), **indio** (In), plomo (Pb), entre otros (Cornelis y Nordberg, 2007; Méndez *et al.*, 2009; Tchounwou *et al.*, 2014; Koller y Saleh, 2018; Saleh y Aglan, 2018).

Naturalmente, están presentes en forma de minerales, sales u otros compuestos. No pueden ser degradados o destruidos fácilmente de forma natural o biológica, ya que no tienen funciones metabólicas específicas para los seres vivos (Abollino *et al.*, 2002). Las propiedades anteriores les confieren la característica de que pueden bioacumularse, lo cual significa aumento en la concentración de un producto químico en el organismo vivo en cierto plazo de tiempo, comparada con la concentración de dicho producto químico en el ambiente (Angelova *et al.*, 2004).

Son capaces de entrar al organismo por distintas vías, tales como la ingestión, inhalación e inclusive por absorción dérmica. En pequeño grado se logran incorporar a organismos vivos (plantas y animales) por vía del alimento y lo pueden hacer a través del agua y el aire como medios de translocación y dependiendo de su movilidad en dichos medios (Lucho-Constantino *et al.*, 2005).

Este tipo de metales poseen la característica de acumularse y permanecer en los organismos sin ser metabolizados con facilidad, razón por la cual es posible encontrarlos en distintos compartimentos ambientales. Entre dichos sitios de bioacumulación se encuentran los seres humanos, los cuales se exponen a ellos por causa de muchas de sus actividades (Méndez *et al.*, 2009). Dos metales a los cuales se exponen son el **talio (Tl)** y el **indio (In)**.

1.3. Talio (Tl)

1.3.1. Propiedades físicas y químicas

El Tl es un metal cuyo nombre proviene de la raíz griega *thallus* y fue aislado por primera vez en 1861 por William Crookes e independientemente por el químico

francés Claude-Auguste Lamy. Pertenece al grupo IIIA de la tabla periódica de elementos, cuenta con número atómico de 81, peso atómico de 204.4 g/mol, densidad de 11.85 g/cm³; punto de fusión de 303 °C, punto ebullición de 1457 °C y configuración electrónica [Xe] 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s² 6p¹ donde sus orbitales cuentan con 2, 8, 18, 32, 18 y 3 electrones. El Tl permanece en el ambiente, debido a que no se puede descomponer en sustancias más simples (Repetto y del Peso, 2012; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Blain y Kazantzis, 2015).

Este metal se encuentra en dos estados de oxidación: I y III, formando compuestos orgánicos e inorgánicos con ambos estados. A diferencia de los otros metales de su familia (aluminio (Al), galio (Ga) e indio (In)), el Tl(I) es más estable que el Tl(III) y tiene cierto parecido al ion potasio (K⁺) en su radio iónico y carga eléctrica, mientras que el Tl³⁺ tiene ciertas similitudes de comportamiento con el aluminio (Al) (Repetto y del Peso, 2012; Lan y Lin, 2005; US EPA, 2008; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

La electronegatividad del Tl es 2.04, su radio atómico es 171 pm y el radio iónico es 150 pm en Tl(I) y 89 pm en Tl(III). Se conocen seis isótopos artificiales, con masas que oscilan entre 191 y 210 y tiempo de vida media de entre 2.1 milisegundos (²⁰¹Tl) a 3.8 años (²⁰⁴Tl). En la naturaleza, el 29.52 % de Tl existe como ²⁰³Tl y el 70.48 % existe como isótopo ²⁰⁵Tl (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Blain y Kazantzis, 2015).

Las formas comerciales más comunes son acetato de Tl (C₂H₃O₂Tl), carbonato de Tl (Tl₂CO₃) y sulfato de Tl (Tl₂SO₄). Los compuestos en el estado de oxidación III que se derivan del catión tálico incluyen cloruro de Tl(III) (TlCl₃) y sesquióxido de Tl (Tl₂O₃). Son sales insípidas, incoloras e inodoras, la mayoría solubles en agua, lo que contribuye a su elevada toxicidad sobre organismos y los ecosistemas (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; US EPA, 2008; Mulkey y Oehme, 1993).

La importancia ecotoxicológica del talio se deriva de su alta toxicidad aguda en los organismos vivos, comparable a la del plomo y el mercurio (Kemper, 1991; Kemper y Bertram, 1991).

1.3.2. Producción y presencia en el ambiente

El Tl se encuentra normalmente en bajas concentraciones en la corteza en ambos estados de oxidación. Se estima que la concentración media de Tl en suelo es de 0.004 mg/kg, la cual oscila entre 0.3 y 3 mg/kg en la corteza terrestres. Tl se encuentra a menudo en carbón jurásico, minerales que contienen azufre, minerales de hierro (Fe), plomo (Pb) y zinc (Zn), y minerales de lorandita (TlAsS₂) y crookesita ((Cu-Tl-Ag) 2Se), en los que el contenido de Tl excede el 60 % (Delvalls *et al.*, 1999; Kazantzis, 2000).

Las concentraciones de Tl son generalmente menores de 1 ng/m³ en aire no contaminado, menores de 1 µg/L en agua continental y aproximadamente 10–20 ng/L en agua de mar. En el suelo, las concentraciones de Tl oscilan entre 0.1 y 1 mg/kg. La concentración de Tl en los sedimentos de los ríos es inferior a 0.07 mg/kg, mientras que varía de 0.14 a 1.13 mg/kg de peso seco en sedimentos de origen marino (Griepink *et al.*, 1988; Kazantzis, 2000; CCME, 1999; Schedlbauer y Heumann, 1999; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

Económicamente, el talio no es tan importante como otros metales traza como Pb, Hg, Cr, Ni o Zn. Rara vez se recupera de operaciones de extracción de metales, procesamiento de minerales u operaciones de fundición y, por lo tanto, se desecha como parte de los relaves en el medio ambiente (Cheam *et al.*, 1995). Además, ciertas regiones del mundo se enriquecen naturalmente en Tl (Cvjetko *et al.*, 2010).

El Tl se libera al ambiente a través de la quema de combustibles fósiles, en especial por las plantas generadoras de energía que utilizan principalmente la combustión del carbón, también por refinamiento de fracciones de petróleo, fundición de minerales ferrosos y no ferrosos (incluyendo Pb, Cu y Zn), y por algunos otros

procesos industriales, como la producción de cemento y ladrillos (IPCS, 1996; Ralph y Twiss, 2002; Kazantzis, 2007; Blain y Kazantzis, 2015).

1.3.3. Usos y aplicaciones

Existe una demanda creciente de TI en los campos de alta tecnología y tecnología futura (Nriagu, 2003). El índice acumulativo de los resúmenes químicos de 1995 enumera más de 150 usos y aplicaciones potenciales del TI y sus compuestos. Hasta los primeros años del siglo XX, las sales de TI se usaban ampliamente para tratar la sífilis (desde 1883), para reducir los sudores nocturnos en pacientes con tuberculosis (desde 1898) (Delvalls *et al.*, 1999). Durante décadas las sales de TI se emplearon como venenos para roedores y como insecticidas (Nriagu, 1998; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

También se usó ampliamente con fines médicos. Se les dio a los niños para tratar la tiña del cuero cabelludo, en el tratamiento de enfermedades venéreas y contra los malestares producidos por la malaria (Kazantzis, 2000). Las sales de TI se han utilizado como depilatorios en cremas faciales y corporales (Peter y Viraraghavan, 2005).

Otros usos de las sales de TI son en la fabricación de bisutería, termómetros de baja temperatura, material cerámico semiconductor, contadores de centelleo para la cuantificación de radiactividad y en lentes ópticos a los que confiere alto índice de refracción (Arzate y Santamaria, 1996; Ramsden, 2002). Se utilizan para la oxidación de hidrocarburos y olefinas, para la polimerización y para la epoxidación, en espectrómetros infrarrojos, en cristales, para colorear vidrio (Kazantzis, 2007), en aleaciones y dispositivos electrónicos (Zitko, 1975; Peter y Viraraghavan, 2005).

El mayor uso del TI es en equipos de investigación electrónicos especializados (Zitko, 1975; US EPA, 2002). Entre los usos del TI se encuentran en la industria de semiconductores y láser, en la fabricación de fibra óptica, en imágenes centellográficas, y como sonda molecular para emular la función biológica de los iones de metales alcalinos (Nriagu, 2003; Peter y Viraraghavan, 2005).

Otros usos incluyen fuegos artificiales (nitrato de talio), pigmentos (cromato de talio) y tintes, impregnación de madera y cuero contra hongos y bacterias, y en la separación mineralógica (IPCS, 1996; Nriagu, 1998).

Los iones de Tl muestran excelentes propiedades de resonancia magnética nuclear y se han utilizado como sonda para emular las funciones biológicas de los iones de metales alcalinos, especialmente K^+ y Na^+ (Nriagu, 1998; Peter y Viraraghavan, 2005).

1.3.4. Toxicocinética: exposición, absorción y distribución

Diversos estudios con mamíferos señalan que existen tres vías de exposición al Tl, por la respiración, la ingestión y la absorción cutánea, colocando las dos últimas como las más comunes. Después de ser absorbido pasa al torrente sanguíneo, el cual lo distribuye a distintos tejidos y órganos. Las concentraciones de Tl más altas se han encontrado en el riñón y las más bajas en el cerebro, sin que se detecte ninguna en el tejido adiposo, también se acumula en el hígado, los músculos, los huesos, la médula ósea, el pelo y las uñas (**Figura 1**) (US EPA, 2008; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

Se sabe que la principal fuente de exposición a Tl para los humanos es por medio de los alimentos. Se ha estimado que la ingesta dietética para el ser humano es de aproximadamente 0.005 mg/día. La cantidad en plantas de consumo humano está determinada por el suelo donde son cultivados y por el uso de pesticidas a base de Tl_2SO_4 , además la planta del tabaco absorbe Tl, lo que nos permite suponer al tabaquismo como otra fuente de exposición común (Léonard y Gerber, 1997; US EPA, 2008; Blain y Kazantzis 2015; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2017).

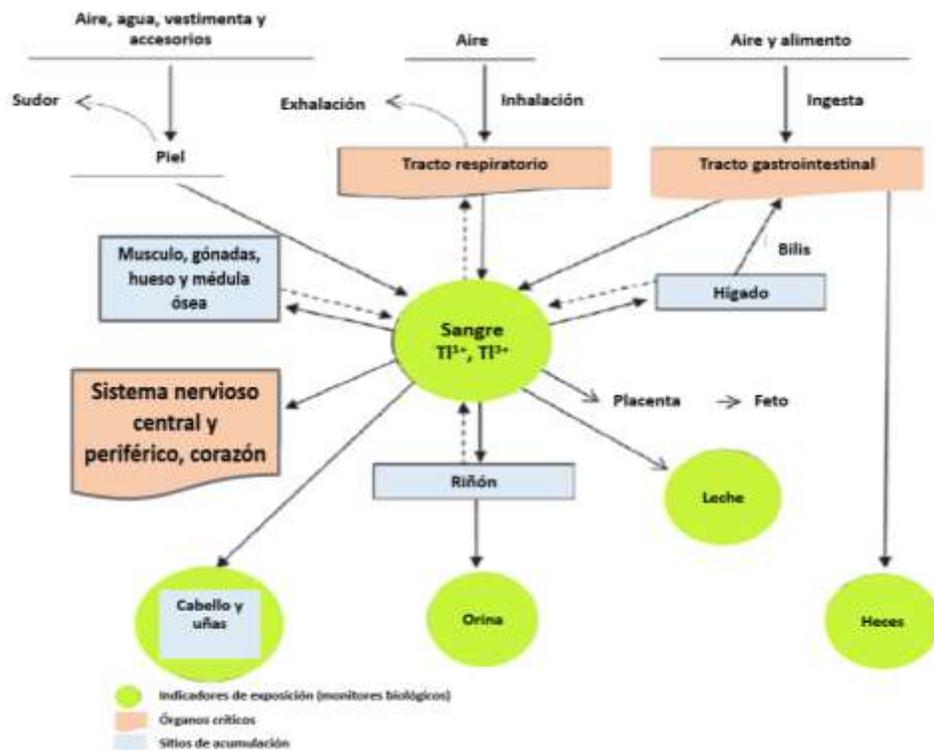


Figura 1. Principales vías de exposición y distribución del talio en el organismo (modificado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

1.3.5. Toxicidad

Si bien es considerado elemento altamente tóxico, el TI se ha estudiado menos que otros elementos tóxicos como el Pb, el Cd o el Hg. Esto se debe principalmente a que TI a menudo no es detectado por métodos analíticos clásicos que tienden a tener menor sensibilidad para TI que para otros elementos (Peter y Viraraghavan, 2005).

El TI es un oligoelemento que forma compuestos altamente tóxicos para los animales. En el caso de los mamíferos, es considerado más tóxico que el Hg, el Cd o el Pb (Lan y Lin, 2005; US EPA, 2008; Nowicka *et al.*, 2013a). La dosis letal aguda estimada en humanos es de 8 a 12 mg/kg de peso corporal (Goyer y Clarkson, 2001; Rodríguez-Mercado *et al.*, 2017).

La intoxicación con TI produce daño en el tracto respiratorio, tracto gastrointestinal y sistema nervioso central y periférico. Los síntomas por exposición aguda son fuertes dolores estomacales acompañados de diarrea o vómito, es capaz de producir daño irreversible en el sistema nervioso que puede culminar en la muerte. Cuando se sobrevive al envenenamiento quedan secuelas, entre las cuales encontramos temblores constantes, parálisis, dolor de articulaciones y en ocasiones cambios psicomotores y del comportamiento. Por otro lado, la exposición crónica produce alteraciones en el sistema nervioso central y periférico, acompañado de distintos cambios sistémicos y reproductivos (IPCS, 1996; US EPA, 2008; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2017).

Uno de los principales mecanismos causantes de la toxicidad del TI se da debido a que este es similar al K^+ en radio iónico y carga eléctrica, aunado a que tiene alta afinidad por los grupos sulfhídrico de las proteínas y otras biomoléculas, por lo cual el TI(I) tiende a sustituir al K^+ en los procesos vitales, por ejemplo, en las ATPasa de Na^+/K^+ , además interfiere en los procesos de enzimas activadas por cationes monovalentes (piruvato cinasa, aldehído deshidrogenasa) y reemplaza al ion K^+ durante la estabilización de los ribosomas y la contracción muscular, también interfiere con la producción de energía en los pasos esenciales de la glucólisis, el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa (Peter y Viraraghavan, 2005; Tao *et al.*, 2008; Cvjetko *et al.*, 2010; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Nowicka *et al.*, 2013b; Blain y Kazantzis, 2015).

Diversos estudios han descrito la toxicidad del TI(I) *in vivo*, Galván-Arzate *et al.* (2000) indujo la lipoperoxidación (LPO) en cerebros de ratas tratadas con dosis diarias de $C_2H_3O_2TI$ de 0.8 hasta 1.6 mg/kg de peso corporal, encontrando que todas las regiones tratadas presentaron aumento en la LPO en comparación con el control, lo que sugiere al estrés oxidativo, por medio de la generación de especies reactivas de oxígeno, como uno de los mecanismos de toxicidad del TI. Reyes-Rodríguez *et al.* (2021) reportaron los efectos sobre *D. melanogaster* alimentadas crónicamente con 0.5 g de Drosophila Instant Medium adicionado con 2 mL de una solución de TI_2SO_4 y $C_2H_3O_2TI$ en concentraciones de 0.2, 2, 20, 200 y 600 μM de

ambas sales, y únicamente con 1200 μM para $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Tl}$, donde observaron efecto genotóxico solamente en la concentración de 600 μM de Tl_2SO_4 y efecto citotóxico de ambas sales.

Por otro lado, la información acerca de los mecanismos de toxicidad de $\text{Tl}(\text{III})$ es limitada, pero existen estudios que han reportado que tiene potencial efecto oxidante. Esto se demostró sobre hepatocitos de rata aislados, donde se observó que el mecanismo citotóxico está relacionado con la producción de especies reactivas de oxígeno, debido al aumento en la actividad antioxidante del glutatión (Pourahmad *et al.*, 2010; Nowicka *et al.*, 2013a Pino *et al.*, 2016). Otros estudios señalan que los compuestos de $\text{Tl}(\text{I})$ y $\text{Tl}(\text{III})$ alteran la fluidez de la membrana y aumentan la LPO, lo cual desencadena la lisis celular (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2019).

Recientemente se evaluó el efecto citotóxico y genotóxico del Tl_2SO_4 y del TlCl_3 en concentraciones de 0.5, 1, 5, 10, 50 o 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en linfocitos humanos tratados *in vitro*, mostrando que los compuestos tienen la capacidad de disminuir la viabilidad celular, aumentar la muerte por necrosis y apoptosis, producir cambios en la proliferación celular e inducir daño primario en el ADN y sobre los cromosomas (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Rodríguez-Mercado *et al.*, 2019).

1.4. Indio (In)

1.4.1. Propiedades físicas y químicas

Fue descubierto por Reich y Richter en 1863, el nombre se debe al color azul índigo de su espectro. El In es un metal raro, de color blanco-plateado brillante. Se distribuye ampliamente en la corteza terrestre en pequeñas cantidades (0.1 ppm) y textura extremadamente suave y maleable. Tiene densidad de 7.3 g/mL (a 20 $^\circ\text{C}$), punto de fusión de 156.61 $^\circ\text{C}$, punto de ebullición de 2000 $^\circ\text{C}$ y calor específico de 0.0568 $\text{cal}/\text{g}/^\circ\text{C}$. La mayoría de los compuestos de In son insolubles en agua fría o caliente, son solubles en ácidos y ligeramente solubles en hidróxido de sodio; los cloruros de In y otros haluros son solubles en agua. Hay dos isótopos naturales, el ^{115}In (95.77 %) y el ^{113}In (4.23 %). Puede encontrarse en estados de oxidación I, II,

III, siendo el III el más estable en sistemas acuosos (Repetto y del Peso, 2012; Fowler y Maples-Reynolds, 2015).

Por sus diversos usos los compuestos inorgánicos de mayor interés toxicológico son el fosfuro de indio (InP), arseniuro de indio (InAs), cloruro de indio(III) (InCl₃), óxido de indio (In₂O₃) e hidróxido coloidal de indio ((InOH)₃) (Fowler y Maples-Reynolds, 2015).

1.4.2. Producción y presencia en el ambiente.

El In es el elemento número 61 de abundancia en la tierra, y se estima que está presente en 0.24 mg/kg (Jorgenson y George, 2004). En sedimentos marinos, los encontramos en concentraciones de 74–120 µg/kg (Matthews y Riley, 1970), en sedimentos de lagos presenta cantidades similares de 20–150 µg/kg, en manantiales lo encontramos con 0.1 ng/kg (Grahn *et al.*, 2006; Repetto y del Peso, 2012).

Diversos estudios indican que las concentraciones en agua y suelo son bajas, por ejemplo, se estima un promedio de In en agua marina de aproximadamente <20 µg/L. De la misma forma se sabe que este elemento es escaso en la corteza terrestre ya que sólo forma parte de 1×10^{-5} % de total de esta, se ha estimado que la concentración promedio en el suelo es de 11 µg/kg de peso seco (Fowler y Maples-Reynolds, 2015).

También forma parte de combustibles fósiles como el carbón, en donde la concentración normal es de 1 µg/kg, pero puede llegar hasta 20 µg/kg (Smith *et al.*, 1978). Uno de los principales medios de producción de forma antropogénica de In es como subproducto de la fundición de Zn (Repetto y del Peso, 2012; Fowler y Maples-Reynolds, 2015).

1.4.3. Usos y aplicaciones

Los usos de este metal se encuentran en la industria, especialmente en la producción de materiales semiconductores, soldaduras, aleaciones en componentes de la electrónica óptica y en aleaciones dentales teniendo la función

de agente endurecedor.

