



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

BIOLOGÍA

T E S I S

*Efecto teratogénico de pentóxido de vanadio en fetos  
descendientes de ratones macho CD-1 expuestos de  
forma subcrónica por vía aérea*

PRESENTA

**América Gutiérrez Arenas**

Para obtener el título de

**BIÓLOGA**

**Directora:**

**Dra. Elia Roldán Reyes**

*Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis*

L-2 pp., UMIEZ, C-II



CDMX, 2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



Esta tesis se desarrolló en el *Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis* (LI-FESZ-350115), de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ), Campo II, bajo la dirección de la Dra. Elia Roldán Reyes.

## AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por UNAM PAPIIT IN-221919-3

Beca UNAM PAPIIT Licenciatura/Titulación para América  
Gutiérrez Arenas

No. de Folio 24621

*“La ciencia es la poesía de la realidad”*

*-Richard Dawkins*

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Elia Roldán Reyes, por haberme aceptado en el laboratorio y por transmitirme su conocimiento con tanto esmero, cariño y paciencia. También le agradezco el haberme dado tantas oportunidades, que me han hecho crecer tanto en el ámbito académico y personal. Las palabras no bastan para agradecer todo lo que aprendí en su laboratorio. Usted es uno de mis grandes ejemplos a seguir. ¡Gracias por contagiar esa pasión por la genética!

A la MVZ Adriana Altamirano Bautista, al MVZ Román Hernández Meza, a la MVZ Elizabeth Guzmán Andrade y a todo el personal del Bioterio de la FES-Zaragoza, por todo el apoyo que me brindaron, sobre todo en los tiempos de la pandemia por COVID-19.

Al Dr. Octavio Daniel Reyes Hernández y a la Dra. Leticia Morales Ledesma, quienes fueron mis tutores durante LIF VII-VIII y cuyas aportaciones ayudaron a guiar y enriquecer este proyecto.

A los miembros del jurado, integrado por el Dr. Octavio Daniel Reyes Hernández, el Dr. Flavio Mendoza Rincón, la Dra. Leticia Morales Ledesma y la M. en C. Cristina Alvarado Domínguez, quienes contribuyeron a culminar este proyecto y a quienes tuve el honor de tener como profesores durante la carrera y que sembraron en mí la semilla de la curiosidad y la pasión por la ciencia.

A mis compañeros del Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, Sergio Axel Díaz Mejía, Layla Sheccid Estrada Salas, Claudia Jessica Castillo Villanueva y a Carlos Aldair Hernández Gallardo, de quienes aprendí mucho.

A Guadalupe Jaquelina Pérez Pérez y Andrea Yatsil Aguilar Jiménez, por su compañía y las pláticas tan amenas, durante las largas horas que nos quedábamos en el laboratorio y por enseñarme tanto sobre sus respectivas técnicas.

## DEDICATORIAS

A mi mamá, por siempre brindarme su apoyo incondicional, su amor, paciencia, sabiduría y tiempo durante todos estos años. Gracias por ser la fuente de mi inspiración y por ser el pilar de la familia, por nunca dejarme caer aun en las situaciones más difíciles. Todo lo que soy como ser humano, es gracias a ti. Te quiero infinitamente, mamá.

A mi papá, por apoyarme siempre que fue necesario y por tomarse el tiempo de escucharme y darme consejos.

A mi hermana Sarahí, por siempre estar ahí para escucharme, brindarme un consejo y ayudarme en los problemas que día a día debemos resolver en esta vida. Gracias por ser mi confidente, compañera, amiga y por ser la mejor hermana que pude haber tenido.

A Hiram, por llegar en el momento exacto de mi vida. Por mostrarme que puedo ser capaz de todo, siempre que me lo proponga. Por su apoyo y amor incondicional. Por escucharme durante el ensayo de mis exposiciones y durante la lectura de mis borradores. Te agradezco por siempre sostenerme cuando siento que voy a caer y por levantarme cuando he caído. Con mucho amor, te dedico parte de mi trabajo.

A mi amigo Carlos, por brindarme su amistad durante todos los años de carrera, por escucharme y apoyarme siempre que lo necesité, por su paciencia y su compañerismo. Por ayudarme a sacar adelante el proyecto.

A la Dra. Elia Roldán Reyes, por permitirme ser parte del maravilloso Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, en donde aprendí mucho más de lo que podía imaginar en un principio, por transmitirme su conocimiento con tanto esmero y paciencia y por tener la confianza en aspectos que ni yo misma sabía que podía lograr.