Los compuestos derivados de In pueden formar parte de cojinetes para automóviles y colorantes, además se les ha dado uso clínico en el tratamiento contra tumores y exploración de órganos (Fowler y Maples-Reynolds, 2015). El InP y InAs son usados en la manufactura de semiconductores, mientras que el InP es usado en la producción de nanopartículas y nanocables semiconductores y en la elaboración de pantallas LCD (Akaogi *et al.*, 2004; Mikkelsen *et al.*, 2004).

El In se utiliza en distintos campos de la industria como se presenta en el **Cuadro I**.

Cuadro I. Principales usos de distintos compuestos de In en la industria.

Usos	Forma química/Isótopos
Rodamiento de automóviles	Aleación con acero
Esmaltes	^{111}In , ^{114}In
Escaneo de órganos	
Amalgamas dentales	InHg
Dopado de semiconductores para chips de silicón	In con Ga, Al, As, Sb
Semiconductores III-V	InAs, InP, InAlGa
Pantallas de televisión de plasma	InP
Fibra óptica y diodos, LED	
Nanopartículas	InP, InSb, InSnO

Modificado de Fowler y Maples-Raynolds, 2015.

El In se usa ampliamente en la industria optoelectrónica y de semiconductores de alta tecnología para la producción de películas de óxido de In y Sn (ITO) que son componentes de pantallas LCD, celdas de gran eficiencia fotovoltaica, así como luces LED (Li *et al.*, 2011). La película de ITO es una mezcla de 90 % de óxido de

In y 10 % de óxido de estaño. El óxido de In(III) (In_2O_3) se genera por la reacción entre el cloruro de indio(III) (InCl_3) y amoníaco acuoso ($\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$) a alta temperatura y presión (Zhang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2020).

Los principales productores de In son China, Japón, Corea, Canadá y Bélgica (Jorgenson y George, 2005). La producción mundial de 1980 a 2012 muestra incremento, en 1982 fue de más de 50 toneladas, para 2002 se registraron 335 y en 2012 la producción mundial fue de 670 toneladas (**Figura 2**).

1.4.4. Toxicocinética: exposición, absorción y distribución

El contenido de In de las plantas y los tejidos animales consumidos en alimento

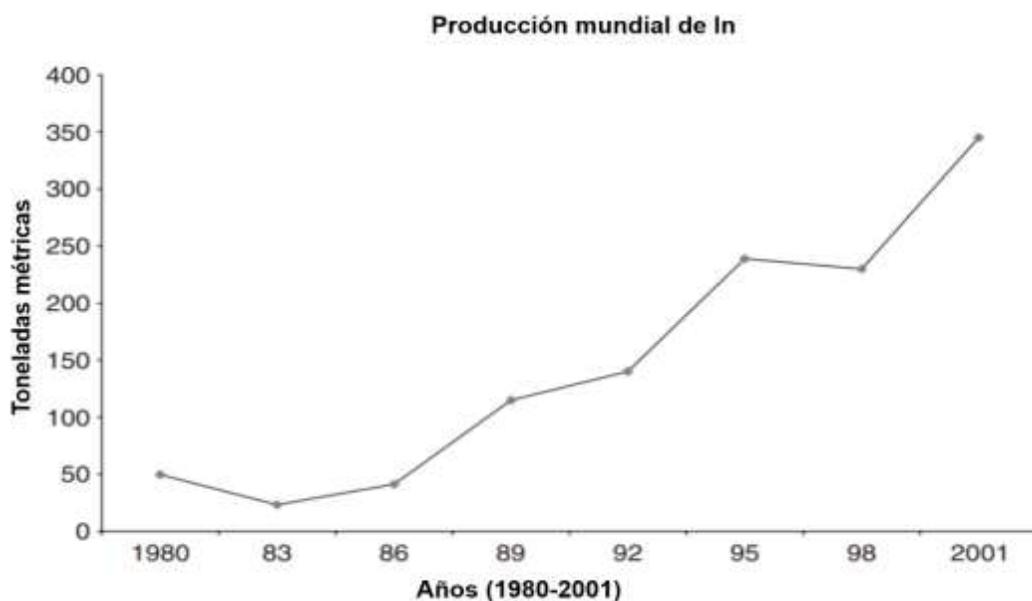


Figura 2. Producción mundial de In de 1980 a 2001 (modificado de Fowler y Maples-Raynolds, 2015).

varía desde niveles donde no es posible detectarlo con las técnicas actuales, hasta 0.01 mg/kg en músculo de res y el jamón; pero, se ha informado que las algas, peces y mariscos recolectados cerca de fuentes de producción de In contienen concentraciones que van desde 0.4-7 mg/kg (algas) hasta 10-15 mg/kg (peces y

mariscos). La ingesta humana diaria promedio de este elemento se ha estimado en alrededor de 8-10 μg por día (Fowler y Maples-Reynolds, 2015).

Otra de las principales formas de exposición humana ocurre durante el manejo y elaboración de distintos materiales que contienen partículas de In, especialmente en la industria de semiconductores y televisores. Los trabajadores encargados de la fabricación de películas de ITO corren el riesgo de sobreexposición al In y sustancias relacionadas, específicamente la exposición a InCl_3 por inhalación (Chonan *et al.*, 2019).

No sólo en la industria se está expuesto a sus partículas, también en diversos tratamientos médicos, antitumorales y análisis clínicos (Flora, 2008).

El Instituto Nacional para la Salud y Seguridad Ocupacional (NIOSH) y la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (ACGIH) establecieron el límite de exposición recomendada de In en aire de 0.1 mg/m^3 (Hines *et al.*, 2013). La Sociedad Japonesa para la Salud Ocupacional (JSHO) ha propuesto el límite de exposición biológica de 0.0003 mg/L de In en suero. El Ministerio Japonés de la Salud, Trabajo y Bienestar un límite 0.0003 mg/m^3 para el In en el aire que se respira (JMHLW, 2013). No hay estándares de agua potable establecidos para el In en los Estados Unidos, pero se ha recomendado que los límites máximos de exposición al aire en el lugar de trabajo sean de 0.1 mg/m^3 (White y Hemond, 2012).

El principal medio por el que entra el In al organismo es por la respiración, por los polvos resultantes de procesos de industria y minería. Sin embargo, es posible que entre al organismo por los alimentos, aunado a lo anterior, existe la posible absorción de nanopartículas por la piel (Maghraoui *et al.*, 2011). Cuando está en los pulmones, si la partícula es muy grande, no puede ser absorbida con facilidad, pero es fagocitado por macrófagos y convertido en partículas más pequeñas, haciendo más fácil que llegue a la sangre. Una vez en el organismo, los iones de In se transportan en la sangre unidos a la transferrina. En gran parte la distribución del In en los tejidos corporales está determinada por la forma química del metal; por

ejemplo, el In iónico tiende a acumularse en el riñón, mientras que las partículas de compuestos de In son más afines a encontrarse en el hígado, el bazo, médula ósea y en tejido retículo endotelial. Este metal es expulsado del organismo por medio de las heces y la orina (**Figura 3**). Fowler y Maples-Reynolds, 2015).

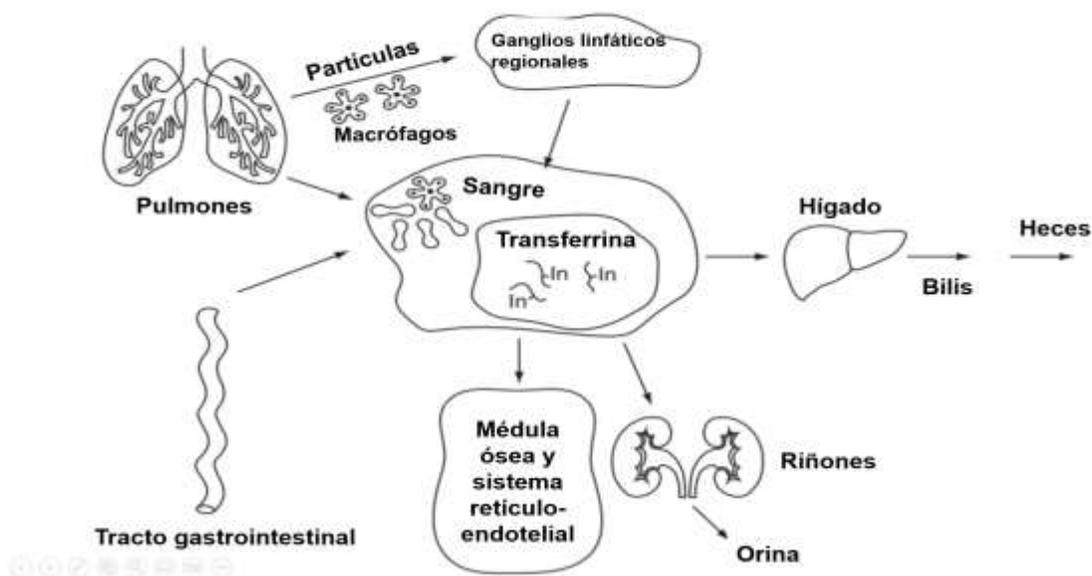


Figura 3. Diagramas de las principales vías de exposición y distribución del In en el organismo (modificado de Fowler y Maples-Raynolds, 2015).

1.4.5. Toxicidad

Se han estimado los valores tóxicos de exposición para algunos compuestos de In en diferentes especies de animales de experimentación, **Cuadro II** (Blazka, 1998).

El In no es esencial para humanos o animales, su toxicidad depende de la vía de exposición o administración y del tipo de compuesto. Las sales son relativamente no tóxicas cuando ingresan al organismo por vía oral, pero generalmente son muy tóxicas si estas son absorbidas por vía subcutánea o intravenosa. Sus compuestos causan inflamación pulmonar, a menudo acompañada de hiperplasia (aumento del crecimiento de células benignas), fibrosis intersticial (cicatrización del tejido entre los alvéolos) y ocasionalmente neumonía (inflamación y llenado de líquido) y enfisema (pérdida de elasticidad que provoca el colapso de las vías respiratorias)

(White y Hemond, 2012). Acumulación del In en el pulmón, así como efectos tóxicos en estos mismos, carcinogenicidad por inhalación y toxicidad crónica inducida por ITO, son algunas de las afecciones demostradas en humanos y en modelos de ratas y ratones (Chonan *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2019; Nagano *et al.*, 2011). Los estudios sugieren que el In en sí mismo es el componente tóxico del ITO porque los trabajadores expuestos sólo al In sufrieron un daño pulmonar similar al de los expuestos al ITO, y porque la exposición al óxido de estaño produce un tipo de daño diferente al de la exposición al ITO (White y Hemond, 2012).

En el modelo de hámster de administración intratraqueal, se ha demostrado que el óxido de In (In_2O_3) causa toxicidad pulmonar similar a la ITO (Tanaka *et al.*, 2010; Bomhard, 2018).

Cuadro II. Toxicidad de distintos compuestos de In determinada en modelos biológicos.

Compuesto (formula química)	Modelo biológico	Compuesto en mg/kg	Indio puro en mg/kg	Ruta de administración	Dosis
Trióxido de indio (In_2O_3)	Ratón	479	396	ip	DI ₅₀
	Ratón	5005	4137	ip	DI ₁₀₀
	Rata	1156	955	ip	DI ₁₀₀
Trióxido de indio hidratado ($\text{In}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	Ratón	0.4	0.3	iv	DI ₅₀
Hidróxido de indio ($\text{In}(\text{OH})_3$)	Ratón	0.9	0.6	iv	DI ₅₀
	Ratón	1.6	1.1	iv	DI ₁₀₀
Tricloruro de indio (InCl_3)	Perro	1	0.5	iv	DI ₁₀₀
	Ratón	24.3	12.6	iv	DI ₅₀
	Ratón	5	2.6	ip	DI ₅₀
	Rata	4200	2180	o	DI ₅₀

	Rata	7.9	4.1	iv	DI ₅₀
	Rata	3.5	1.8	ip	DI ₅₀
	Rata	6.4	3.3	ip	DI ₁₀₀
	Conejo	21.38	1110	o	DI ₅₀
	Conejo	0.6	0.3	iv	DI ₁₀₀
	Conejo	8.9	4.6	ip	DI ₁₀₀
Nitrato de indio (In(NO ₃) ₃)	Ratón	3350	1279	o	DI ₅₀
	Ratón	7.5	2.9	ip	DI ₅₀
	Ratón	100	38.2	ip	DI ₁₀₀
	Rata	5.5	2.1	ip	DI ₅₀
Sulfato de indio (In ₂ (SO ₄) ₃)	Rata	22.5	10	sb	DI ₅₀
	Rata	28.3	12.5	sb	DI ₁₀₀
	Rata	5.6	2.5	iv	DI ₅₀
	Rata	28.5	12.6	iv	DI ₅₀
	Rata	40.5	18	ip	DI ₁₀₀
	Conejo	2.5	1.1	sb	DI ₁₀₀
	Conejo	9.7	4.3	ip	DI ₁₀₀
Citrato de indio (In(C ₆ H ₅ O ₇) ₃)	Ratón	600	101	sb	DI ₅₀
Antimoniuro de indio (InSb)	Ratón	4770	1800	ip	DI ₅₀
	Ratón	5974	2900	ip	DI ₁₀₀

DI₅₀, dosis letal 50; DI₁₀₀, dosis letal 100; ip, intraperitoneal; iv, intravenosa; o, oral; sb, subcutánea.

Modificado de Blazka, 1998.

Los estudios *in vitro* también han propuesto que el ITO y el In_2O_3 podrían provocar mutagenicidad y genotoxicidad según los resultados del ensayo de mutación inversa bacteriana revisado (prueba de Ames), el ensayo de transformación de células Bhas 42 y la prueba de micronúcleos (MN) (Akyil *et al.*, 2016; Hasegawa *et al.*, 2012; Bomhard, 2018).

Tanto el óxido de In como el ITO inducen citotoxicidad y respuestas proinflamatorias en macrófagos (Olgun *et al.*, 2017; Badding *et al.*, 2015). Sin embargo, el efecto tóxico de InCl_3 , que es la principal fuente de ITO y óxido de In, sobre los macrófagos no está claro.

Dentro de sus antecedentes toxicológicos, se encuentra el estudio de Lin *et al.* (2011), quienes encontraron que el InCl_3 aplicado a fibroblastos (*in vitro*) de pulmón de hámster chino (células V79) incremento significativamente la frecuencia de MN en las concentraciones que van de 0.1 a 1 μM , de manera dosis-dependiente. Takagi *et al.* (2011) administraron a ratones macho BALB/c vía ip. con 0.625, 1.25, 2.5, 5 y 10 mg/kg de peso corporal (pc) de InCl_3 , donde observaron incremento en la frecuencia de MN en médula ósea que mostró comportamiento dosis-dependiente. De la misma forma disminuyó la presencia de EPC y el pc.

1.5. Ácido desoxirribonucleico (ADN)

El ácido desoxirribonucleico es la molécula que contiene la información genética de todos los seres vivos, incluso algunos virus. El nombre viene de su estructura. La molécula de ADN consiste en dos cadenas que se complementan entre ellas para formar una estructura de doble hélice. Este polímero está constituido por nucleótidos y cada uno formado por azúcares (desoxirribosa) y grupos fosfato. Unida a cada azúcar hay una de las siguientes 4 bases: adenina (A), citosina (C), guanina (G), y timina (T). Las dos cadenas se mantienen unidas por puentes de hidrógeno entre las bases; la adenina es complementaria con la timina, y la citosina con la guanina (Velázquez *et al.*, 2014).

Dentro de las propiedades importantes del ADN es que se puede replicar o hacer copias de sí mismo. Cada hebra de ADN en la doble hélice puede servir como patrón para duplicar la secuencia de bases. Esto es fundamental cuando las células se dividen, porque la nueva célula necesita tener una copia exacta del ADN de la célula progenitora (Velázquez *et al.*, 2014).

La secuencia de estas bases a lo largo de la cadena es lo que codifica las instrucciones para formar moléculas de ARN o proteínas (Velázquez *et al.*, 2014; Watson, 2018).

1.5.1. Daño al ADN y cromosómico

La división celular se divide en interfase, donde el ADN lo encontramos lazo formando eucromatina y heterocromatina dependiendo de su nivel de compactación y en la fase de división (también conocida como M), momento donde el ADN está en su máximo nivel de compactación formando cromosomas. Dado que paso por la fase de síntesis ahora el cromosoma estará constituida por dos cromátidas hermanas (Esparza-García *et al.*, 2017)

La estructura de un cromosoma consiste en dos brazos (denominados corto o “p” y largo o “q”) unidos por una constricción primaria llamada centrómero. Según la localización de éste, se clasifican en: metacéntrico, cuando el centrómero divide al cromosoma a la mitad y los brazos p y q se visualizan del mismo tamaño; submetacéntrico: el centrómero se observa de tal manera que es fácil diferenciar el brazo p del q; acrocéntrico: sólo se observa una pequeña porción del brazo p (satélites); telocéntrico: no se presenta el brazo p (Esparza-García *et al.*, 2017).

El complemento cromosómico normal (diploide) en las células somáticas humanas es de 46, que resulta de la unión de dos gametos haploides ($n = 23$). En ratón es de 40 cromosomas acrocéntricos resultantes de la unión de dos gametos ($n = 20$) (Esparza-García *et al.*, 2017).

Los cromosomas pueden sufrir daño por distintas vías y la prueba más certera para la evaluación del daño sobre los cromosomas son las aberraciones cromosómicas (AC) (Bryant, 1997). Las alteraciones en el ADN y las estructuras encargadas de su

correcta segregación en el interior de la célula desencadenan dos principales tipos de aberraciones cromosómicas: las numéricas (ACN) y las estructurales (ACE).

Las ACN son aquellas que hacen referencia a las anomalías relacionadas con la pérdida o ganancia de cromosomas o juegos completos de ellos. Entre ellas encontramos a las poliploidías, que son el incremento en juegos completos de cromosomas, por ejemplo, triploidía en ratón que tiene 60 cromosomas ($3n$) o tetraploidía con 80 cromosomas ($4n$). También están las aneuploidías, las cuales son ganancia o pérdida de un cromosoma o pareja de estos, entre estos casos encontramos la ganancia de un cromosoma llamada trisomía, la pérdida de un cromosoma llamada monosomía o la pérdida del par de cromosomas llamada nulosomía (Esparza-García *et al.*, 2017).

Por otro lado, las ACE se refieren a cuando la morfología del cromosoma sufre alteraciones que modifican su estado normal. Los reordenamientos estructurales implican rupturas y uniones cromosómicas, ya sea en un mismo cromosoma o entre dos o más de ellos, resultando en complementos balanceados o no balanceados. Como resultado de estas aberraciones encontramos las deleciones (pérdida de fragmento de cromosomas), translocaciones (intercambio entre dos regiones de cromosomas), inversiones (rotación entre los extremos de una región de un cromosoma), anillos cromosómicos, entre otros. (Esparza-García *et al.*, 2017).

Hay dos tipos de mecanismos que causan daño sobre los cromosomas, que además son empleados como otros bioindicadores de genotoxicidad, estos son (Torres-Bugarin y Ramos-Ibarra, 2013):

- Daño clastogénico, causado por todo aquel agente el cual provoca daños estructurales sobre la conformación del cromosoma, principal responsable de aberraciones estructurales.
- Daño aneuploigéno, generado por agentes que provocan alteración en la estructura y función del mecanismo encargado del anclaje de los

cromosomas durante la anafase. Es considerado como el causante de las aberraciones numéricas.

Estos dos tipos de daño adquieren importancia para el estudio de la genotoxicidad debido a que son el principal causante de la formación de MN (Kirsch-Volders *et al.*, 2011).

Estos dos adquieren importancia para el estudio de la genotoxicidad debido a que estos tipos de daño son el principal causante de la formación de MN (Kirsch-Volders *et al.*, 2011).

1.6. El ratón como modelo biológico

Los ratones son utilizados como modelos en distintas áreas de investigación incluyendo la del cáncer, la inmunología, la biología del desarrollo, **toxicología**, entre muchas otras. El ratón doméstico de Europa y Norte América (*Mus musculus*) es miembro del orden Rodentia, familia Muridae y subfamilia Murinae.

Las ventajas de este modelo son numerosas, por ejemplo: es pequeño, relativamente económico, fácil de conseguir, de criar y alimentar, su ciclo de vida es corto y forma camadas numerosas, su genoma está descrito, se ha acumulado mucho conocimiento sobre la fisiología, la anatomía y sus genes, las enfermedades de los ratones que también afectan a los humanos (Suckow *et al.*, 2001).

Al emplear al modelo murino como sistema de prueba *in vivo*, se pueden evaluar diversos parámetros de toxicidad en distintos tejidos, destacando la médula ósea y la sangre para pruebas de genotoxicidad (Suckow *et al.*, 2001).

1.7. Toxicología

La toxicología se puede definir como la disciplina que se encarga del estudio, identificación y cuantificación de los efectos resultantes entre la interacción de los agentes químicos sintéticos o naturales sobre los sistemas biológicos. La mayoría de estos agentes cuando entran al organismo en concentraciones más altas a las habituales tienden a desencadenar reacciones biológicas que resultan peligrosas

para la salud, la reproducción y el desarrollo (Repetto y Repetto, 2009; Guitart y Giménez, 2012).

Comprende distintas disciplinas y especialidades, entre ellas se encuentra la toxicología genética, cuyo objetivo primordial es la detección, análisis y el entendimiento de los efectos perjudiciales de agentes químicos, físicos y biológicos sobre el material genético, conocida como **genotoxicidad**. Se apoya de distintas pruebas para explorar el **daño sobre el ADN y los cromosomas**, entre ellas encontramos al ensayo de **micronúcleos *in vivo***, que resulta muy confiable y rápida (Repetto y Repetto, 2009; Guitart y Giménez, 2012).

1.8. Ensayo de micronúcleos (MN)

Los MN, llamados también cuerpos de Howell-Jolly fueron identificados a finales del siglo XIX en precursores de eritrocitos por William Howell y Justin Jolly, los cuales se describieron como restos de núcleos de eritrocitos que circulan en órganos con patologías (Sears y Udden, 2011).

Inicialmente, en preparaciones citogenéticas de cultivos de linfocitos humanos se usó tinción con Giemsa para identificación de MN (Countryman y Heddle, 1976), después Hayashi (1983) implementó la técnica por tinción con naranja de acridina (NA) en células de sangre periférica de ratón, la cual permite diferenciar los eritrocitos maduros o eritrocitos normocromáticos (ENC) de los reticulocitos o eritrocitos policromáticos (EPC) (Fenech, 1985).

Los MN son pequeños cuerpos citoplasmáticos que contienen cromatina, surgen de fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que no se incorporaron a los núcleos de las células hijas después de la mitosis. Los MN se forman en células en división, en el caso de la eritropoyesis, en los eritroblastos. Son fáciles de identificar en eritrocitos de mamíferos debido a la ausencia del núcleo principal, **Figura 4** (Custer *et al.*, 2016).

Los principales criterios de evaluación para considerar un MN son que la forma y la coloración deben ser distinguibles, el tamaño debe alcanzar entre 1/20 a 1/5 de las dimensiones del eritrocito, pero menos de un tercio del tamaño de un núcleo, poseer

forma generalmente redonda con su contorno claramente definido, bien teñido y de color similar a los núcleos de otras células, debe estar en el mismo plano focal que la célula analizada, no tener estructuras internas y no debe haber residuos similares a MN en el área cercana a la célula (Custer *et al.*, 2016).

El ensayo de MN es considerado práctico, universalmente validado, accesible tecnológicamente y muy útil para evaluar la inestabilidad genética inducida por agentes con actividad genotóxica (Cveticanin *et al.*, 2009; Lal y Ames, 2011; Nai *et al.*, 2015), además permite conocer de forma indirecta la inducción a aberraciones cromosómicas numéricas y estructurales (Mavournin *et al.*, 1990).

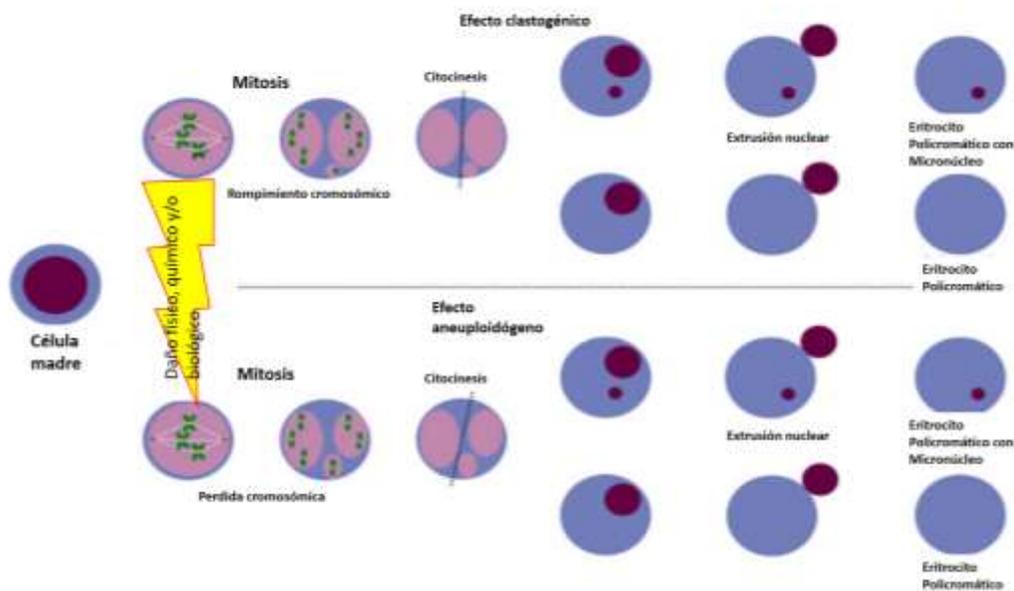


Figura 4. Proceso de formación de MN (modificada de Sierra y Gaivao, 2014).

Una de las ventajas que nos permite evaluar MN en EPC teñidos con NA, en sangre periférica de ratón, es que en las mismas preparaciones se puede determinar la citotoxicidad, debido a que este colorante se intercala en el ADN, dando fluorescencia de color verde. También se une al ARN, pero debido a que no puede intercalarse se tiñe de anaranjado a rojo. Por lo tanto, todos los eritrocitos jóvenes,

llamados reticulocitos o EPC, al tener actividad ribosómica estarán teñidos de color rojo; mientras que las células maduras o ENC, ya no presentan ribosomas y tampoco presentan fluorescencia (McGahon *et al.*, 1995).

Al ver a los eritrocitos en estas dos etapas de maduración se puede hacer el conteo de ambos y evaluar si se modificó la proliferación celular por acción de un agente tóxico. Entre menor sea el número de EPC en sangre periférica, mayor fue el efecto citotóxico sobre la proliferación.

1.8.1. Mecanismos de formación de MN

La formación de MN se da por la ruptura o fragmentación de los cromosomas, que se denomina daño clastógeno, o por fallas de las estructuras encargadas de la correcta segregación de los mismos a los polos opuestos durante la anafase, también denominado daño aneuploidógeno. Dichos cromosomas o sus fragmentos se condensan por separado del núcleo principal durante la telofase, formando una estructura circular y pequeña en las células, fuera del núcleo principal (Kirsch-Volders *et al.*, 2011).

Entre los mecanismos clastogénicos tenemos ruptura de cadena doble o fallos en los mecanismos de reparación por escisión o por recombinación, por otro lado, el daño aneuploidógeno se da por anomalías en la formación del huso mitótico durante la división celular, daño en el cinetocoro, hipometilación del ADN centromérico y defectos en el sistema de control del ciclo celular (Fenech *et al.*, 2011). Los MN albergan fragmentos cromosómicos, los cuales pueden surgir por rotura directa de ADN de doble cadena, conversión de roturas de cadena sencilla en roturas de doble cadena por defectos durante la reparación o inhibición de la síntesis de ADN. Además, estos pueden tener su origen de fragmentos derivados de puentes anafásicos rotos formados debido a reordenamientos cromosómicos como cromátidas dicéntricas, cromosomas en anillo entremezclados o unión de cromátidas hermanas (Norppa y Falck, 2003).

Los MN también pueden resultar de la amplificación de genes a través de ciclos de ruptura-fusión-puente (BFB) cuando el ADN amplificado se localiza selectivamente en sitios específicos en la periferia del núcleo y que se elimina a través de la gemación nuclear (NBUD) durante la fase S del ciclo celular (Fenech *et al.*, 2011).

La formación de MN son resultado de un amplio espectro de mecanismos, tanto genéticos como epigenéticos, pueden ser generados de la exposición a agentes clastógenos o aneuploidógenos, o ser formado espontáneamente como mecanismo de defensa o como aporte a la diferenciación celular (Kirsch-Volders *et al.*, 2011).

1.9. Hematopoyesis y eritropoyesis en mamíferos

La hematopoyesis se refiere al proceso de formación, desarrollo y maduración de las células presentes en la sangre a partir de un precursor celular común e indiferenciado llamado célula madre hematopoyética multipotente. Entre el tipo de células a las que dan origen encontramos linfocitos, basófilos, macrófagos, eosinófilos, neutrófilos, plaquetas y eritrocitos (Díaz *et al.*, 2001; Mayani *et al.*, 2012).

En condiciones normales existe coordinación entre su formación y su destrucción. Las células sanguíneas viven en promedio 120 días, los granulocitos 6 a 8 h, y las plaquetas 7 a 10 días, mientras que los linfocitos pueden tener una vida muy prolongada, algunos sobreviven años, por ejemplo, hay linfocitos B en reposos que pueden vivir de 20 a 30 años. Para mantener las cifras normales de células sanguíneas es necesario que se estén produciendo constantemente células nuevas (Díaz *et al.*, 2001).

En el adulto, la hematopoyesis tiene lugar en la médula ósea localizada en los huesos planos del esqueleto axial (cráneo, costillas, esternón, vértebras y pelvis) y en algunas epífisis de los huesos largos (fémur, húmero). La cantidad de médula hematopoyética varía a lo largo de los años, siendo al comienzo de la edad adulta 75 % del total de la celularidad medular, y descendiendo hasta 25 % en la vejez, donde la grasa medular aumenta hasta 75 % (Díaz *et al.*, 2001)

La hematopoyesis se desarrolla a partir de las células troncales hematopoyéticas o “hematopietic stem cells” (HSC, por sus siglas en inglés) de origen mesenquimal, que representan 0.01 % de la celularidad medular. Estas células no son identificables morfológicamente, son células multipotenciales con capacidad de dividirse y derivar hacia cualquier línea hematopoyética (mieloide o linfoide) y con alta capacidad de autorrenovación (Mayani *et al.*, 2012).

Al igual que el resto de la hematopoyesis, la mielopoyesis toma lugar dentro de la médula ósea, sitio en donde las células troncales hematopoyéticas dan lugar a los progenitores mieloides comunes. Son células de alta capacidad proliferativa pero incapaces de autorenovarse. Este progenitor es capaz de diferenciarse en dos linajes específicos, tales como los progenitores granulo-monocitos y los progenitores eritroides-megacariocitos (PEM), esta última siendo la ruta de formación de eritrocitos (Mayani *et al.*, 2012).

La eritropoyesis es un proceso complejo dinámico de varios pasos que implica la diferenciación de los precursores eritroides en glóbulos rojos enucleados. Conlleva la producción, maduración y desarrollo de eritrocitos en específico. A partir del nacimiento, la eritropoyesis tiene lugar ya en la médula ósea y termina con los EPC madurando en la sangre en circulación (**Figura 5**) (Díaz *et al.*, 2001).

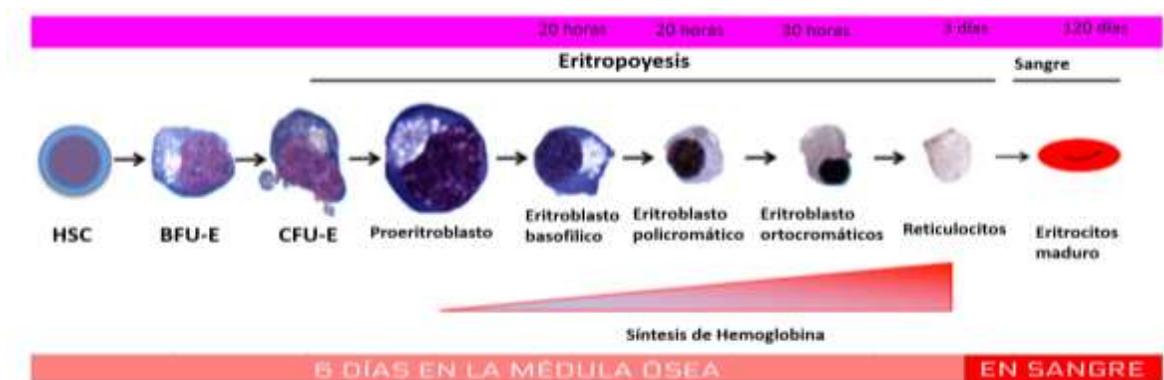


Figura 5. Proceso de eritropoyesis y tiempo en médula ósea y sangre (modificado de Zivot *et al.*, 2018).

Los progenitores eritroides más primitivos se sitúan entre las células troncales hematopoyéticas y la primera célula morfológica distinguible de estirpe eritroide, denominadas unidades formadoras de brotes eritroides (BFU-E, por sus siglas en inglés), las cuales mantienen la pequeña capacidad para la autorrenovación y alta tasa de proliferación en respuesta a citocinas apropiadas, debido a que originan colonias de más de 30000–40000 células en 14–16 días; mientras que los progenitores eritroides más maduros, denominados unidades formadoras de colonias eritroides (CFU-E, por sus siglas en inglés) tienen limitado potencial de proliferación, debido a que forman colonia eritroides que forman 8–65 células en 7 días (Díaz *et al.*, 2001; Mayani *et al.*, 2012).

Estos progenitores dan lugar a precursores eritroides, dentro de los que se incluyen proeritroblastos, eritroblastos basófilos, eritroblastos policromatófilos, eritroblastos ortocromáticos, y reticulocitos; estos últimos, a su vez, dan origen a los eritrocitos (Mayani *et al.*, 2012).

Los precursores eritroides son células que se identifican morfológicamente y estos son los criterios que se utilizan para su clasificación:

- El precursor más temprano es el proeritroblasto que tras 4 o 5 divisiones mitóticas y cambios morfológicos da origen a la célula eritroide madura. El proeritroblasto es una célula grande, núcleo redondo y central con alta relación núcleo citoplasma, cromatina finamente reticulada y citoplasma intensamente basófilo.
- Le sigue el eritroblasto basófilo, célula de menor tamaño con cromatina algo más madura, menor relación núcleo-citoplasma y citoplasma basófilo.
- El eritroblasto policromático tiene un tamaño inferior, también núcleo redondo y central, pero con cromatina fuertemente condensada, y citoplasma que va perdiendo la basofilia y adquiriendo tonalidad gris rosada por el inicio progresivo de la síntesis de hemoglobina.
- El eritroblasto ortocromático tiene tamaño pequeño, núcleo intensamente picnótico y con cromatina muy condensada, el citoplasma acidófilo aumenta el contenido hemoglobínico hasta presentar la tonalidad del eritrocito

maduro. El núcleo, una vez finalizada su maduración, es expulsado de la célula y el eritroblasto ortocromático se transforma en reticulocito.

- El reticulocito o EPC posee ARN y cierta capacidad para síntesis de proteínas y hemoglobina por la persistencia de algunas mitocondrias, ribosomas y restos de retículo endoplásmico.
- El hematíe o ENC es el elemento más maduro de la eritropoyesis, escaso o nulo ARN en su citoplasma. Su misión fundamental es la captación de oxígeno y su transporte a los tejidos. Son elementos anucleados, de color rosado y de forma redondeada y oval, con una depresión o zona más clara en el centro.

El proceso donde se pierde el núcleo se da en el eritroblasto ortocromático, donde una división asimétrica da lugar a 2 células hijas, una con el núcleo y muy poco citoplasma llamado pirenocito, y otra con la mayoría del citoplasma llamada eritrocito policromático (Díaz *et al.*, 2001; Mayani *et al.*, 2012).

En modelos murinos existen ligeras diferencias con respecto al humano, en estado estacionario, los humanos adultos producen más de 2.5×10^6 eritrocitos por segundo, mientras que los ratones adultos producen aproximadamente 7000 eritrocitos por segundo. Otra diferencia importante es que durante el desarrollo embrionario la eritropoyesis se da en el hígado, posteriormente en el vaso (6 semanas) y al final en la médula ósea. Y más importante es el hecho de que es posible detectar MN en sangre periférica en ratones, debido a que los eritrocitos circundantes en la sangre periférica no son filtrados y eliminados en el bazo, como sucede con la sangre en humanos (Palis, 2014; Myneni *et al.*, 2021).

2. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la exposición a Tl e In es constante debido a sus usos en la industria, la medicina, la alimentación o como residuo de otros procesos.

El Tl ha despertado interés en las últimas décadas, lo que ha permitido ampliar la información sobre los efectos de este metal y la de sus compuestos en los organismos. Las investigaciones tienden a enfocarse al estado de oxidación I, lo que ha conducido a que la información del estado de oxidación III sea escasa y los datos disponibles sobre la toxicidad del Tl(III) muestran que es menos tóxico para humanos y mamíferos que el Tl(I) (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano 2013). Sin embargo, el Tl(III) no deja de ser riesgoso para la salud por su liberación y presencia en el ambiente (NIOSH 2005).

Por otro lado, la toxicidad por inhalación de partículas de In ha sido confirmada en varios experimentos utilizando modelos murinos, donde se demuestra que afecta el pulmón provocando inflamación, fibrosis y carcinogénesis, razón por la cual la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC, 2006) lo coloca como posible carcinógeno humano.

A pesar de que el Tl y el In son objeto reciente de investigación, pocos estudios abordan la toxicidad de ambos metales en su forma III, especialmente los efectos que estos pueden provocar en el material genético en modelos *in vivo*. Por lo cual, se plantea evaluar la toxicidad del Tl e In en estado de oxidación III sobre las células de sangre periférica de un modelo *in vivo*, con la finalidad de conocer sus efectos citotóxicos y genotóxicos, así como la toxicocinética a corto plazo utilizando el ensayo de MN.

Por lo anterior, la pregunta a resolver del presente estudio es:

¿La exposición a Tl e In en estado de oxidación III produce daño celular y genético en ratones?

3. HIPÓTESIS

El Tl e In han demostrado tener la capacidad de inducir el daño celular y genético principalmente en modelos *in vitro*; sin embargo, se conoce que el daño puede variar de acuerdo con el estado de oxidación del metal. Por lo anterior, se espera que la administración vía intraperitoneal (ip) de compuestos en estado de oxidación III de Tl e In ($TlCl_3$ e $InCl_3$) produzca efectos citotóxicos y genotóxicos sobre las células de la sangre periférica de ratón y que la intensidad de los efectos esté determinada por la dosis del compuesto, encontrando el pico máximo de daño genético (MN) entre las 24 a 60 h después de la administración del compuesto.

4. OBJETIVOS

4.1. General

Evaluar el efecto citotóxico y genotóxico del $TiCl_3$ y del $InCl_3$ en células de sangre periférica de ratón macho de la cepa CD-1 utilizando el ensayo de MN.

4.2. Particulares

- Evaluar la viabilidad de leucocitos de sangre periférica a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de distintas subdosis de la DI_{50} (1/2, 1/4 y 1/8) de los compuestos $TiCl_3$ (DI_{50} 36.48 mg/kg) y $InCl_3$ (DI_{50} 5 mg/kg), empleando la tinción fluorescente de naranja de acridina con bromuro de etidio (NA-BE).
- Evaluar el efecto citotóxico con las diferentes dosis y tiempos de exposición del $TiCl_3$ y $InCl_3$, mediante el conteo de EPC con respecto al total de 2000 eritrocitos teñidos con NA.
- Determinar el efecto genotóxico inducido por $TiCl_3$ y $InCl_3$ a las mismas dosis y tiempos de exposición mediante la frecuencia de MN.
- Determinar la relación dosis-efecto en los parámetros evaluados.