A todos los profesores que tuve durante la carrera.

A la Biología, por ser el primer gran amor de mi vida.

# INDICE

RESUMEN.....	2
SUMMARY.....	3
Introducción.....	6
Vanadio.....	8
Fuentes de vanadio.....	8
Toxicocinética del Vanadio.....	9
Efectos teratogénicos ocasionados por vanadio.....	14
Reprotoxicidad en el macho ocasionada por vanadio.....	16
Funciones del vanadio en los seres vivos.....	17
Espermatogénesis en el ratón.....	18
Desarrollo Embrionario del ratón.....	20
Justificación.....	22
Hipótesis.....	22
Objetivo general.....	22
Objetivos particulares.....	22
Material y método.....	24
Resultados.....	28
a) Efectos embrionales.....	28
b) Anomalías morfológicas.....	30
c) Alteraciones en centros de osificación y cartílago.....	34
1. Cráneo.....	34
2. Extremidades Superiores.....	35
3. Extremidades Inferiores.....	36
4. Esqueleto axial.....	37
5. Longitud de los huesos.....	38
Discusión.....	46
Conclusiones.....	52
Perspectivas.....	53
Referencias Bibliográficas.....	54
Anexos.....	64



## RESUMEN:

**Introducción.** Dentro de los contaminantes atmosféricos se encuentra el material particulado 2.5 (PM2.5), que al ser inhalado ingresa fácilmente al organismo. El PM2.5 incluye los metales pesados, como el vanadio. El vanadio pertenece a los elementos de transición, forma compuestos con las valencias III, IV y V. Se encuentra como  $V_2O_5$ , producto principal de la quema de combustibles fósiles y actividades industriales. Se almacena en tejidos y órganos como hueso, riñón, pulmón y testículo. Se ha reportado que el vanadio genera reprotoxicidad, mutagenicidad y genotoxicidad. **Objetivo.** El objetivo de este estudio fue establecer el efecto teratogénico del  $V_2O_5$  por la exposición subcrónica vía inhalatoria a diferentes concentraciones molares (0.02, 0.04, 0.08 y 0.12) utilizando ratones macho de la cepa CD-1 (teratogénesis mediada por el macho). **Método.** Se utilizaron 5 ratones macho de la cepa CD-1 por cada grupo experimental y control. A los machos del control positivo se les suministró Mitomicina C vía intraperitoneal (i.p.) cada dos días durante un lapso de quince días. A los machos expuestos a  $V_2O_5$  se les administró un tratamiento subcrónico vía inhalatoria en diferentes concentraciones molares del compuesto (0.02, 0.04, 0.08 y 0.12). Cada tratamiento duró una hora. Se expusieron cada tercer día durante quince días. Los machos tratados fueron apareados con hembras sanas. A los 16 días de gestación se extrajeron los fetos, se evaluó el número de fetos vivos, reabsorciones, peso y longitud cefalocaudal, anomalías morfológicas externas, huesos y cartílagos mediante la técnica de diafanización y tinción con rojo de alizarina y azul de alcian. Los procedimientos se llevaron a cabo según la NOM-062-ZOO-1999. Se utilizó  $t$  de Student para evaluar la longitud y peso,  $Z$  de proporciones para evaluar el número de fetos vivos/muertos, normales/anormales, hembras/machos y  $X^2$  para evaluar las anomalías morfo-esqueléticas. **Resultados.** Se encontró una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) de la longitud fetal promedio en los grupos de fetos descendientes de ratones macho expuestos  $V_2O_5$  en las concentraciones molares de 0.02, 0.08 y 0.12, y una disminución del peso fetal promedio en la concentración 0.08 M. Hubo un aumento ( $p < 0.05$ ) en el número de fetos muertos en los grupos 0.08 M y 0.12 M. Se encontraron anomalías morfológicas como cuello corto, párpados y orejas mal desarrolladas, así como fontanelas con hematomas en todos los grupos de fetos descendientes de ratones machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria a  $V_2O_5$ . En cuanto a las anomalías en la osificación, los grupos de  $V_2O_5$  0.08 M y 0.12 M presentaron un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de las ausencias de centros de osificación, retrasos en la osificación y osificación incompleta en todos los huesos y centros de osificación evaluados. **Discusión.** El vanadio puede dañar el material genético de los gametos masculinos, a través de la generación ROS y RNS y mediante la inhibición o activación de vías señalización de las fosfatasa y quinasas. Esto, puede comprometer genes de impronta paterna, como el *IGF2*, relacionado con el desarrollo de la placenta. Un mal desarrollo de este órgano está relacionado con una disminución del peso y crecimiento intrauterino y posnatal. Otros grupos de genes que pueden verse afectados, son *Dlk1-Dio3*, cuya alteración puede ocasionar DUP materna, lo que conlleva un retraso en el desarrollo de los huesos faciales. La expresión de los genes de impronta paterna, puede alterar la expresión de genes homeóticos como *BAPX1* y *HOX*. **Conclusiones.** El vanadio aumentó la frecuencia de efectos adversos embrio-fetales y anomalías morfo-esqueléticas. Este compuesto ocasiona reprotoxicidad que se ve reflejada en la descendencia.

## SUMMARY:

**Introduction.** Among air pollutants is p particulate matter 2.5 (PM2.5), which easily enters the body when inhaled. PM2.5 includes heavy metals, such as vanadium. Vanadium belongs to the transition elements, it forms compounds with valences III, IV, and V. It is found as V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, the main product of the burning of fossil fuels and industrial activities. It is stored in tissues and organs such as bone, kidneys, lungs, and testicles. Vanadium has been reported to cause reprotoxicity, mutagenicity, and genotoxicity.

**Objectives.** The objective of this study was to establish the teratogenic effect of V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> by subchronic exposure via inhalation at different molar concentrations (0.02, 0.04, 0.08, and 0.12) using male mice of the CD-1 strain (male-mediated teratogenesis).

**Method.** Five male mice of the CD-1 strain were used for each experimental and control group. Positive control males were given Mitomycin C intraperitoneally (i.p.) every two days for a period of fifteen days. Males exposed to V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> were administered a subchronic inhalation treatment at different molar concentrations of the compound (0.02, 0.04, 0.08, and 0.12). Each treatment lasted one hour. They were exposed every third day for fifteen days. Treated males were mated with healthy females. At 16 days of gestation, the fetuses were extracted, the number of live fetuses, resorptions, weight, and cephalocaudal length, external morphological abnormalities, bones, and cartilage were evaluated using the diaphanization technique and staining with alizarin red and alcian blue. The procedures were carried out according to NOM-062-ZOO-1999. Student's t-test was used to evaluate length and weight, Z of proportions to evaluate the number of live/dead, normal/abnormal, female/male fetuses, and X<sup>2</sup> to evaluate morpho-skeletal abnormalities.

**Results.** A significant (p<0.05) decrease in mean fetal length was found in groups of fetuses descended from male mice exposed to V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> at molar concentrations of 0.02, 0.08, and 0.12, and a decrease in mean fetal weight at 0.08 M concentration. There was an increase (p<0.05) in the number of stillborn fetuses in the 0.08 M and 0.12 M groups. Morphological abnormalities such as short necks, poorly developed eyelids and ears, as well as fontanels with bruises were found in all groups of fetuses descended from male mice exposed to subchronic treatments via inhalation to V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Ossification abnormalities. The groups of V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 0.08 M and 0.12 M presented a significant increase (p<0.05) of the absence of ossification centers, ossification delays and incomplete ossification in all the bones and ossification centers evaluated.

**Discussion.** Vanadium can damage the genetic material of male gametes, through the generation of ROS and RNS and through the inhibition or activation of phosphatase and kinase signaling pathways. This can compromise genes of paternal imprints, such as *IGF2*, related to the development of the placenta. Poor development of this organ is related to a decrease in weight and intrauterine and postnatal growth. Other groups of genes that can be affected are *Dlk1-Dio3*, whose alterations can cause maternal DUP, which leads to a delay in the development of facial bones. The expression of paternally imprinted genes can alter the expression of homeotic genes such as *BAPX1* and *HOX*.