5. MATERIAL Y MÉTODO

5.1. Animales

Se trabajaron con 35 ratones macho de la cepa CD1 jóvenes de entre 8 y 12 semanas de edad con un peso no mayor a 40 g. Los animales se colocaron en grupos de 5 para su aclimatación. Se mantuvieron a períodos 12–12 h de luz-obscuridad, temperatura de 22 ± 1 °C y 45 % de humedad, con acceso libre a comida (Harlan Laboratories 2018S) y agua. Se siguieron las condiciones de bioterio establecidas por la NOM-ZOO-062-1999.

5.2. Reactivos

Cloruro de talio(III) (TlCl_3 , CAS No. 13453-33-3), cloruro de indio(III) (InCl_3 , Cas. No. 10025-82-8), naranja de acridina (CAS No. 10127-02-3) y bromuro de etidio (CAS No. 1239-45-8), de la marca Sigma Aldrich Chemicals Co. (St. Louis, MO, USA). La Inhepar (heparina) se obtuvo de la farmacéutica de PiSA[®] México y esmalte de marca comercial (como sellador para las preparaciones de MN).

5.3. Diseño experimental

Se trabajó con 7 grupos de 5 ratones cada uno, los cuales fueron tratados de acuerdo a como se muestra en el **Cuadro III**.

Cuadro III. Distribución de los grupos tratados vía ip con las distintas dosis de TlCl_3 e InCl_3 .

Grupos para TlCl_3	Grupos para InCl_3
Grupo 1. Testigo negativo con agua inyectable.	
Grupo 2. Administración de 4.56 mg/kg de pc de TlCl_3 (1/8 de la DI_{50}).	Grupo 5. Administración de 0.625 mg/kg de pc de InCl_3 (1/8 de la DI_{50}).
Grupo 3. Administración de 9.12 mg/kg de pc de TlCl_3 (1/4 de la DI_{50}).	Grupo 6. Administración de 1.25 mg/kg de pc de InCl_3 (1/4 de la DI_{50}).
Grupo 4. Administración de 18.24 mg/kg de pc de TlCl_3 (1/2 de la DI_{50}).	Grupo 7. Administración de 2.5 mg/kg de pc de InCl_3 (1/2 de la DI_{50}).

pc, peso corporal; dl_{50} del TlCl_3 : 36.48 mg/kg; dl_{50} del InCl_3 dl_{50} : 5 mg/kg.

5.4. Obtención de muestra

La muestra de sangre se obtuvo de la cola de los ratones, se tomó en 4 distintos tiempos: antes de la administración del compuesto para ser control negativo del mismo individuo (0 h) y a las 24, 48 y 72 h después, como se muestra en la **Figura 6**. Se hizo un pequeño corte en la punta de la cola del ratón con unas tijeras de punta fina y con una micropipeta con puntas heparinizadas se tomaron 30 μL de sangre, de los cuales se utilizaron 10 μL para la prueba de viabilidad y 20 μL para el ensayo de MN.

Al término de los experimentos todos los animales se sacrificaron en la cámara de CO_2 , siguiendo los protocolos del Bioterio.

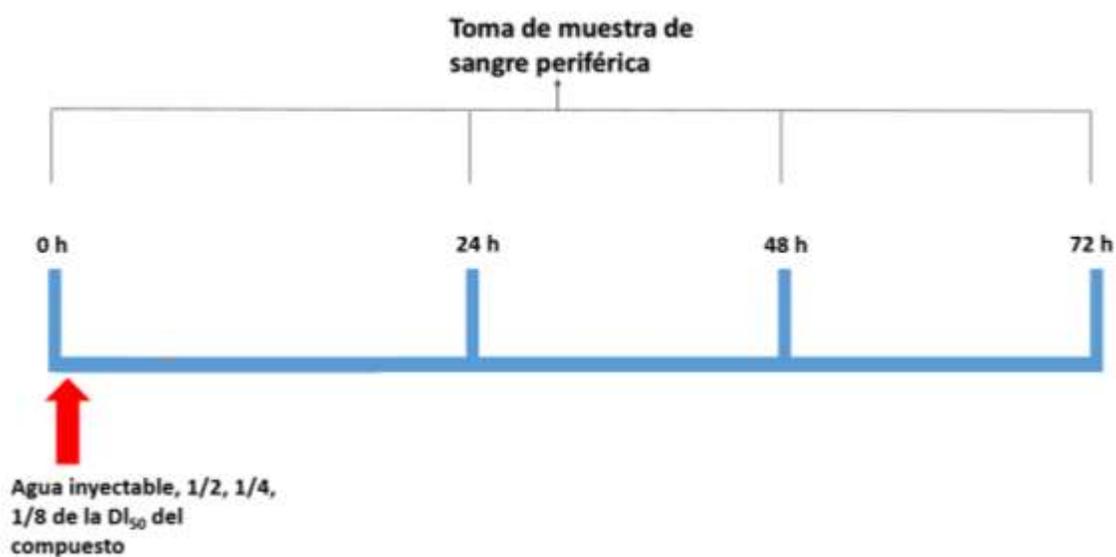


Figura 6. Protocolo de administración de los compuestos metálicos, TlCl_3 o InCl_3 , y obtención de las muestras.

5.5. Prueba de viabilidad

Se mezclaron 10 μL de sangre con 4 μL de la mezcla 1:1 de NA (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) BE (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), la suspensión de células con colorantes se colocó en un portaobjetos y se extendió con un cubreobjetos.

5.5.1. Evaluación de la viabilidad

La viabilidad se evaluó con ayuda de un microscopio de fluorescencia con filtro de excitación azul (480 nm) y objetivo 40x. Se cuantificaron 200 leucocitos por muestra de cada tiempo de exposición de cada ratón. Se registraron el número de células viables, apoptóticas y las necróticas de acuerdo con la morfología y a la tinción descrita en la literatura, como se muestra en la **Figura 7** (McGanon *et al.*, 1995; García-Rodríguez *et al.*, 2016).

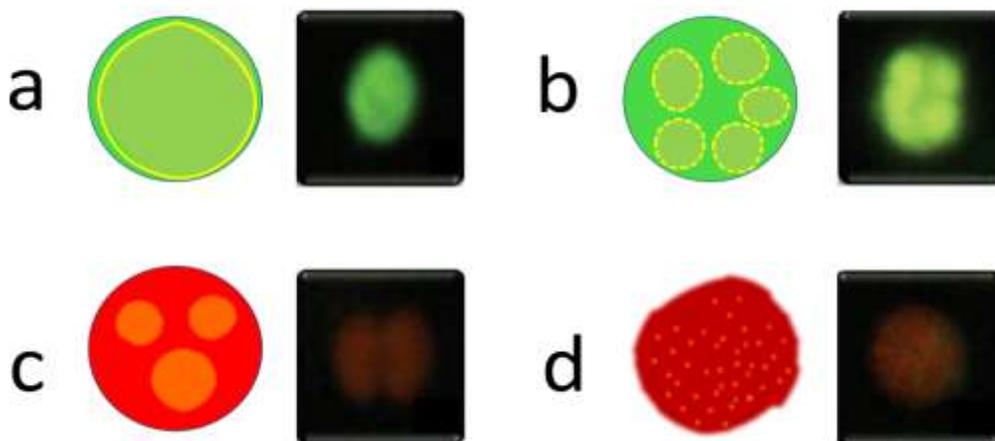


Figura 7. Leucocitos de sangre completa de ratón, teñidos con NA-BE; a la izquierda esquema y a la derecha fotografía. Célula viable (a), célula en apoptosis temprana (b), célula en apoptosis tardía (c) y célula necrótica (d) (McGanon *et al.*, 1995; García-Rodríguez *et al.*, 2016).

5.6. Ensayo de MN

Para el ensayo de MN, primero se prepararon las laminillas con la NA. Portaobjetos limpios se calentaron en una parrilla a 70 °C, inmediatamente después se les colocó 20 μ L de NA (1 mg/mL) y se extendió por barrido con ayuda de otro portaobjetos, de tal forma que quedará una fina capa en la laminilla. Se guardaron en oscuridad hasta el día de su uso.

Se utilizaron dos laminillas con NA por cada muestra de sangre de cada ratón. En cada laminilla se colocaron 10 μ L de sangre, se colocó un cubreobjetos (24 x 50 mm), se selló con esmalte, las preparaciones se guardaron en una caja de plástico para portaobjetos y se mantuvieron en refrigeración protegidas de la luz por lo menos 24 h.

5.6.1. Evaluación de MN

Las laminillas se evaluaron en microscopio de fluorescencia con el objetivo de 100x y el filtro de excitación azul (a 480 nm). Se cuantificaron 2000 eritrocitos distinguiendo los EPC de los ENC y en 2000 EPC se determinó la frecuencia de MN.

5.7. Análisis estadístico

A todos los resultados se les calculó la media (\bar{X}) y la desviación estándar (DE). Los datos de viabilidad celular se analizaron con la prueba de *ji*-cuadrada, mientras que a los de proliferación de EPC y MN se les aplicó el análisis de varianzas (ANOVA) seguido de la prueba *post hoc* de Tukey. Se utilizó el paquete estadístico SigmaPlot® y las diferencias significativas se consideraron con $p < 0.05$.

6. RESULTADOS

6.1. Evaluación de la viabilidad celular

En resultados obtenidos con la prueba de viabilidad de las muestras de leucocitos teñidos con NA-BE de los ratones tratados con las diferentes dosis de $TiCl_3$ durante 24, 48 o 72 h, no se observaron cambios comparado con el grupo testigo negativo, donde la viabilidad fue mayor al 93 y 95 %, respectivamente (**Figura 8A**). Aunado a lo anterior, tampoco se observó aumento en el porcentaje de células apoptóticas (**Figura 9A**) o necróticas (**Figura 10A**), en ninguno de los tiempos de exposición (Cuadro IV, en Anexos).

Los resultados de las muestras de leucocitos de los ratones tratados con $InCl_3$ tampoco mostraron cambios al ser comparados con el grupo testigo negativo, la viabilidad en todos los casos fue superior al 92 % (**Figura 8B**), donde el porcentaje de células apoptóticas (**Figura 9B**) y necróticas (**Figura 10B**) se mantuvieron en el rango del grupo testigo (Cuadro IV, en Anexo).

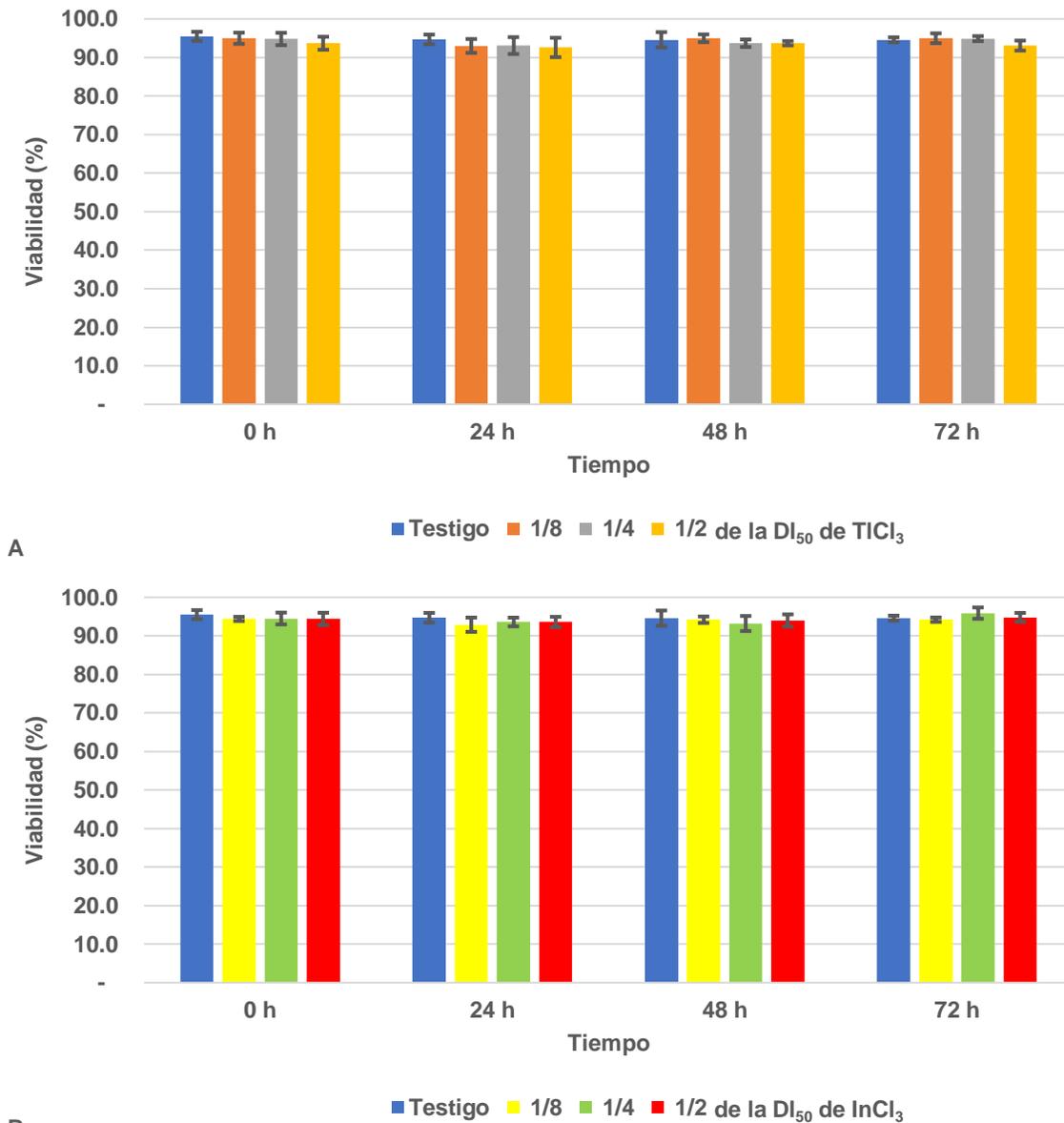


Figura 8. Viabilidad de los leucocitos de ratones de la cepa CD-1 teñidos con NA-BE 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI₅₀ de **TICl₃** (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI₅₀ de **InCl₃** (B). Los valores son la $\bar{X} \pm DE$, de 5 animales por dosis.

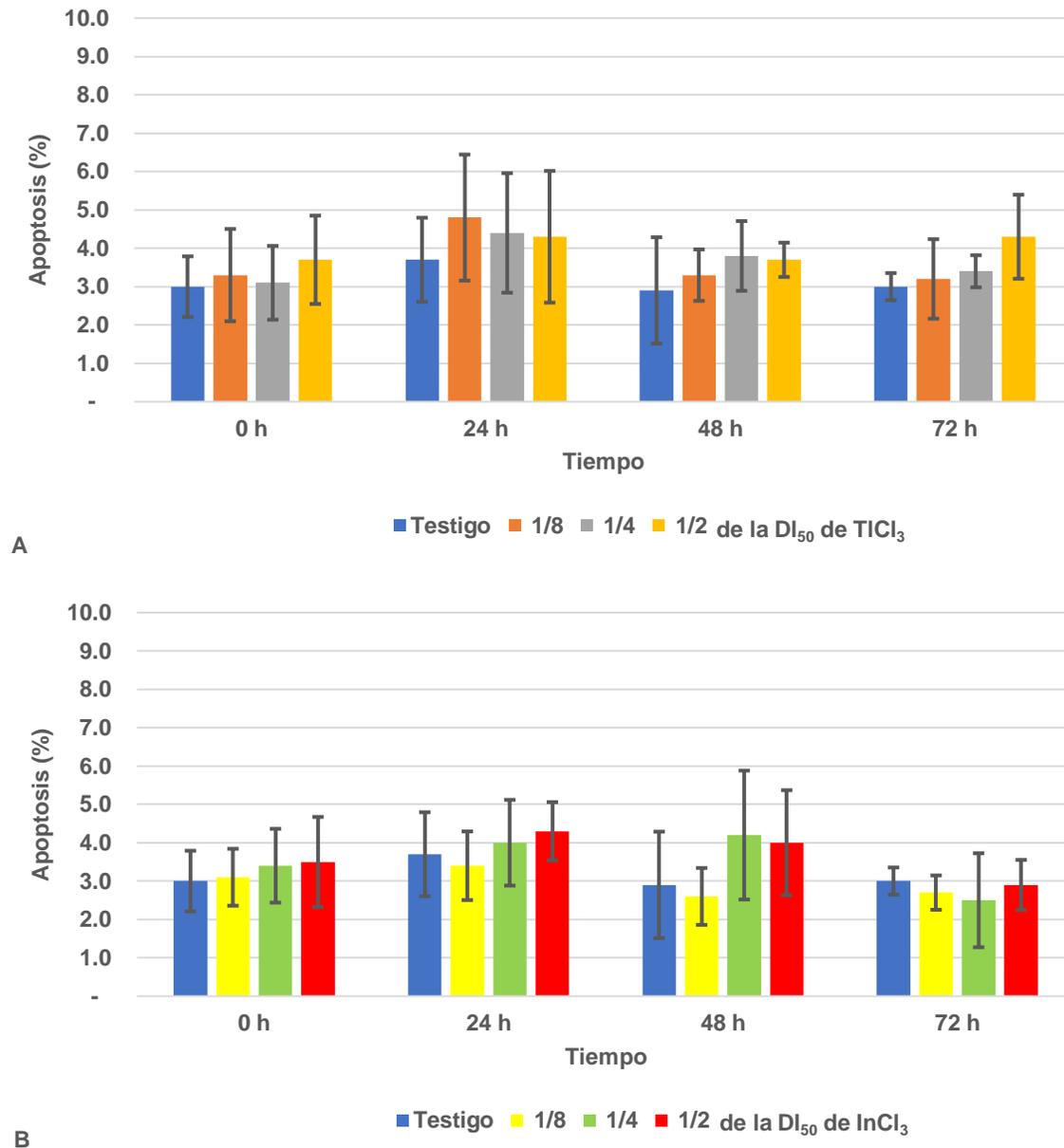


Figura 9. Apoptosis de los leucocitos de ratones de la cepa CD-1 determinada con la tinción dual de NA-BE a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI₅₀ de TlCl₃ (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI₅₀ de InCl₃ (B). Los valores son la $\bar{X} \pm DE$, de 5 animales por dosis.