**Conclusion.** Vanadium increased the frequency of embryo-fetal adverse effects and morpho-skeletal abnormalities. This compound causes reprotoxicity that is reflected in the offspring

## TABLA DE ABREVIATURAS

PM	Material Particulado
PM2.5	Material particulado de diámetro aerodinámico $\leq 2.5 \mu\text{m}$ .
PM10	Material particulado de diámetro aerodinámico $\leq 10 \mu\text{m}$ .
V	Vanadio
V <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Pentóxido de vanadio
SO <sub>3</sub>	Anhidro sulfúrico
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	Ion sulfato
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
PO <sub>3</sub> <sup>-4</sup>	Ion fosfito
VO <sub>3</sub> <sup>-4</sup>	Óxido de vanadio (II)
ATP	Adenosín Trifosfato
MAP	Proteínas asociadas a microtúbulos
V <sub>10</sub> O <sub>28</sub> <sup>-6</sup>	Decavanadato
AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
MAPKs	Vía de las proteínas quinasa activadas por mitógenos
pRb	Proteína del retinoblastoma
Akt	Quinasa B
NaVO <sub>3</sub>	Metavanadato de sodio
NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	Metavanadato de amonio
V <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Tetróxido de vanadio
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamida adenín dinucleótido (oxidada)
NADH	Nicotinamida adenín dinucleótido (reducida)
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RNS	Especies reactivas de nitrógeno
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Radical superóxido
CO	Centros de osificación
PE	Preeclampsia
DUP	Disomía Uniparental

## ÍNDICE DE FIGURAS

Deposición del PM en las vías respiratorias .....	7
Toxicocinética del vanadio.....	10
Ingreso del vanadio a través de la vía inhalatoria y especiación .....	12
Método .....	26
Frecuencia de fetos normales.....	29
Anomalías Morfológicas.....	31

Microfotografías anomalías morfológicas.....	31-33
Microfotografías alteraciones en la osificación .....	40-45

## ÍNDICE DE TABLAS

Duración de la espermatogénesis en el ratón.....	20
Etapas del desarrollo embrionario en el ratón.....	21
Grupos experimentales.....	24
Efectos embriofetales.....	28
Alteraciones en los huesos y centros de osificación.....	34-38
Promedio de las extremidades superiores e inferiores.....	38
Correlación entre las anomalías morfo-esqueléticas y los tratamientos subcrónicos con $V_2O_5$ .....	39

## Introducción.

En los últimos años, con el aumento de las actividades industriales y la urbanización, la contaminación ambiental se ha visto incrementada. Se estima que, desde el inicio de la revolución industrial, más de 112,000 sustancias químicas han sido producidas por el ser humano y que, a partir de la década de 1940, un aproximado de 2000 nuevas sustancias químicas son liberadas anualmente, al ambiente como producto de la actividad humana (Olea *et al.*, 2001).

La contaminación, puede definirse como “cualquier modificación indeseable del ambiente, causada por la introducción a este de agentes físicos, químicos o biológicos, en cantidades superiores a las naturales” (Placeres *et al.*, 2006). Dentro de los diversos tipos de contaminación ambiental, se encuentra la atmosférica. De acuerdo a los datos mostrados en 2016 por la Organización Mundial de la Salud, alrededor 4.2 millones de defunciones por accidente cerebrovascular, cardiopatía coronaria, cáncer de pulmón, así como enfermedades respiratorias crónicas o agudas, son atribuibles a la contaminación del aire (WHO, 2016).

La contaminación atmosférica, se define como “la emisión al aire de sustancias químicas peligrosas a una tasa que excede la capacidad de los procesos naturales de la atmósfera para transformarlos, precipitarlos (lluvia o nieve) y depositarlos o diluirlos por medio del viento y el movimiento del aire” (Yassi *et al.*, 2002).

Según su origen, la emisión de sustancias a la atmósfera, puede ser clasificada en dos: naturales (polen, esporas, bacterias, erosión de rocas, erupciones volcánicas, etc.) y antropogénicas (quema de combustibles fósiles, aerosoles provenientes de insecticidas o herbicidas, etc.) (Placeres *et al.*, 2006).

Éstas últimas, las sustancias químicas de origen antropogénico, incluyen un grupo muy particular de contaminantes, el material particulado (PM). El PM, es un conjunto de partículas sólidas y líquidas emitidas al aire, algunos ejemplos de estas son el hollín del diesel, el polvo de la agricultura, las partículas resultantes de procesos industriales, etc. (Fang *et al.*, 2003). Estas partículas pueden ser metales, sales, materiales orgánicos volátiles, materiales carbonosos, que, a su vez, interactúan entre sí para formar nuevos compuestos tales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos y las endotoxinas (Billet *et al.*, 2007).

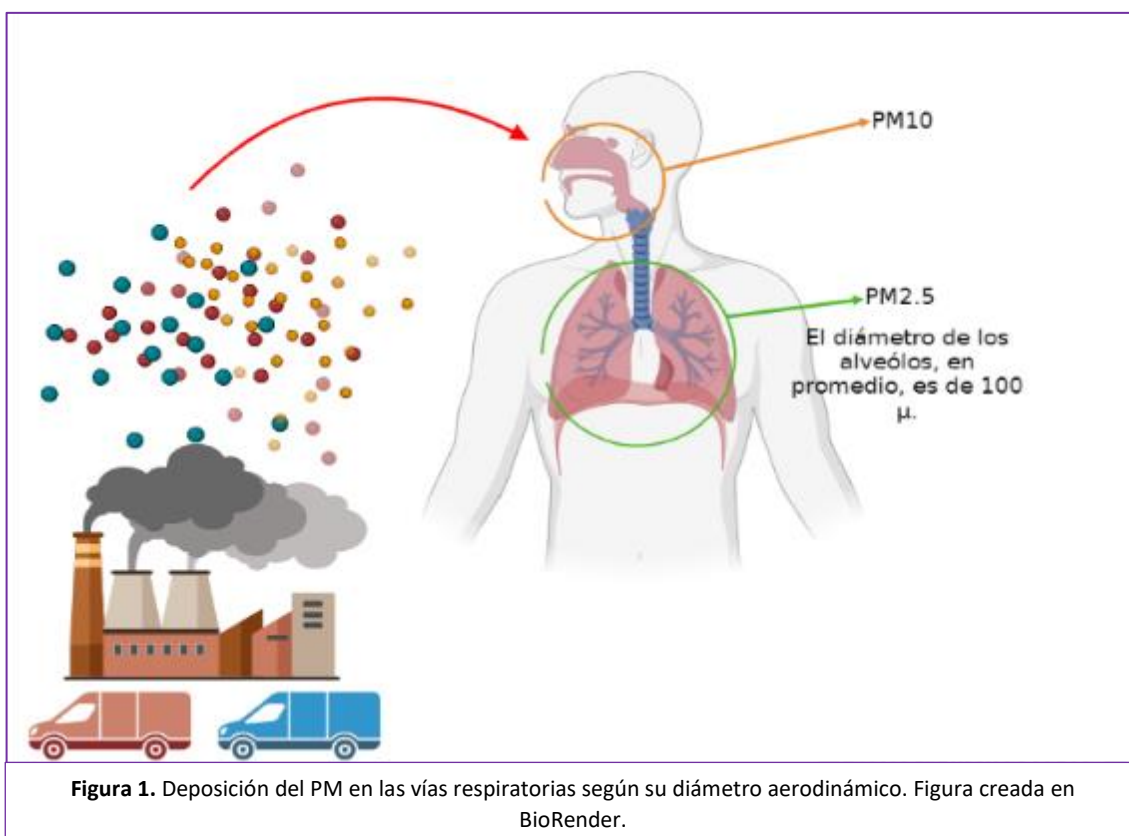
El PM se clasifica en dos tipos de partículas según su diámetro aerodinámico: PM10 y PM2.5. El PM10, incluye a todas aquellas partículas cuyo diámetro aerodinámico es inferior a 10  $\mu\text{m}$ , además, pueden permanecer suspendidas en el aire durante varias horas e incluso días. Por otra parte, las partículas que conforman el PM2.5, poseen un diámetro aerodinámico menor a 2.5  $\mu\text{m}$  (García-Velasco *et al.*, 2019).

Dentro de estos dos tipos de material particulado, el PM2.5 es el que representa un mayor riesgo a la salud, puesto que, las partículas que poseen un diámetro aerodinámico de entre 0.1-3  $\mu\text{m}$ , pueden ingresar hasta los alvéolos, además,

aquellas partículas cuyo diámetro es menor a  $1\ \mu\text{m}$ , tienen la capacidad de entrar al torrente sanguíneo. En cuanto a las partículas con un diámetro menor a  $10\ \mu\text{m}$ , generalmente quedan atrapadas y son removidas (Figura 1) (Echeverri-Londoño y Maya-Vasco, 2008; García-Velasco *et al.*, 2019).

En los últimos años, se ha encontrado que existe una correlación positiva entre la concentración de  $\text{PM}_{2.5}$  y los datos de morbilidad y mortalidad en la población expuesta a dichas partículas (Echeverri-Londoño y Maya-Vasco, 2008).