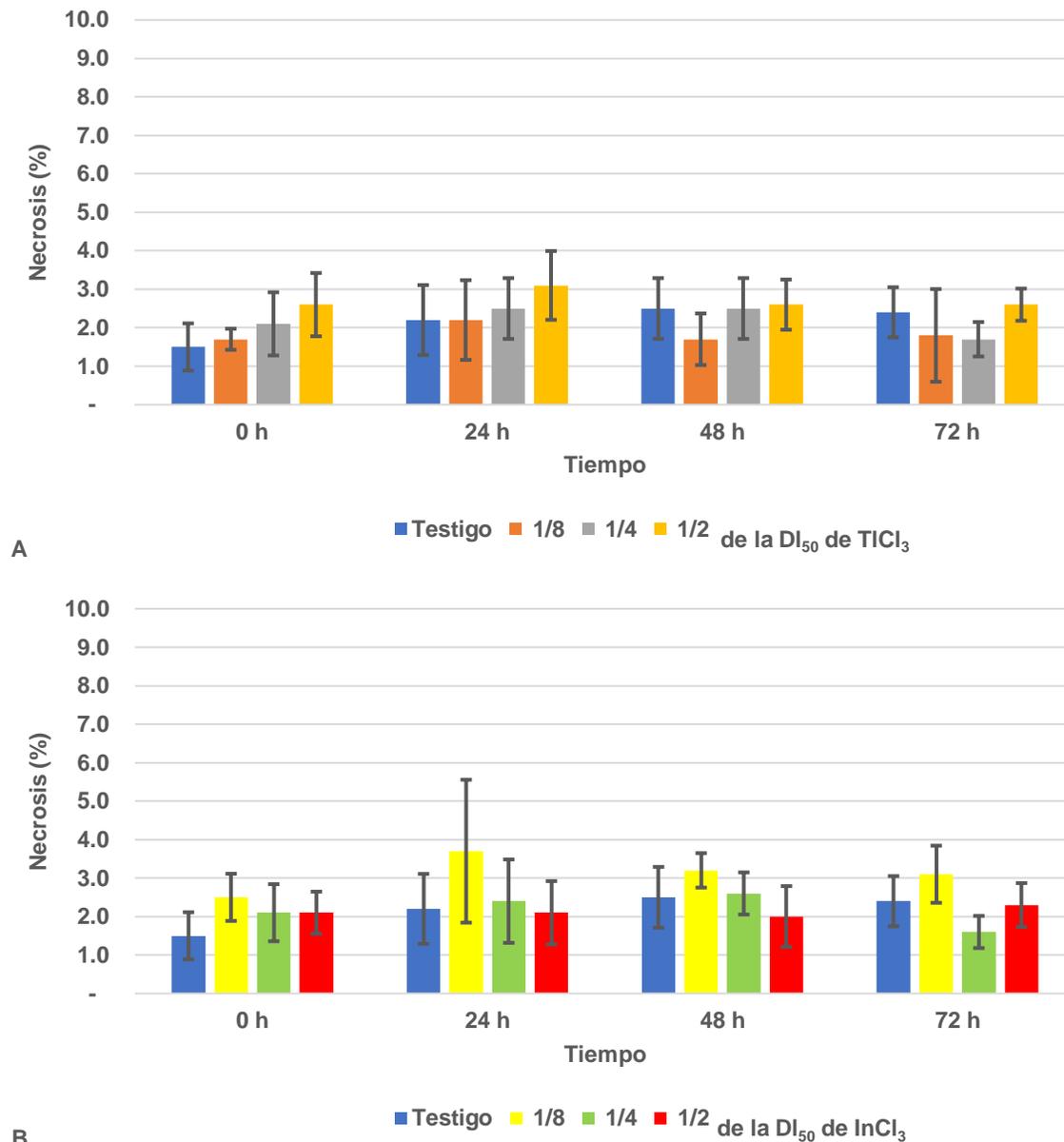


Figura 10. Necrosis de los leucocitos de ratones de la cepa CD-1 determinada con la tinción dual de NA-BE a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de $TiCl_3$ (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI_{50} de $InCl_3$ (B). Los valores son la $\bar{X} \pm DE$, de 5 animales por dosis.

6.2. Evaluación de la proliferación de EPC

Se determinó el número de EPC presentes en 2000 eritrocitos totales (EPC + ENC); con el fin de evaluar la proliferación.

Los resultados obtenidos en la proporción de EPC en sangre periférica con respecto al total de eritrocitos no mostraron cambios en ninguna de las dosis y tiempos de exposición con el TiCl_3 al compararse con grupo testigo negativo o al compararse con la 0 h (**Figura 11A**).

En relación los tratamientos de InCl_3 , se observó que el número de EPC es menor con respecto al grupo testigo negativo, donde las diferencias estadísticas se dan a las 48 y 72 h; sin embargo, no fueron diferentes al comparar los valores con la 0 h de cada grupo tratado. Además, en la dosis de 1/2 (2.5 mg/kg) se observó una tendencia a disminuir la proporción de EPC con respecto a tiempo de exposición (**Figura 11 B**).

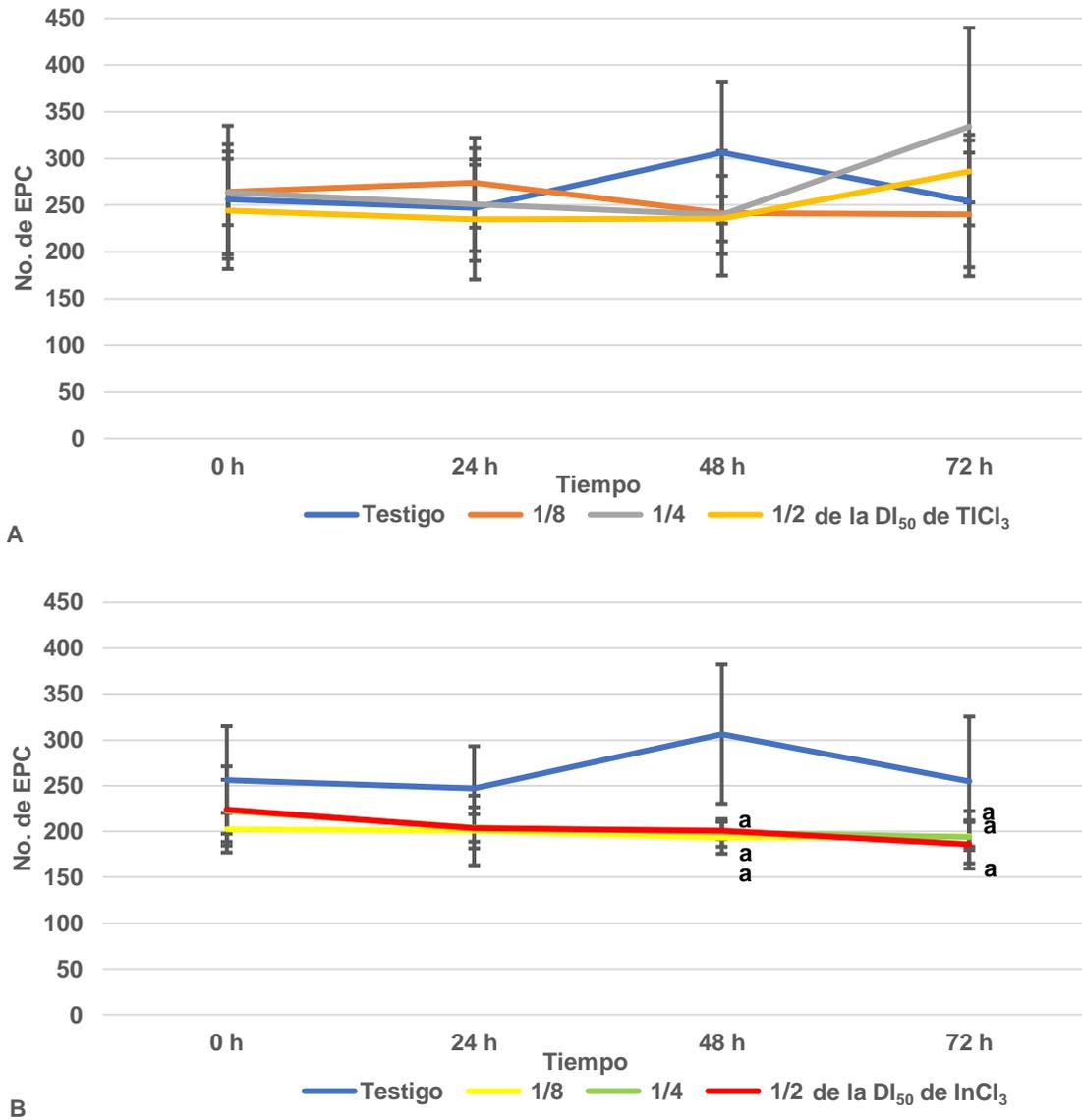


Figura 11. Numero de EPC presentes en sangre periférica de ratones tratados con diferentes dosis de $TiCl_3$ o $InCl_3$. EPC presentes en 2000 eritrocitos totales a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de $TiCl_3$ (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI_{50} de $InCl_3$ (B). Los valores son la \bar{X} media \pm DE, de 5 animales por dosis.

^a $p < 0.05$ comparado con el grupo testigo (ANOVA-Tukey).

6.3. Evaluación de la frecuencia de MN

La evaluación de la frecuencia de MN en sangre periférica de ratones tratados con las diferentes dosis de TiCl_3 mostraron diferencia significativa con respecto al grupo testigo negativo, diferencias que también se dieron al compararse con la 0 h de su respectivo grupo. En todos los grupos tratados, se observó que el pico de inducción de MN se da a partir de las 24 h después de la administración del TiCl_3 , el cual disminuye con el paso de las h sin alcanzar el valor del grupo testigo negativo: inducción de MN 24 h > 48 h > 72 h (**Figura 12A**). Además, se observó comportamiento dosis-dependiente (**Figura 13**), donde la inducción de MN en todos los tiempos de exposición fue: 1/2 (18.24 mg/kg) > 1/4 (9.12 mg/kg) > 1/8 (4.56 mg/kg) de la DI_{50} (**Figura 13B, C y D**, respectivamente).

Los resultados de la frecuencia de MN de los ratones tratados con InCl_3 también mostraron diferencias en las tres dosis empleadas con respecto a el grupo testigo negativo y al compararse con la 0 h de cada grupo (**Figura 12B**). De manera similar a los resultados obtenidos con el TiCl_3 , a las 24 h en las diferentes dosis con InCl_3 se observan los valores más altos en la inducción de MN (24 h > 48 h > 72), que además sigue un comportamiento dosis-dependiente: 1/2 (2.5 mg/kg) > 1/4 (1.25 mg/kg) > 1/8 (0.62 mg/kg) de la DI_{50} (**Figura 14B, C y D**, respectivamente).

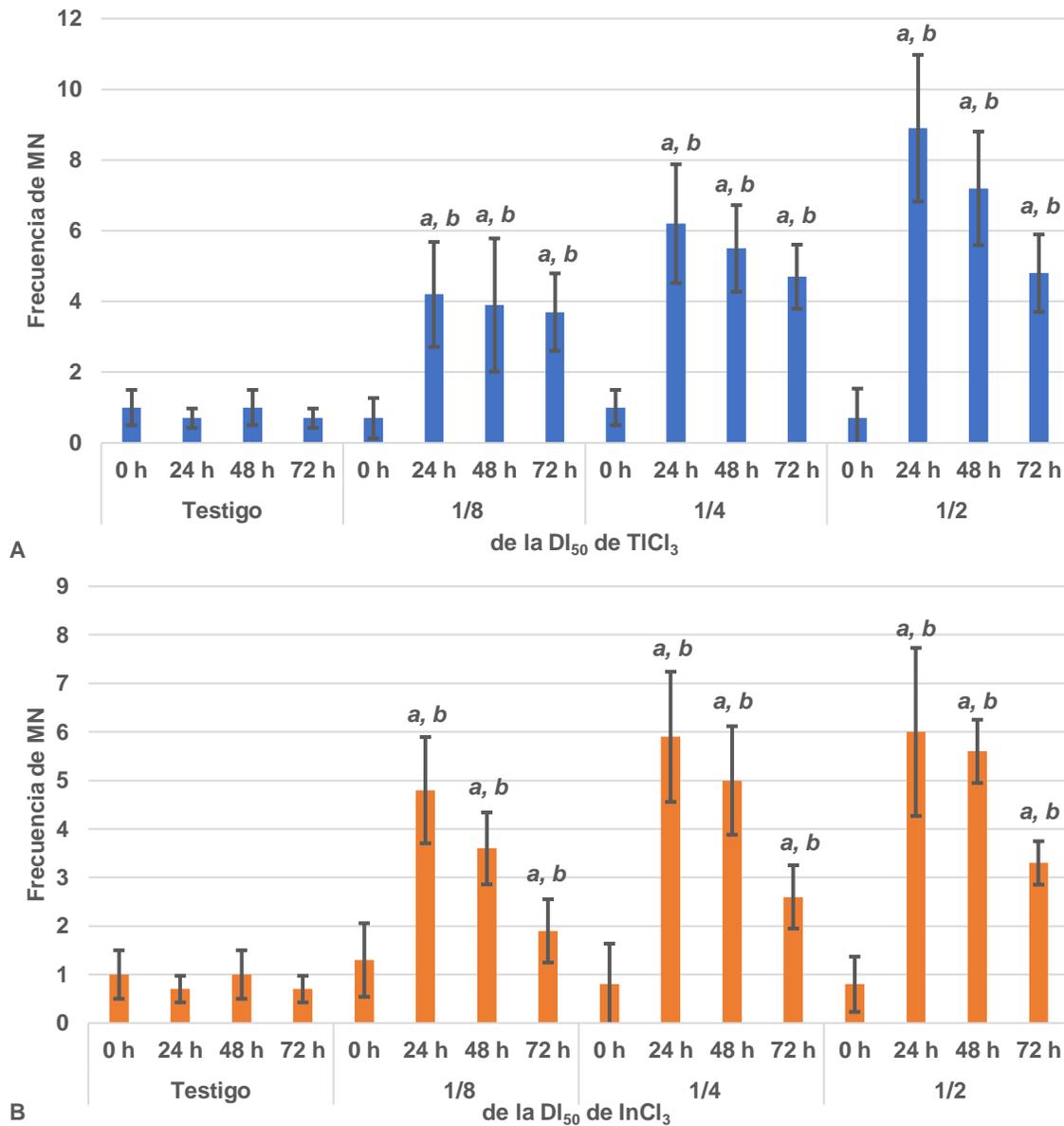


Figura 12. Frecuencia de MN en 2000 EPC de sangre periférica de ratones a las 0 y 24, 48 o 72 h después de la administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la DI_{50} de $TlCl_3$ (A) y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la DI_{50} de $InCl_3$ (B). Los valores son la media \pm DE, de 5 animales por dosis.

^a $p < 0.05$, comparado con el grupo testigo (ANOVA-Tukey)

^b $p < 0.05$, comparado con la 0 h de su respectivo grupo (ANOVA-Tukey)

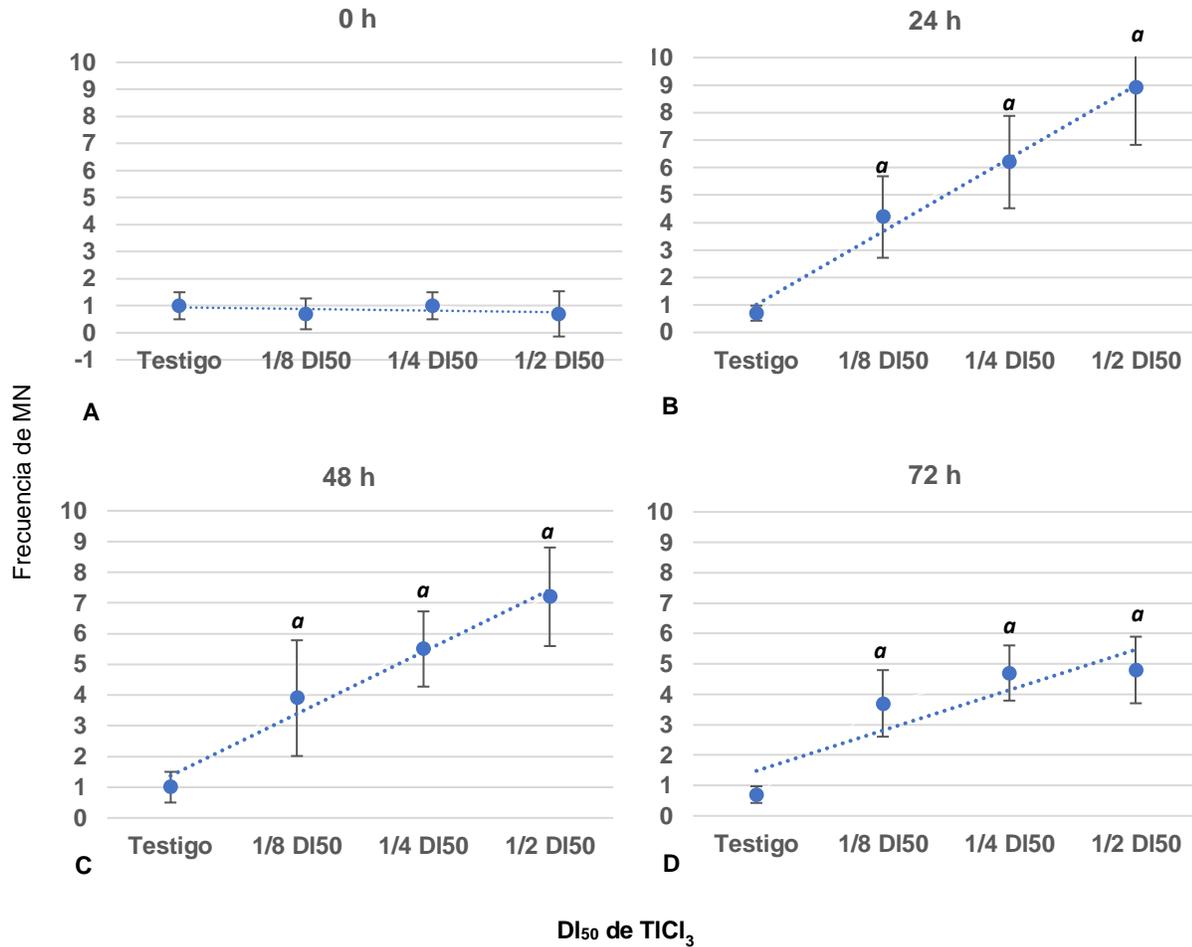


Figura 13. Tendencia de la relación dosis-efecto de la inducción de MN en ratones tratados con 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg), 1/2 (18.24 mg/kg) de la Dl₅₀ de TICl₃ a las 0 (A) y 24 (B), 48 (C) o 72 (D) h. Las líneas punteadas representan la regresión lineal.

^a $p < 0.05$ comparado con el grupo testigo (ANOVA-Tukey).

Regresiones lineales: (A) $r^2 = 0.2571$, $y = -0.0113x + 0.94$; (B) $r^2 = 0.9449$, $y = 0.4311x + 1.56$; (C) $r^2 = 0.9117$, $y = 0.3233x + 1.82$; (D) $r^2 = 0.6751$, $y = 0.2018x + 1.84$

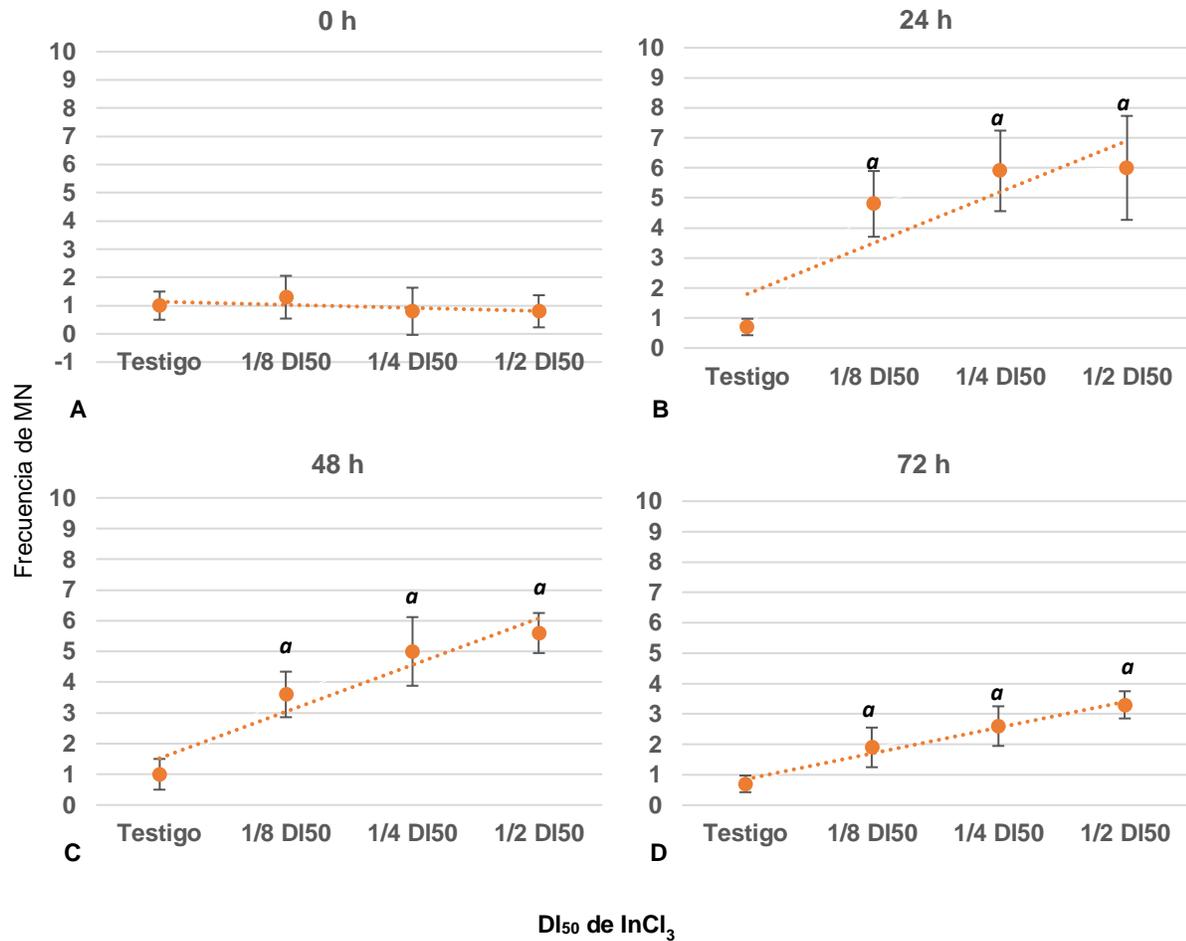


Figura 14. Tendencia de la relación dosis-efecto de la inducción de MN en ratones tratados con 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg), 1/2 (2.5 mg/kg) de InCl_3 a las 0 (A) y 24 (B), 48 (C) o 72 (D) h. Las líneas punteadas representan la regresión lineal.