Como se mencionó anteriormente, dentro del  $\text{PM}_{2.5}$  se encuentran algunos metales como Br, Rb, Pb, Fe, Cr, Ba, Se, As, Sr, Mo, etc. Se ha reportado que las concentraciones de metales pesados en el aire son mayores en las zonas urbanas, un ejemplo de esto, fue un estudio realizado en 2006 por Athanasios y cols., en donde se encontró que el aire de la Ciudad Atenas, Grecia, contenía metales pesados como  $\text{Fe}^+$ ,  $\text{Al}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ ,  $\text{Mg}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Be}^+$ ,  $\text{B}^+$  y  $\text{V}^+$ , entre otros, los cuáles eran productos de la actividad del flujo vehicular que funciona con diesel y gasolina.



Dentro de los metales pesados que se encuentran formando parte del  $\text{PM}_{2.5}$ , está el vanadio, del cual se explicarán las propiedades fisicoquímicas a continuación.



## Vanadio

El vanadio (V) fue descubierto en México en el año de 1801 (Weckhuysen y Keller, 2003). El vanadio es un metal dúctil, que puede encontrarse sólido o como un polvo gris brillante.

Este metal pertenece a los elementos de transición del grupo VB, periodo 4, de la tabla periódica, su número atómico es 23 y posee un peso atómico de 50.95 g/mol, su punto de fusión es de 1950 °C, mientras que el punto de ebullición de este elemento es de 3600°C y tiene una densidad de 6.11 g/cm<sup>3</sup> (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

El vanadio es uno de los 22 elementos más abundantes y ampliamente distribuidos en la corteza terrestre, a una concentración promedio de aproximadamente 100 mg/kg (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006; Crebelli y Leopardi, 2012; Treviño *et al.*, 2019). Dicho elemento, se encuentra formando parte de alrededor de 152 tipos de minerales diferentes (Weckhuysen y Keller, 2003).

El vanadio tiene diferentes estados de oxidación que van desde -1 a +5 y generalmente pasa de un estado a otro por la transferencia de un electrón a través de procesos de óxido-reducción (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006), sin embargo, forma compuestos principalmente con las valencias +3, +4 y +5. En presencia de oxígeno, aire, sangre oxigenada o agentes oxidantes, el vanadio generalmente está en el estado de oxidación +5, siendo la forma pentavalente la más estable y la más tóxica (WHO, 2000; Crebelli y Leopardi, 2012; Abd-Elaziz, 2020). Por otra parte, en presencia de agentes reductores, se encuentra en el estado de oxidación +4 (Erdmann *et al.*, 1984). Se ha reportado que *in vivo*, dadas las condiciones fisiológicas estándar (pH 3-7, solución acuosa aeróbica, temperatura ambiente), prevalecen los estados de oxidación +4 y +5 (Thompson y Orvig, 2001).

## Fuentes de vanadio

Como se mencionó anteriormente, el vanadio es uno de los elementos más abundantes de la corteza terrestre. De forma natural, se encuentra en minerales como la vanadita, chileita, patronita y carnotita, entre otros (IPCS, 2001) y es liberado al ambiente mediante la lixiviación y erosión de rocas que lo contienen (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Las concentraciones de vanadio en el suelo, varían de 3 a 100 µg/g de peso seco. Por otra parte, la concentración de vanadio en el agua varía de 0.2 a 100 µg/L en agua dulce (WHO, 2000) y de 1 a 3 µg en agua salada, con valores máximos de 7 a 200 µg/kg de peso seco en sedimentos costeros (Miramand y Fowler, 1998).

En cuanto a liberación natural de vanadio a la atmósfera, se estima que se liberan 8.4 toneladas anuales de este compuesto. Las principales fuentes de

liberación de vanadio a la atmósfera son la erosión de las rocas, las erupciones volcánicas, los incendios forestales, los aerosoles marinos y los ciclos biogeoquímicos (IPCS, 2001). La concentración de vanadio en el aire en zonas rurales, es aproximadamente de  $3.7 \text{ ng/m}^3$ , mientras que, en áreas urbanas, alcanza los  $103 \text{ ng/m}^3$ . En zonas con alta actividad industrial, esta concentración puede aumentar hasta los  $620 \text{ ng/m}^3$  (Rehder, 2017; Treviño *et al.*, 2019)

Cabe mencionar que la concentración de vanadio, de forma natural, varía dependiendo del tipo de suelo, clima, etc., que tenga el ecosistema, sin embargo, las concentraciones de este metal pueden verse incrementadas en el ambiente, si hay zonas industriales o plantas metalúrgicas cercanas a los ecosistemas (WHO, 2000; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Por otra parte, las principales fuentes antropogénicas que liberan vanadio a la atmósfera son, la quema de petróleo crudo o residual y de carbón, así como la industria metalúrgica. En 2001, la emisión antropogénica de vanadio a la atmósfera era de 64,000 toneladas anuales (IPCS, 2001).

El vanadio puro se utiliza para crear aleaciones de ferrovanadio, el cual es empleado para la fabricación del acero, sin embargo, el pentóxido de vanadio ( $\text{V}_2\text{O}_5$ ), es la forma más común utilizada en diversos procesos industriales, como procesos de oxidación en fase gaseosa, particularmente la conversión de  $\text{SO}_2$  a  $\text{SO}_3$  durante la manufactura del  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , también es utilizado durante la fabricación de pigmentos y tintas de tonos verdes para cerámicas, para la manufactura de vidrio y para proporcionar filtrado de luz ultravioleta en algunos lentes, así como para la elaboración de insecticidas y fungicidas. Este compuesto también es empleado en la industria atómica, la construcción de maquinaria aérea y tecnología espacial (WHO, 2000; IPCS, 2001; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006; New Jersey Department of Health, 2011).

## Toxicocinética del Vanadio

El metabolismo del vanadio en el cuerpo humano, aún no se ha definido por completo, sin embargo, se sabe que este elemento puede ingresar al organismo mediante tres vías: cutánea, gástrica o inhalatoria. Las principales fuentes de exposición para la población en general, son la gástrica y la inhalatoria (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Algunos estudios han demostrado que las sales solubles en agua de dicho elemento, ingresan al organismo principalmente a través de la vía gástrica, a pesar de que mediante esta vía el vanadio es poco absorbido e ingresa alrededor del 10%. Por otra parte, se ha demostrado que el  $\text{V}_2\text{O}_5$ , junto con otros compuestos de vanadio, se absorbe mejor, a través de la vía inhalatoria ya que ingresa alrededor un 25% del compuesto (Mukherjee *et al.*, 2004; Goe, 2006).

Una vez que el vanadio ingresa al organismo (Figura 2) por alguna de las vías anteriormente mencionadas, es absorbido y transportado a diversos tejidos a



través del torrente sanguíneo (Elinder *et al.*, 1988; Mukherjee *et al.*, 2004; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Dentro del cuerpo, el  $V^{+5}$ , es reducido a  $V^{+4}$  por el glutatión de los eritrocitos o por ácido ascórbico, las catecolaminas u otras sustancias reductoras del plasma (Rehder, 2003), sin embargo, como se mencionó anteriormente, en presencia de sangre oxigenada y, por las condiciones fisiológicas estándar del organismo, el vanadio vuelve a ser oxidado a sus estados  $V^{+4}$  o  $V^{+5}$ , cabe mencionar que es durante este proceso cuando se producen las ROS (WHO, 2000; Goe, 2006; Crebelli y Leopardi, 2012; Korbecki *et al.*, 2012; Treviño *et al.*, 2019; Hu *et al.*, 2021).

Una vez dentro del torrente sanguíneo, un 90% del vanadio se une a la transferrina, principal proteína de la sangre, con un dominio de unión para el hierro, o a la albúmina, proteína altamente soluble presente en el plasma, que puede unirse reversiblemente a aniones o cationes y transportar metales pesados, drogas, tinturas, etc., de tal forma que, los compuestos de vanadio son transportados a todo el organismo por medio de dichas proteínas (Cordero *et al.*, 1985; Correia *et al.*, 2017; Sermini *et al.*, 2017).