^a $p < 0.05$, ^b $p < 0.01$ comparado con el grupo testigo (ANOVA-Tukey).

Regresiones lineales: (A) $r^2 = 0.3607$, $y = 0.1329x + 1.1202$; (B) $r^2 = 0.63$, $y = 1.8528x + 2.3258$, (C) $r^2 = 0.8032$, $y = 1.7168x + 1.9244$; (D) $r^2 = 0.9115$, $y = 0.991x + 1.0424$

7. DISCUSIÓN

Diversos estudios han demostrado que la exposición ocupacional o ambiental a ciertos metales es responsable de diversos efectos perjudiciales para la salud humana (WHO, 1996; Flora *et al.*, 2008). El Tl y el In son dos metales a los que los humanos estamos expuestos por distintas vías ya que se encuentran en el aire, en el agua y los alimentos, además, el In está presente en la basura derivada de aparatos electrónicos con diversos usos y pantalla LED (Fowler y Maples-Raynolds, 2015).

El Tl e In son conocidos por su alta toxicidad y por su capacidad de interactuar con el ADN, las proteínas y los lípidos, razón por la que pueden alterar la homeostasis de la célula y causar cambios estructurales y funcionales. Dichas alteraciones pueden culminar en daño en las biomoléculas y la célula; sin embargo, la información acerca de los mecanismos de toxicidad sobre el ADN y los cromosomas es escasa, en particular cuando se refiere a sus compuestos en estado de oxidación III (Shanker, 2008; Flora *et al.*, 2008; Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011).

Se sabe que las principales vías de ingreso del Tl al organismo son por medio de absorción cutánea, respiratoria y oral; especialmente estas dos últimas, donde se ha observado que ingresa al organismo con bastante rapidez (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013). En animales de experimentación, también, se ha observado que cuando se administra vía parenteral (sc o ip) el Tl se absorbe rápidamente (Karbowska y Zembruski, 2016). Una vez en el organismo el metal entra al torrente sanguíneo y se distribuye en poco tiempo en prácticamente todos los órganos del cuerpo (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

El tiempo de vida de este metal en animales de laboratorio oscila entre 3 a 8 días, mientras que en humanos se estiman que permanece en el organismo 10 días en promedio. El Tl en la sangre se detecta por poco tiempo, debido a que se deposita en riñones, hígado, gónadas, hueso, médula ósea y cerebro, principalmente. El Tl es excretado en las heces y en orina en 80 y 20 %, respectivamente.

De forma similar, el In ingresa al organismo por medio de la ingestión gástrica, cutánea y respiratoria. Una vez en el organismo el In tiene la facilidad de unirse a la transferrina que se encuentra en la sangre, lo que le permite llegar a órganos como el hígado, riñones, médula ósea y el sistema retículo endotelial, entre otros (Fowler y Maples-Raynolds, 2015).

El In es menos tóxico al ingresar por vía oral en comparación que cuando entra por medio de la respiración. Por otro lado, si este ingresa por vía parental, es absorbido sin dificultad y tiende a acumularse en linfocitos, células de hígado, riñón y células gonadales, formando gránulos insolubles asociados a fósforo. La baja toxicidad de este elemento cuando es administrado vía oral puede deberse a la casi nula absorción por esta vía. Diversos estudios señalan que este metal es absorbido por las células del lumen del intestino y eliminado después de 72 h (Maghraoui *et al.*, 2011). Lo anterior sugiere que el In administrado por vía parental tiende a ser absorbido con mayor facilidad y velocidad que por otras rutas. Al contrario de lo que sucede cuando entra por vía oral donde se absorbe del 0.2 a 0.4 % por tracto digestivo; esto en perros (Maghraoui *et al.*, 2011).

La estancia del In en el cuerpo varía de acuerdo con la vía de exposición. Van Hulle *et al.* (2005) demostraron que el arseniuro de In (InAs) se elimina casi por completo en las heces en 72 h. Por otro lado, Castronovo y Wagner (1973) encontraron que cuando se administró vía iv InCl_3 o In_2O_3 en ratón, el metal se eliminó en dos fracciones: una con vida media de 2 días y la otra con vida media de entre 69 a 74 días. En humanos, la evidencia de la exposición ocupacional sugiere que el In inhalado tiene larga vida en el cuerpo, ya que los trabajadores expuestos en el momento del estudio mostraron concentraciones de In en suero sanguíneo similares a las de los que estuvieron expuestos de 4 a 6 años (White y Hemond, 2012).

Algunos estudios mencionan que el In es excretado en diferentes fases, una inicial que comprende aproximadamente el 60 % dentro de las 2 primeras semanas, otras que comprende las siguientes 7 semanas en donde se excreta aproximadamente otro 22 %, dando como resultado que a las 9 semanas se elimina el 82 % del TI administrado. Yamauchi *et al.* (1992), encontraron que el In se excreta 0.05 %

diariamente durante 30 días post administración en ratones tratados con una sola dosis subcutánea de 100 mg/kg de InAs. En general, la orina fue la ruta principal de excreción del cuerpo, pero la eliminación fecal también fue una vía importante (Fowler y Maples-Raynolds, 2015).

Cuando se evalúan los efectos genotóxicos de algún químico en modelos *in vivo*, es importante evaluar parámetros de citotoxicidad. En este estudio se evaluó la viabilidad celular y la proporción de EPC como indicadores de alteraciones en la estructura y la proliferación celular, respectivamente. Los resultados no mostraron cambios en la viabilidad al momento de administrar el $TiCl_3$ o el $InCl_3$; sólo se observaron disminución en proliferación a las 48 y 72 h de exposición en 1/2 de la DI_{50} (2.5 mg/kg) con el $InCl_3$.

Es importante conocer la viabilidad de las células de sangre periférica de los animales tratados, porque es el tejido que tiene contacto con estos metales y es el torrente sanguíneo el que los distribuye a todo el cuerpo, además permite conocer de manera inmediata si las dosis empleadas son capaces de inducir daño en la permeabilidad de membrana e inducir muerte celular.

Existen muchas pruebas que nos brindan información confiable, sin embargo, la prueba de tinción dual de NA-BE proporciona datos sobre el tipo de muerte celular que se presenta. Esta técnica, permite distinguir, por tinción y morfología, entre células viables, las que están iniciando el proceso de apoptosis, las que se encuentran en un estadio tardío de esta misma y las que mueren por proceso de necrosis.

Son pocos los estudios *in vivo* que reportan los efectos citotóxicos del TI. Entre ellos se encuentra el realizado por García-Rodríguez *et al.* (2014), quienes empleando la técnica de NA-BE, encontraron en células de sangre periférica de ratones tratados via ip con 30 mg/kg de Ti_2SO_4 aumento de células apoptóticas a las 48 h después de la administración del compuesto. Existen diferencias en lo reportado por estos autores y lo realizado en el presente trabajo, las cuales se pueden explicar por el estado de oxidación del metal, ellos trabajaron con TI(I), mientras que en este estudio se trabajó con TI(III). Además, la dosis administrada de 30 mg/kg de Ti_2SO_4

es equivalente a una DI_{50} de $TiCl_3$ aunado a que en esta investigación se trabajó con subdosis. La cantidad neta de Ti que fue administrada con Ti_2SO_4 fue de 24.29 mg/kg de Ti(I), contra los 9.73 mg/kg de Ti(III) que se encuentra en la dosis más alta administrada del $TiCl_3$.

Diversos estudios reportan los efectos sobre la viabilidad y muerte celular causada por la acción de compuestos de Ti *in vitro*. Rodríguez-Mercado *et al.* (2019), en cultivos de linfocitos humanos encontraron reducción de la viabilidad y aumento de muerte celular (apoptosis + necrosis) después de 8 y 24 h con distintas concentraciones (0.5, 1, 5, 10, 50 y 100 $\mu\text{g/mL}$) de $C_2H_3O_2Ti$, Ti_2SO_4 o de $TiCl_3$ con la prueba de CFDA-BE y NA-BE. Además, encontraron que la proporción de células que entran a mitosis disminuye después de ser tratadas 24 h con estos compuestos.

El efecto anterior también se ha observado en líneas celulares. Chia *et al.* (2005) reportaron disminución de la viabilidad en células de glioma C6 tratadas con distintas concentraciones de 0.01 a $> 100 \mu\text{M}$ de $C_2H_3O_2Ti$ (correspondientes a 0.026 a $> 26.34 \mu\text{g/mL}$), mientras Bragandin *et al.* (2003) empleando la línea celular Jurkat Clone E6-1 (linfoblastos T de humano) y el mismo compuesto en concentraciones de 0.25 a 1 μM (de 0.065 a 0.263 $\mu\text{g/mL}$) también encontraron disminución en la viabilidad. Recientemente, Rangel-López *et al.* (2022) reportaron el efecto citotóxico de 5, 10, 50, 100 y 200 μM (1.31, 2.63, 13.17, 26.34 y 52.68 $\mu\text{g/mL}$) de $C_2H_3O_2Ti$ sobre las líneas celulares de glioblastoma C6 (de rata) y U373 (de ser humano); estos autores encontraron disminución en la viabilidad y cambios en la morfología celular; con características morfológicas correspondientes a la apoptosis.

Los datos en la literatura muestran que el Ti provoca alteraciones sobre la viabilidad, inducción de muerte celular y cambios en la proliferación por reducción del índice mitótico, razón por la cual se le ha considerado como un metal con propiedades citotóxicas; sin embargo, el $TiCl_3$ en ninguno de los tratamientos de este trabajo, produce estos efectos. Estas diferencias pueden deberse a el modelo biológico empleado y a la cantidad de compuesto administrado. Por un lado, la mayoría de

los estudios han trabajado con distintos compuestos de TI en estado de oxidación I, además las cantidades por lo general son superiores a las administradas en este estudio, ya que en este trabajo el uso de subdosis de la DI_{50} con la intención de conocer sus efectos a dosis bajas.

Como ocurre con el $TiCl_3$, la información sobre la citotoxicidad del $InCl_3$ es escasa y los pocos estudios realizados reportan que el In por lo general no produce daño citotóxico considerable. Los estudios realizados en el la UNIGEN con In, consideran la administración de InP no produce cambios. Por ejemplo, Beltrán (2011) observó que la viabilidad de las células de sangre periférica evaluada con la técnica de CFDA-BE en ratones tratados vía intragástrica con 5, 10, y 20 mg/kg de InP se mantuvo por arriba del 80 %. En otro estudio de tesis, Pérez-Dimas (2015) administró 500, 1000 o 2000 mg/kg de InP vía intragástrica durante 24 h y la viabilidad también se mantuvo arriba del 80 % en las células de varios tejidos analizados.

Otros estudios realizados *in vitro* muestran resultados similares. Bustamante *et al.* (1997), al evaluar la viabilidad utilizando la prueba de azul de tripano en cultivos de células T de ratas tratados con $InCl_3$ en concentraciones de 1, 10 y 100 μM (0.22118, 2.211 y 22.11 $\mu g/mL$), registraron viabilidades ≥ 86 %. Sin embargo, en otro estudio el $InCl_3$ a concentraciones de 1, 10 y 50 μM (0.22, 2.211 y 11.05 $\mu g/mL$) en macrófagos de hámster chino (células RAW264.7) se redujo la viabilidad de forma dependiente de la concentración y del tiempo de exposición (12, 24 y 48 h) con inducción de células apoptóticas desde la concentración más baja y de necrosis a partir de la concentración de 50 μM ; lo anterior evaluado con la prueba de MTT y citometría de flujo (Tsai *et al.*, 2020).

Otra manera de determinar los efectos citotóxicos de algún compuesto sobre los organismos es mediante la evaluación de la proliferación EPC. Esto se debe a que alguna alteración ya sea en la función metabólica, así como el retardo del ciclo celular resulta perjudicial en el proceso de renovación celular. En este trabajo, la proporción de EPC con respecto a ENC no se vio afectada en ninguno de los tratamientos con $TiCl_3$. Por otro lado, en el grupo tratado con $InCl_3$ a partir de las 48

h se observó disminución de EPC en todas las dosis probadas, sin mostrar comportamientos dosis dependiente.

En el estudio con ratones tratados con 30 mg/kg de Tl_2SO_4 (García-Rodríguez *et al.*, 2014), encontraron decremento en la cantidad de EPC en sangre periférica con relación a ENC, lo que confirma la citotoxicidad del Tl(I) *in vivo*. Este resultado a diferencia de lo encontrado con el $TlCl_3$ puede ser dada principalmente por el estado de oxidación del metal en el compuesto y la dosis empleada como se mencionó anteriormente. En el estudio referido la cantidad de Tl(I) administrada es 2.5 veces más que la cantidad de Tl(III) contenida en 1/2 de la DI_{50} empleada en este estudio; por ejemplo, en 30 mg/kg de Tl_2SO_4 hay 24.29 mg/kg de Tl(I), mientras que en 1/2 DI_{50} de $TlCl_3$ hay 9.73 mg/kg de Tl(III).

En cuanto al $InCl_3$, de acuerdo con Takagi *et al.* (2011), la proporción de EPC con respecto a ENC se redujo considerablemente de forma dosis dependiente a las 24 h después de la administración en eritrocitos de médula ósea de ratones BALB/c tratados con dosis de 0.625, 1.25, 2.5, 5 y 10 mg/kg de $InCl_3$. Estos resultados concuerdan con lo encontrado en eritrocitos de sangre periférica de esta tesis, donde se pudo observar que en todos los tratamientos a 48 y 72 h se observó menor proporción de EPC con respecto al control, lo que confirma la citotoxicidad del In(III) a bajas dosis.

Además, en el estudio anterior (Takagi *et al.*, 2011) valoraron los efectos del $InCl_3$ en fibroblastos de pulmón de hámster chino (células CHL/IU) y encontraron que concentraciones de 0.3 a 5 $\mu g/mL$ disminuyen el número de células de forma dependiente de la concentración y dependiente del tiempo de exposición (24, 48 o 72 h), efecto que no se observó *in vivo* en el presente trabajo con la proporción de EPC.

Si bien, se observó disminución en los EPC con respecto al testigo, este no tuvo un comportamiento dosis efecto debido a que el decremento no está dado en relación con la dosis.

Fue posible apreciar que el número de EPC en todas las dosis que mostraron efecto fueron similares, acompañado del incremento repentino de EPC en el grupo testigo a las 48 h. Si existiera efecto sobre la producción de EPC relacionada a la dosis, esta se vería desde las primeras 6 a 24 h en ambos metales y sería más evidente en dosis mayores (lo cual no es el caso), debido a que cuando son administrados vía parental, estos llegan a la médula ósea con rapidez y son absorbidos por las células. Otro punto para considerar es que cuando el efecto citotóxico sobre la proliferación es fuerte, por ejemplo, Takagi *et al.* (2011) administrando una dosis de 10 mg/kg, la cuantificación de MN es limitada por la disminución de EPC en sangre periférica.

Después de revisar los resultados de viabilidad, es posible observar que ni el TI ni el In a bajas concentraciones tienen efecto sobre la viabilidad. Por otro lado, al analizar los datos de proliferación de EPC, se puede observar que el In a bajas concentraciones tiene efecto débil sobre la proliferación celular en todas las dosis administradas a partir de las 48 y 72 h.

Los agentes como el TI y el In son de interés para este estudio, principalmente porque se considera que tienen propiedades genotóxicas. Es sabido que el daño y alteraciones al ADN puede generar aberraciones cromosómicas entre las que se encuentran las numéricas y estructurales. Estas pueden ser originadas por los dos principales tipos de daño, el clastógeno causado por rupturas en los cromosomas y el aneuploidógeno provocado por disturbios durante el anclaje de los cromosomas a las fibras del huso. Estas aberraciones son producidas en el proceso de división celular, y si no son reparadas o corregidas pueden concluir en la formación de MN.

De acuerdo con la literatura, el efecto genotóxico después de la administración aguda de algún agente químico generalmente suele observarse a las 48 h (Hayashi *et al.*, 2000). No obstante, en este estudio tanto el $TiCl_3$ y $InCl_3$ incrementaron la frecuencia de MN desde la 24 h en todas las dosis administradas, donde además se observó mayor inducción de MN con respecto a la 48 y 72 h. Lo que puede deberse a que ambos compuestos al ser administrados por vía ip, son distribuidos con rapidez a la médula ósea y absorbidos por distintos órganos.

Algunos estudios reportan que la prueba de MN en sangre periférica de ratón es de los bioindicadores más importantes de genotoxicidad, debido a que al contrario de como sucede en muchas especies de mamífero, los eritrocitos con MN no son removidos por el bazo. Aunado a que permite conocer los efectos del metal en los distintos órganos y la distribución en el organismo.

En relación con los estudios del TI en la literatura, la administración de Tl_2SO_4 en ratón de la cepa CD-1, aumenta la frecuencia de MN con un pico de inducción a las 48 h (García-Rodríguez *et al.*, 2014). Por otro lado, Hantson (1997) en cultivos celulares de linfocitos de un paciente que ingirió 200 mg de Tl_2SO_4 , encontró aumento de células binucleadas con MN a los 15 días después de la exposición, donde reporto una media 35 células con MN contra 10 en los controles históricos; lo cual indica que el TI(I) es capaz de producir daño al material genético e inducir MN, como sucede con otros compuestos metálicos que afectan la distribución cromosómica (Léonard, 1988).

Los mecanismos de genotoxicidad el TI aún no está descritos en su totalidad, sin embargo, existen reportes de que este tiene una fuerte afinidad hacia el ADN, específicamente, hacia la base nitrogenada de la guanina. Además, se ha reportado con anterioridad que el TI puede producir rompimiento de cadenas doble y sencillas del ADN en ensayos *in vitro* (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2015), los cuales pueden culminar en aberraciones cromosómicas estructurales, precursoras de MN.

Similar a lo ocurrido con el $TiCl_3$, se considera que el $InCl_3$ también genera genotoxicidad, pero se sugiere que los mecanismos causantes de dicha genotoxicidad pueden ser diferentes. Takagi *et al.* (2011) encontraron incrementos en frecuencia de MN en eritrocitos de la médula ósea de ratones BALB/c por $InCl_3$ en dosis de 2.5 y 5 mg/kg a las 24 h, aumento que sigue un comportamiento dosis-dependiente; también encontraron que dosis de 10 mg/kg inhibe la proliferación. Recientemente, Tsai *et al.* (2020) encontraron en células RAW264.7 aumento significativo de MN 24 h después de la administración de 5 μM (1.10 $\mu g/mL$) de $InCl_3$. Ambos estudios muestran que el In tiene la capacidad de dañar al ADN y en

dosis bajas como lo encontrado en la presente tesis y con un comportamiento dosis-dependiente.

Diversos estudios sugieren que el mecanismo de genotoxicidad del InCl_3 puede ser más complejo y no se basa en un sólo mecanismo (Tsai *et al.*, 2020). De acuerdo con Takagi *et al.* (2011), el ITO inducen MN en neumocitos *in vivo*, pero no en cultivos epiteliales de pulmón y ellos sugieren que el daño al ADN se da por un mecanismo secundario de la acción del metal. Aunando a lo anterior, se sabe que el InCl_3 se acumula en la médula ósea, por esta razón se cree que este compuesto promueve también la formación de MN en los eritroblastos.

Entre los diversos mecanismos de toxicidad, se teoriza que el InCl_3 actúa como un reactivo de gran potencial en generación de radicales libres (Rowlands, 2003). Se sabe que las especies reactivas de oxígenos y los radicales libres generan daño en el ADN, y se piensa que el daño causado por el InCl_3 sobre el material genético esta mediado por especies reactivas a través de la reacción de Fenton, sin embargo, la evidencia que confirme esto aun es insuficiente (Anderson y Phillips, 1999, Schupp *et al.*, 2007; Lison *et al.*, 2009). Tsai *et al.* (2020) consideran con base en sus trabajos que el InCl_3 puede inducir retraso cromosómico debido a su alta afinidad hacia los grupos sulfhídrido contenidos en las proteínas de las fibras del huso mitótico. Ligando con lo anterior esto puede ser el mecanismo de acción detrás de la inducción de MN causada por In en el presente trabajo.

En general los resultados de los diversos autores concuerdan con los resultados encontrados en este trabajo. Los compuestos de Tl e In, independientemente del estado de oxidación, generan MN. También apoya la idea de que la frecuencia en la inducción de MN está relacionada con la dosis administrada y el tiempo de exposición.

8. CONCLUSIONES

La administración de distintas subdosis de la DI_{50} (1/8, 1/4 y 1/2) de los compuestos de $TiCl_3$ (DI_{50} 36.48 mg/kg) y $InCl_3$ (DI_{50} 5 mg/kg) en ratones de la cepa CD-1 nos permiten concluir lo siguiente:

- No se mostraron cambios en la viabilidad cuando se administró el $TiCl_3$ ni el $InCl_3$, tampoco se observó aumento en la muerte celular ya sea por apoptosis o por necrosis, en las dosis probadas.
- No se observaron cambios en la proliferación celular en los grupos tratados, excepto a las 48 y 72 h de exposición en 1/2 de la DI_{50} (2.5 mg/kg) con el compuesto de $In(III)$ donde se observó disminución en proliferación.
- Todos los tratamientos de $TiCl_3$ e $InCl_3$ mostraron aumento en la inducción de MN, ubicando el pico de inducción a las 24 h después de la administración de los compuestos y cuya frecuencia de inducción disminuye con respecto a la toma anterior. Todos los grupos tratados con ambos compuestos mostraron un comportamiento dosis-dependiente.

Los resultados obtenidos permiten confirmar el efecto genotóxico de ambos metales en estado de oxidación III en el modelo de eritrocitos de sangre periférica de ratón y sugieren que pueden causar daño en el material genético que conduce a la formación de MN a dosis bajas (1/8 de la DI_{50}), por lo que pueden representar riesgo por exposición *in vivo*.

9. REFERENCIAS

- Abollino, O., Aceto, M., Malandrino, M., Mentasti, E., Sarzanini, C., Barberis, R. (2002). Distribution and mobility of metals in contaminated sites. Chemometric investigation of pollutant profiles. *Environmental Pollution*, 119(2), 177–193.
- Akaogi, T., Tsuda, K., Terauchi, M., Tanaka, M. (2004). Lattice parameter determination of a strained area of an InAs layer on a GaAs substrate using CBED. *Microscopy*, 53(1), 11–19.
- Akyil, D., Eren, Y., Konuk, M., Tepekozcan, A., Sağlam, E. (2016). Determination of mutagenicity and genotoxicity of indium tin oxide nanoparticles using the Ames test and micronucleus assay. *Toxicology and Industrial Health*, 32(9), 1720–1728.
- Angelova, V., Ivanova, R., Delibaltova, V., Ivanov, K. (2004). Bio-accumulation and distribution of heavy metals in fibre crops (flax, cotton and hemp). *Industrial Crops and Products*, 19(3), 197–205.
- Aoyama, H., Yoshida, M., Yamamura, Y., 1988. Induction of lipid peroxidation in tissues of thallous malonate-treated hamster. *Toxicology* 53, 11–18.
- Apostoli, P. (2002). Elements in environmental and occupational medicine. *Journal of Chromatography B*, 778(1-2), 63–97.
- Arzate S. G. y Santamaria A. (1996). Thallium toxicity. *Toxicology Letters* 1998, 99:1–13.
- Asami, T., Mizui, C., Shimada, T., Kubota, M. (1996). Determination of thallium in soils by flame atomic absorption spectrometry. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 356, 348–51.
- Badding, M. A., Schwegler-Berry, D., Park, J. H., Fix, N. R., Cummings, K. J., Leonard, S. S. (2015). Sintered indium-tin oxide particles induce pro-inflammatory responses in vitro, in part through inflammasome activation. *PLoS One*, 10(4), e0124368.
- Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., Sadeghi, M. (2021). Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 643972.

- Beltrán-Mendoza, R. (2011). Estudio del efecto de la aplicación del fosforo de indio (InP) en células de diferentes órganos de ratones macho de la cepa CD-1, utilizando la técnica de electroforesis unicelular alcalina, para evaluar el daño al ADN. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
- Bengtsson, H., Alvenäs, G., Nilsson, S. I., Hultman, B., Öborn, I. (2006). Cadmium, copper and zinc leaching and surface run-off losses at the Öjebyn farm in Northern Sweden—Temporal and spatial variation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113(1-4), 120–138.
- Blain, R., Kazantzis, G. (2015). “Thallium.” In *Handbook on the Toxicology of Metals*, edited by G.F. Nordberg, B.A. Fowler and M. Nordberg, 1229–1240. Academic Press Elsevier, Londres.
- Blazka, M. E. (1998). *Indium. Immunotoxicology of Environmental and Occupational Metals*, Philadelphia, PA, Taylor and Francis, 93–110.
- Bocio, A., Nadal, M., Domingo, J. L. (2005). Human exposure to metals through the diet in Tarragona, Spain. *Biological Trace Element Research*, 104(3), 193–201.
- Bomhard, E. M. (2018). The toxicology of indium oxide. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 58, 250–258.
- Bragadin, M., Toninello, A., Bindoli, A., Rigobello, M. P., Canton, M. (2003). Thallium induces apoptosis in Jurkat cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1010(1), 283–291.
- Bryant, P. E. (1997). DNA damage, repair and chromosomal damage. *International Journal of Radiation Biology*, 71(6), 675–680.
- Bustamante, J., Dock, L., Vahter, M., Fowler, B., Orrenius, S. (1997). The semiconductor elements arsenic and indium induce apoptosis in rat thymocytes. *Toxicology*, 118(2-3), 129–136.
- CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). 1999. “Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life: Thallium.” In *Canadian Environmental Quality Guidelines*. Winnipeg, Canadá. Último acceso 18/03/2022. <http://ceqg-rcqe.ccme.ca/download/en/215>
- Cheam, V., Lechner, J., Desrosiers, R., Sekerka, I., Lawson, G., Mudroch, A. (1995). Dissolved and total thallium in Great Lakes waters. *Journal of Great Lakes Research*, 21(3), 384–394.

- Chen, P. H., Su, Y. T., Chang, F. C. (2019). Stabilizing resistive switching characteristics by inserting indium-tin-oxide layer as oxygen ion reservoir in HfO₂-based resistive random-access memory. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 66(3), 1276–1280.
- Chia, C. F., Chen, S. C., Chen, C. S., Shih, C. M., Lee, H. M., Wu, C. H. (2005). Thallium acetate induces C6 glioma cell apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1042(1), 523–530.
- Chonan, T., Amata, A., Kawabata, Y., Omae, K. (2019). Indium lung: discovery, pathophysiology and prevention. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 248(3), 143–150.
- Cornelis, R., Nordberg, M. (2007). General chemistry, sampling, analytical methods, and speciation. *In Handbook on the Toxicology of Metals*, pp. 11–38. Elsevier.
- Countryman, P. I., Heddle, J. A. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 41(2-3), 321–331.
- Covarrubias, S. A., Cabriales, J. J. P. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 7–21.
- Custer, L., Doherty, A., Bemis, J. C., Proudlock, R. (2016). The *in vivo* rodent micronucleus assay. *In Genetic Toxicology Testing Academic Press*, pp. 269–322. ISBN 978-0-12-800764-8.
- Cveticanin, J., Joksic, G., Leskovac, A., Petrovic, S., Sobot, A. V., Neskovic, O. (2009). Using carbon nanotubes to induce micronuclei and double strand breaks of the DNA in human cells. *Nanotechnology*, 21(1), 015102.
- Cvjetko, P., Cvjetko, I., Pavlica, M. (2010). Thallium toxicity in humans. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 61(1), 111–118.
- DelValls, T. A.; Sáenz, V.; Arias, A.M.; Blasco, J. Thallium in the marine environment: first ecotoxicological assessments in the Guadalquivir estuary and its potential adverse effect on the Doñana European Natural Reserve after the... *Ciencias Marinas*, vol. 25, núm. 2, junio, 1999, pp. 161-175 *Universidad Autónoma de Baja California Ensenada*, México

- Díaz, R. A., Álvarez, P., López, J. M. (2001). Hematopoyesis. Eritropoyesis. Fisiopatología eritroide. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 8(50), 2613–2620.
- Esparza-García, E., Cárdenas-Conejo, A., Huicochea-Montiel, J. C., Aráujo-Solís, M. A. (2017). Chromosomes, chromosomal abnormalities and diagnostic issues. *Revista Mexicana de Pediatría*, 84(1), 30–39.
- EUM SAGARPA. (2001) NOM-062-ZOO-1999 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México.
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A. T., Surralles, J., Crott, J. W., Parry, J., Thomas, P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), 125–132.
- Fenech, M., Morley, A. A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 147(1-2), 29–36.
- Ferguson T.J. (2012). Chapter 148. thallium. Olson K.R.(Ed.), *Poisoning & Drug Overdose*, 6e. McGraw Hill. <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=391§ionid=42069962>
- Ferré-Huguet, N. U. R. I. A., Schuhmacher, M. A. R. T. A., Llobet, J., Domingo, J. (2007). Metales pesados y salud. *Mapfre Seguridad*, 108(4), 50–58.
- Flora, J.S., Mittal, M., Mehta, A. (2008). Heavy metal induced oxidative stress and its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal Medical Research*. 128: 501–523.
- Flora, S. J. (2014). Toxic metals: Health effects, and therapeutic measures. *Journal of Biomedical and Therapeutic Sciences*, 1(1), 48–64.
- Fowler, B. A. y Maples-Reynolds, N. (2015). Indium. In *Handbook on the Toxicology of Metals*. Academic Press, pp. 845–853.
- Gaivão, I., Sierra, L. M. (2014). Drosophila comet assay: insights, uses, and future perspectives. *Frontiers in Genetics*, 5, 304.

- Galván-Arzate, S., Martínez, A., Medina, E., Santamaría, A., Ríos, C. (2000). Subchronic administration of sublethal doses of thallium to rats: effects on distribution and lipid peroxidation in brain regions. *Toxicology Letters*, 116(1-2), 37–43.
- García-Rodríguez, M. D. C., Hernández-Cortés, L. M., Altamirano-Lozano, M. A. (2016). *In vivo* effects of vanadium pentoxide and antioxidants (ascorbic acid and alpha-tocopherol) on apoptotic, cytotoxic, and genotoxic damage in peripheral blood of mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 6797851.
- García-Rodríguez, M.C., G.P. García-Cárdenas, A.R. Montañero-Rodríguez, and M.A. Altamirano-Lozano. 2014. "Cytotoxic and Genotoxic Effects of Exposure to Heavy Metals (Chromium [VI] and Thallium [I]) of Mice CD-1 Strain: Micronucleus, Apoptosis and Cell Viability." *Acta Universitaria* 24, 91–96.
- Goyer, R.A., and T.W. Clarkson. 2001. "Toxic Effects of Metals." In Casarett and Doull's *Toxicology: The Basic Science of Poisons*, ed. C.D. Klaassen, 811-867. NY: McGraw-Hill, Medical Publisher.
- Grahn, E., Karlsson, S., Karlsson, U., Düker, A. (2006). Historical pollution of seldom monitored trace elements in Sweden—part B: sediment analysis of silver, antimony, thallium and indium. *Journal of Environmental Monitoring*, 8(7), 732–744.
- Griepink, B., Sager, M., Tölg, G. (1988). Determination of traces of thallium in various matrices. *Pure and Applied Chemistry*, 60(9), 1425–1436.
- Guitart, R., Giménez, N. (2012). ¿Qué es un «tóxico»? Una propuesta de definición. *Medicina Clínica*, 138(3), 127–132.
- Hantson, P., Desoir, R., Léonard, E.D., Crutzen-Fayt, M.C., Léonard, A., Mahieu, P. (1997). Cytogenetic observations following thallium poisoning. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 50(2), 97–100.
- Hasegawa, H., Rahman, I. M., Egawa, Y., Sawai, H., Begum, Z. A., Maki, T., Mizutani, S. (2013). Recovery of indium from end-of-life liquid-crystal display panels using aminopolycarboxylate chelants with the aid of mechanochemical treatment. *Microchemical Journal*, 106, 289–294.
- Hayashi, M., Sofuni, T., Ishidate Jr, M. (1983). An application of acridine orange fluorescent staining to the micronucleus test. *Mutation Research*, 120(4), 241–24.

- Hines, C. J., Roberts, J. L., Andrews, R. N., Jackson, M. V., Deddens, J. A. (2013). Use of and occupational exposure to indium in the United States. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 10(12), 723–733.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1996. Thallium. *Environmental health criteria*. 182 World Health Organization, Geneva. Ultimo acceso 08/03/2022. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc182.htm>
- JMHLW, Ministry of Health Labor and Welfare (2013) Ministry of Health Labor and Welfare Amendment to ordinance on industrial safety and health law and to ordinance on prevention of hazards due to specified chemical substances. Ultimo acceso: 25-junio-2022 <https://www.ilo.org/dyn/natlex/docs/ELECTRONIC/29297/69488/F78670215/JPN29297.pdf>
- Jorgenson, J. D., George, M. W. (2004). Mineral commodity profile: indium. *US Geological Survey Open-File Report*, 1300(2004), 2004–1300.
- Karbowska, B., Zembruski, W. (2016). Fractionation and mobility of thallium in volcanic ashes after eruption of Eyjafjallajökull (2010) in Iceland. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97(1), 37-43.
- Kazantzis, G. (2000). Thallium in the environment and health effects. *Environmental Geochemistry and Health*, 22(4), 275–280.
- Kazantzis, G. (2007). Thallium. In *Handbook on the Toxicology of Metals*, Academic Press, pp. 827–837.
- Kemper F. H. y Bertram H. P. (1991). Thallium. *Metals and their compounds in the environment: occurrence, analysis, and biological relevance*. New York, Weinheim. p. 1227 – 41.
- Kemper, F. H. (1991). Thallium. *Metals and Their Compounds in the Environment*, 1227–1241.
- Kirsch-Volders, M., Plas, G., Elhajouji, A., Lukamowicz, M., Gonzalez, L., Vande Loock, K., Decordier, I. (2011). The in vitro MN assay in 2011: origin and fate, biological significance, protocols, high throughput methodologies and toxicological relevance. *Archives of Toxicology*, 85(8), 873–899.
- Koller, M. y Saleh, H. M. (2018). Introductory chapter: an introduction to trace elements. In *trace elements-human health and environment*. *IntechOpen*. DOI: 10.5772/intechopen.75010

- Lal, A. y Ames, B. N. (2011). Association of chromosome damage detected as micronuclei with hematological diseases and micronutrient status. *Mutagenesis*, 26(1), 57–62.
- Lan, C. H., Lin, T. S. (2005). Acute toxicity of trivalent thallium compounds to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61(3), 432–435.
- Léonard, A. (1988). Mechanisms in metal genotoxicity: The significance of *in vitro* approaches. *Mutation Research*, 198, 321–326.
- Léonard, A., Gerber, G. B. (1997). Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of thallium compounds. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 387(1), 47–53.
- Li, Y., Liu, Z., Li, Q., Liu, Z., Zeng, L. (2011). Recovery of indium from used indium-tin oxide (ITO) targets. *Hydrometallurgy*, 105(3-4), 207–212.
- Lin, R. H., Yang, M. L., Li, Y. C., Chang, H. M., Kuan, Y. H. (2013). Indium chloride-induced micronuclei via reactive oxygen species in Chinese hamster lung fibroblast V79 cells. *Environmental Toxicology*, 28(10), 595–600.
- Lucho-Constantino, C. A., Prieto-García, F., Del Razo, L. M., Rodríguez-Vázquez, R., Poggi-Varaldo, H. M. (2005). Chemical fractionation of boron and heavy metals in soils irrigated with wastewater in central Mexico. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 108(1), 57–71.
- Maghraoui, S., Ayadi, A., Ben Ammar, A., Jaafoura, M. H., El Hili, A., Galle, P., Tekaya, L. (2011). Microscopy and microanalysis study of the indium (In) behavior in the intestinal mucosa, the liver, the kidney and the testicle. *Journal of Electron Microscopy*, 60(2), 183–190.
- Matthews, A. D., Riley, J. P. (1970). The occurrence of thallium in sea water and marine sediments. *Chemical Geology*, 6, 149–152.
- Mavournin KH, Blakey DH, Cimino MC, Salamone MF, Heddle JA. (1990). The *in vivo* micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research*, 239(1), 29–80.
- Mayani, H. (2012). The hematopoietic system in chronic, severe, anemia. Analysis and reflections of an experimental model. *Revista de Hematología*, 13(4), 185–194.

- McGahon, A. J., Martin, S. J., Bissonnette, R. P., Mahboubi, A., Shi, Y., Mogil, R. J., Nishioka, W. K., Green, D. R. (1995). The end of the (cell) line: methods for the study of apoptosis in vitro. *Methods in Cell Biology*, 46, 153–185.
- Méndez, J. P., Ramírez, C. A. G., Gutiérrez, A. D. R., García, F. P. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 29–44.
- Mikkelsen, A., Sköld, N., Ouattara, L., Borgström, M., Andersen, J. N., Samuelson, L., ..., Lundgren, E. (2004). Direct imaging of the atomic structure inside a nanowire by scanning tunnelling microscopy. *Nature Materials*, 3(8), 519–523.
- Mulkey J. P., Oehme F. W., (1993). A review of thallium toxicity. *Veterinary and Human Toxicology*, 35(5), 445–453. Erratum in: *Vet Hum Toxicol* 35(6), 511.
- Myneni, V. D., Szalayova, I., Mezey, E. (2021). Differences in Steady-State Erythropoiesis in Different Mouse Bones and Postnatal Spleen. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 1237.
- Nagano, K., Nishizawa, T., Umeda, Y., Kasai, T., Noguchi, T., Gotoh, K., ..., Fukushima, S. (2011). Inhalation carcinogenicity and chronic toxicity of indium-tin oxide in rats and mice. *Journal of Occupational Health*, 1104060179–1104060179.
- Nai, G. A., Oliveira, M. C. D., Tavares, G. D. O., Pereira, L. F. F., Soares, N. D. S. L., Silva, P. G. (2015). Evaluation of genotoxicity induced by repetitive administration of local anaesthetics: an experimental study in rats. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 65(1), 21–26.
- Nava-Ruíz, C., Méndez-Armenta, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivos de Neurociencias*, 16(3), 140–147.
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health. (2005). Thallium (Soluble Compounds, as Tl). Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Washington, DC.
- Norppa, H., Falck, G. C. M. (2003). What do human micronuclei contain?. *Mutagenesis*, 18(3), 221–233.
- Nowicka, A. M., Krasnodebska-Ostrega, B., Wrzosek, B., Jastrzebska, M., Sadowska, M., Mackiewicz, M., Stojek, Z. (2013a). Detection of oxidative

damage of synthetic oligonucleotides caused by thallium(III) complexes. *Electroanalysis*, 26(2), 340–350.

- Nowicka, A. M., Mackiewicz, M., Matysiak, E., Krasnodebska-Ostrega, B., Stojek, Z. (2013b). Voltammetric and electrochemical gravimetric selective detection of interactions between Tl (I) and guanine and the influence on activity of DNA drug-intercalators. *Talanta*, 106, 85–91.
- Nriagu J. O. (1998). Thallium in the environment. Wiley Series in Advances in Environmental Science and Technology, vol. 29. John Wiley and Sons.
- Nriagu, J. O. (2003). Thallium. *Chemical and Engineering News*, 81(36), 153–153.
- Olgun, N. S., Morris, A. M., Barber, T. L., Stefaniak, A. B., Kashon, M. L., Schwegler-Berry, D., ..., Leonard, S. S. (2017). Comparison of the toxicity of sintered and unsintered indium-tin oxide particles in murine macrophage and epidermal cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 331, 85–93.
- Palis, J. (2014). Primitive and definitive erythropoiesis in mammals. *Frontiers in Physiology*, 5, 3.
- Pérez-Dimas, I. (2015). Evaluación de la viabilidad y el daño al ADN en células de varios tejidos de ratones macho de la cepa cd-1 tratados con diferentes dosis de fosforo de indio (InP). Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
- Peter, A.J. Viraraghavan, T. (2005). Thallium: a review of public health and environmental concerns. *Environment International*, 31(4), 493–501.
- Pino, M.T.L., Marotte, C. Verstraeten, S.V. (2017). Epidermal growth factor prevents thallium(I)- and thallium(III)-mediated rat pheochromocytoma (PC12) cell apoptosis. *Archives in Toxicology*, 91, 1157–1174.
- Pourahmad, J., Eskandari, M. R., Daraei, B. (2010). A comparison of hepatocyte cytotoxic mechanisms for thallium (I) and thallium (III). *Environmental Toxicology*, 25(5), 456–467.
- Ralph, L., Twiss, M. R. (2002). Comparative toxicity of thallium (I), thallium (III), and cadmium (II) to the unicellular alga *Chlorella* isolated from Lake Erie. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 68(2), 261–268.
- Ramsden D. (2002). Thallium. In: Waring RH, Steventon GB, Mitchell SC (Eds). *Molecules of Death*. London: Imperial College Press, 304–11.

- Rangel-López, E., Robles-Bañuelos, B., Guadiana-Ramírez, N. et al. Thallium Induces Antiproliferative and Cytotoxic Activity in Glioblastoma C6 and U373 Cell Cultures via Apoptosis and Changes in Cell Cycle. *Neurotoxicity Research*, 40, 814–824 (2022).
- Repetto J. M., Repetto K. G. (2009) *Toxicología fundamental*. 4ª Ed. Editorial Diaz de Santos. España.
- Repetto, G., del Peso, A. (2012). Gallium, indium, and thallium. *Patty's Toxicology*. 6th ed. New York: John Wiley and Sons Ltd, 257–354.
- Reyes-Rodríguez, M.A., Santos-Cruz, L. F., García-Castro, C., Durán-Díaz, Á., Castañeda-Partida, L., Dueñas-García, I. E., ... Rodríguez-Mercado, J. J. (2021). Genotoxicity and cytotoxicity evaluation of two thallium compounds using the *Drosophila* wing somatic mutation and recombination test. *Heliyon*, 7(5), e07087.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Altamirano-Lozano, M. A. (2006). Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 22(4), 173–189.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Altamirano-Lozano, M. A. (2013). Genetic toxicology of thallium: a review. *Drug and Chemical Toxicology*, 36(3), 369–383.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Álvarez-Barrera, L., Mateos-Nava, R. A., Rodríguez-Espitia, J. D., Altamirano-Lozano, M. A. (2019). Induction of cytotoxicity in human cells exposed to thallium(I) and thallium(III). *Current Topics in Toxicology*, 15, 17–27.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Hernández-de la Cruz, H., Felipe-Reyes, M., Jaramillo-Cruz, E., & Altamirano-Lozano, M. A. (2015). Evaluation of cytogenetic and DNA damage caused by thallium (I) acetate in human blood cells. *Environmental toxicology*, 30(5), 572-580.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Mosqueda-Tapia, G., Altamirano-Lozano, M. A. (2017). Genotoxicity assessment of human peripheral Lymphocytes induced by thallium(I) and thallium(III). *Toxicological and Environmental Chemistry*, 99(5-6), 987–998.
- Rojas, E., Herrera, L. A., Poirier, L. A., Ostrosky-Wegman, P. (1999). Are metals dietary carcinogens? *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 443(1-2), 157–181.

- Saleh, H. E. D. M., Aglan, R. (2018). Introductory Chapter: Introducing Heavy Metals. Intechopen. I74783.
- Schedlbauer, O. F., Heumann, K. G. (1999). Development of an isotope dilution mass spectrometric method for dimethylthallium speciation and first evidence of its existence in the ocean. *Analytical Chemistry*, 71(24), 5459–5464.
- Sears, D. A., Udden, M. M. (2011) Howell–Jolly bodies: a brief historical review. *American Journal of the Medical Sciences*, 343, 407–409.
- Shanker, A. K. (2008). Mode of Action and Toxicity of Trace Elements. Capítulo 21, Copyright, John Wiley y Sons, Inc., 525–555.
- Smith, I.C., Carson, B.L., Hoffmeister, F. (1978). Trace Elements in the Environment, vol. 5., Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Michigan.
- Suckow, M. A., Danneman, P., Brayton, C. (2001). The laboratory mouse. Florida, CRC Press Inc.
- Takagi, R., Suzuki, Y., Seki, Y., Ikehata, M., Kajihara, C., Shimizu, H., Yanagisawa, H. (2011). Indium chloride-induced micronuclei in in vivo and in vitro experimental systems. *Journal of Occupational Health*, 53(2), 102–109.
- Tanaka, A., Hirata, M., Kiyohara, Y., Nakano, M., Omae, K., Shiratani, M., Koga, K. (2010). Review of pulmonary toxicity of indium compounds to animals and humans. *Thin Solid Films*, 518(11), 2934–2936.
- Tao, Z., Gameiro, A., Grewer, C. (2008). Thallium ions can replace both sodium and potassium ions in the glutamate transporter excitatory amino acid carrier 1. *Biochemistry*, 47(48), 12923–12930.
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Experientia supplementum* (2012), 101, 133–164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Torres-Bugarín, O. y Ramos-Ibarra, M. L. (2013). Micronúcleos y anormalidades nucleares en mucosa bucal para evaluar población en riesgo laboral por mutágenos. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 22(1), 01–03.
- Tsai, P. K., Wu, S. W., Chiang, C. Y., Lee, M. W., Chen, H. Y., Chen, W. Y., Chen C.J., Yang, S.F., Yeh, C.B., Kuan, Y. H. (2020). Evaluation of cytotoxicity, apoptosis, and genotoxicity induced by indium chloride in macrophages

- through mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species generation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 193, 110348.
- US EPA. (2002). A review of the reference dose and reference concentration processes. In Risk Assessment Forum, U. *The Environmental Protection Agency*. Washington, DC.
- US EPA. (2008) IRIS Toxicological Review of Thallium and Compounds (External Review Draft). U.S. *Environmental Protection Agency*, Washington, DC. EPA/635/R-08/001.
- Velázquez, L. P. A., MdCA, M., Romero, A. C. (2014). Extracción y purificación de ADN. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos, 1. 1ra Edición. *Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales*. México. ISBN: 978-607-8246-72-4
- Watson, J. D. (2018). ADN. El secreto de la vida. Taurus. ISBN: 9788430619344
- WHO. World Health Organization. (2006). Elemental speciation in human health risk assessment. *Environmental Health Criteria* 234. Último acceso 20/05/2022. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc234.pdf>
- Zhang, H., Li, P., Li, H., Song, J., Nakamura, S., DenBaars, S. P. (2020). High polarization and fast modulation speed of dual wavelengths electroluminescence from semipolar (20-21) micro light-emitting diodes with indium tin oxide surface grating. *Applied Physics Letters*, 117(18), 181105.
- Zhang, K., Wu, Y., Wang, W., Li, B., Zhang, Y., Zuo, T. (2015). Recycling indium from waste LCDs: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 104, 276-290.
- Zitko V. (1975). Toxicity and pollution potential of thallium. *Science of the Total Environment*, 4, 185–192
- Zivot, A., Lipton, J. M., Narla, A., Blanc, L. (2018). Erythropoiesis: insights into pathophysiology and treatments in 2017. *Molecular Medicine*, 24(1), 1-15.
- White, S. J. O., Hemond, H. F. (2012). The Anthropobiogeochemical Cycle of Indium: A Review of the Natural and Anthropogenic Cycling of Indium in the Environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42(2), 155–186.

ANEXO

Cuadros complementarios

Cuadro IV. Porcentaje de viabilidad de leucocitos de ratones tratados con cloruro de talio(III) (TlCl_3) o cloruro de indio(III) (InCl_3).

Dl ₅₀	Tratamientos					
	TlCl_3			InCl_3		
	Viables	Apoptóticas	Necróticas	Viables	Apoptóticas	Necróticas
0 h						
Testigo	95.50 ± 1.17	3.00 ± 0.79	1.50 ± 0.61	95.50 ± 1.17	3.00 ± 0.79	1.50 ± 0.61
1/8	95.00 ± 1.46	3.30 ± 1.20	1.70 ± 0.27	94.40 ± 0.55	3.10 ± 0.74	2.50 ± 0.61
1/4	94.80 ± 1.60	3.10 ± 0.96	2.10 ± 0.82	94.50 ± 1.54	3.40 ± 0.96	2.10 ± 0.74
1/2	93.70 ± 1.68	3.70 ± 1.15	2.60 ± 0.82	94.40 ± 1.60	3.50 ± 1.17	2.10 ± 0.54
24 h						
Testigo	94.70 ± 1.25	3.70 ± 1.10	2.20 ± 0.91	94.70 ± 1.25	3.70 ± 1.10	2.20 ± 0.91
1/8	93.00 ± 1.80	4.80 ± 1.64	2.20 ± 1.04	92.90 ± 1.85	3.40 ± 0.89	3.70 ± 1.85
1/4	93.10 ± 2.19	4.40 ± 1.56	2.50 ± 0.79	93.60 ± 1.14	4.00 ± 1.11	2.40 ± 1.08
1/2	92.60 ± 2.51	4.30 ± 1.72	3.10 ± 0.89	93.60 ± 1.34	4.30 ± 0.76	2.10 ± 0.82
48 h						
Testigo	94.60 ± 1.98	2.90 ± 1.39	2.50 ± 0.79	94.60 ± 1.98	2.90 ± 1.39	2.50 ± 0.79
1/8	95.00 ± 1.00	3.30 ± 0.67	1.70 ± 0.67	94.20 ± 0.84	2.60 ± 0.74	3.20 ± 0.44
1/4	93.70 ± 0.97	3.80 ± 0.91	2.50 ± 0.79	93.20 ± 1.96	4.20 ± 1.68	2.60 ± 0.54
1/2	93.70 ± 0.57	3.70 ± 0.45	2.60 ± 0.65	94.00 ± 1.58	4.00 ± 1.36	2.00 ± 0.79
72 h						
Testigo	94.60 ± 0.65	3.00 ± 0.35	2.40 ± 0.65	94.60 ± 0.65	3.00 ± 0.35	2.40 ± 0.65
1/8	95.00 ± 1.27	3.20 ± 1.04	1.80 ± 1.20	94.20 ± 0.57	2.70 ± 0.44	3.10 ± 0.74
1/4	94.90 ± 0.65	3.40 ± 0.42	1.70 ± 0.45	95.90 ± 1.47	2.50 ± 1.22	1.60 ± 0.41
1/2	93.10 ± 1.29	4.30 ± 1.10	2.60 ± 0.42	94.80 ± 1.15	2.90 ± 0.65	2.30 ± 0.57

Administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la Dl₅₀ de TlCl_3 y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la Dl₅₀ de InCl_3 .

Los datos son de 500 células analizadas por dosis; 5 animales por dosis.

Al grupo testigo se le administro agua inyectable.

Cuadro V. Porcentaje de EPC en sangre periférica de ratones tratados con cloruro de talio(III) (TlCl₃) o cloruro de indio(III) (InCl₃).

Dl ₅₀	Tratamientos					
	TlCl ₃			InCl ₃		
	EPC	% de EPC	P/N	EPC	% de EPC	P/N
0 h						
Testigo	256.20 ± 58.86	12.81 ± 2.94	0.14 ± 0.03	256.20 ± 58.86	12.81 ± 2.94	0.14 ± 0.03
1/8	264.00 ± 35.48	13.20 ± 1.77	0.15 ± 0.02	202.40 ± 17.98	10.12 ± 0.89	0.11 ± 0.01
1/4	263.80 ± 71.25	13.19 ± 3.56	0.15 ± 0.04	222.50 ± 33.96	11.12 ± 1.69	0.12 ± 0.02
1/2	244.50 ± 62.93	12.22 ± 3.14	0.14 ± 0.03	224.0 ± 46.97	11.20 ± 2.34	0.12 ± 0.03
24 h						
Testigo	247.00 ± 46.16	12.35 ± 2.30	0.14 ± 0.03	247.00 ± 46.16	12.35 ± 2.30	0.14 ± 0.03
1/8	274.00 ± 48.17	13.70 ± 2.40	0.15 ± 0.03	201.10 ± 38.04	10.05 ± 1.90	0.11 ± 0.02
1/4	250.60 ± 60.27	12.53 ± 3.01	0.14 ± 0.03	204.00 ± 22.54	10.20 ± 1.12	0.11 ± 0.01
1/2	234.70 ± 64.25	11.73 ± 3.21	0.13 ± 0.03	203.70 ± 15.04	10.18 ± 0.75	0.11 ± 0.00
48 h						
Testigo	306.30 ± 76.05	15.31 ± 3.80	0.18 ± 0.05	306.30 ± 76.05	15.31 ± 3.80	0.18 ± 0.05
1/8	241.30 ± 66.74	12.06 ± 3.33	0.13 ± 0.04	193.20 ± 17.55*	9.66 ± 0.87*	0.10 ± 0.01*
1/4	239.50 ± 41.85	11.97 ± 2.09	0.13 ± 0.02	198.40 ± 15.13*	9.92 ± 0.75*	0.11 ± 0.00*
1/2	235.30 ± 23.99	11.76 ± 1.19	0.13 ± 0.01	201.10 ± 9.35*	10.05 ± 0.46*	0.11 ± 0.00*
72 h						
Testigo	254.40 ± 71.01	12.72 ± 3.55	0.14 ± 0.04	254.40 ± 71.01	12.72 ± 3.55	0.14 ± 0.04
1/8	240.00 ± 66.13	12.00 ± 3.30	0.13 ± 0.04	194.90 ± 15.26*	9.74 ± 0.76*	0.10 ± 0.00*
1/4	334.10 ± 105.82	16.70 ± 5.29	0.20 ± 0.08	193.80 ± 28.62*	9.69 ± 1.43*	0.10 ± 0.01*
1/2	286.10 ± 33.24	14.30 ± 1.66	0.16 ± 0.02	185.80 ± 26.34*	9.29 ± 1.31*	0.10 ± 0.01*

Administración de 1/8 (4.56 mg/kg), 1/4 (9.12 mg/kg) o 1/2 (18.24 mg/kg) de la Dl₅₀ de TlCl₃ y de 1/8 (0.62 mg/kg), 1/4 (1.25 mg/kg) o 1/2 (2.5 mg/kg) de la Dl₅₀ de InCl₃.

Los datos son de 2000 eritrocitos analizados por dosis; 5 animales por dosis.

* p<0.05 comparado con el grupo testigo (ANOVA-TUKEY).

P/N: índice de EPC/ENC.

Cuadro VI. Frecuencia de MN en EPC de sangre periférica de ratones tratados con cloruro de talio(III) ($TlCl_3$) o cloruro de indio(III) ($InCl_3$).

Dl ₅₀	Tratamientos			
	$TlCl_3$		$InCl_3$	
	EPC evaluados	MN	EPC evaluados	MN
0 h				
Testigo	2000	1.00 ± 0.50	2000	1.00 ± 0.50
1/8	2000	0.70 ± 0.57	2000	1.30 ± 0.75
1/4	2000	1.00 ± 0.50	2000	0.80 ± 0.83
1/2	2000	0.70 ± 0.83	2000	0.80 ± 0.57
24 h				
Testigo	2000	0.70 ± 0.27	2000	0.70 ± 0.27
1/8	2000	4.20 ± 1.48 ^{a,b}	2000	4.80 ± 1.09 ^{a,b}
1/4	2000	6.20 ± 1.68 ^{a,b}	2000	5.90 ± 1.34 ^{a,b}
1/2	2000	8.90 ± 2.07 ^{a,b}	2000	6.00 ± 1.73 ^{a,b}
48 h				
Testigo	2000	1.00 ± 0.50	2000	1.00 ± 0.50
1/8	2000	3.90 ± 1.88 ^{a,b}	2000	3.60 ± 0.74 ^{a,b}
1/4	2000	5.50 ± 1.22 ^{a,b}	2000	5.00 ± 1.11 ^{a,b}
1/2	2000	7.20 ± 1.60 ^{a,b}	2000	5.60 ± 0.65 ^{a,b}
72 h				
Testigo	2000	0.70 ± 0.27	2000	0.70 ± 0.27
1/8	2000	3.70 ± 1.09 ^{a,b}	2000	1.90 ± 0.65 ^{a,b}
1/4	2000	4.70 ± 0.90 ^{a,b}	2000	2.60 ± 0.65 ^{a,b}
1/2	2000	4.80 ± 1.09 ^{a,b}	2000	3.30 ± 0.44 ^{a,b}

Datos de MN en $\bar{x} \pm DE$ en 5 animales por dosis.

^a $p < 0.05$, comparado con el grupo testigo (ANOVA-Tukey)

^b $p < 0.05$, comparado con la 0 h de su respectivo grupo (ANOVA-Tukey)

UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

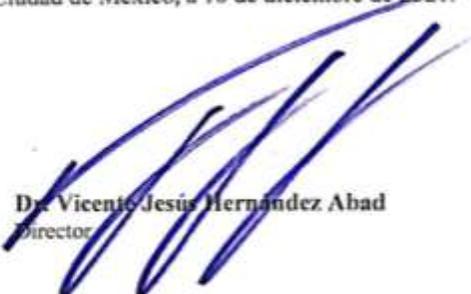
CONSTANCIA

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

a *Sebastián Amaury Consuegra Obregón, Rodrigo Anibal
Mateos Nava, Ángel Armando Viscaya Santillán, Lucila Alvarez
Barrera, Juan José Rodríguez Mercado.*

Por la presentación del Cartel: Genotoxicidad inducida in vivo por cloruro de talio(III) y cloruro de indio(III), en el marco del 17° Congreso de Investigación, llevado a cabo del 9 al 12 de noviembre del año en curso, a través de aulas virtuales, organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación de esta Facultad.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad de México, a 10 de diciembre de 2021.


Dr. Vicente Jesús Hernández Abad
Director