Independientemente de la vía de entrada del vanadio, este se acumula en tejidos diana como los pulmones, hígado, riñones, huesos, testículos y bazo (Edel y Sabbioni, 1988; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Algunos estudios demostraron que los compuestos de vanadio, sobre todo los menos solubles en agua, se eliminan lentamente de los huesos y pulmones, en

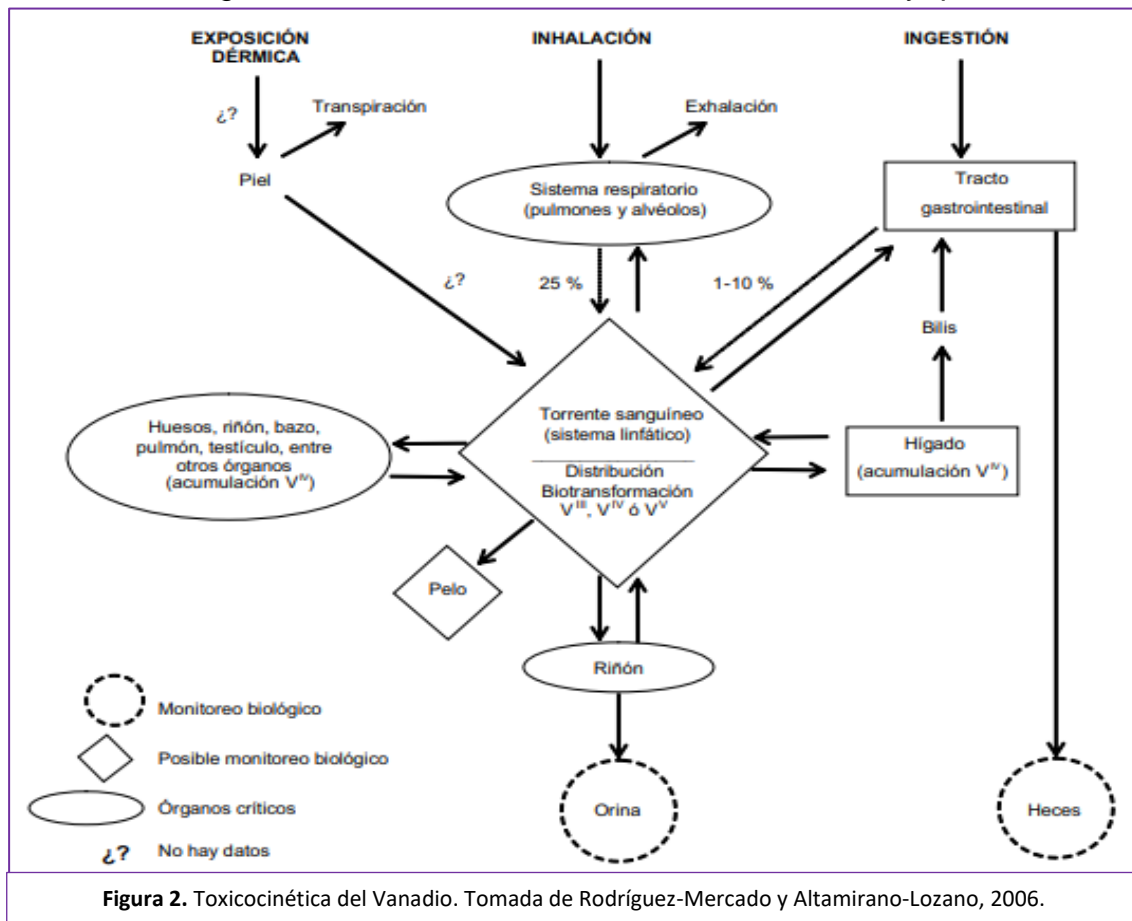


Figura 2. Toxicocinética del Vanadio. Tomada de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006.

comparación de los demás tejidos en donde su eliminación es relativamente rápida, cabe mencionar que el tiempo de exposición es un factor determinante, por ejemplo, el aclaramiento pulmonar del  $V_2O_5$ , el cual, es poco soluble, es relativamente rápido en animales expuestos de forma aguda a dicho compuesto, sin embargo, es lento si se exponen de forma crónica (Sharma *et al.*, 1987; Treviño *et al.*, 2019). El vanadio absorbido, es desechado mediante los riñones o a través de la bilis y es excretado mediante orina o heces. La excreción de este elemento a través la orina, se da de forma bifásica: las primeras veinte horas se desecha la mayor parte del compuesto y posteriormente, a los 40 o 50 días se desecha el resto (Elinder *et al.*, 1988). El tiempo de vida media del vanadio dentro del cuerpo humano es de aproximadamente 42 días, sin embargo, la mayor parte es eliminado a los dos días (Goe, 2006).

Cabe mencionar que el vanadio es capaz de atravesar las barreras hematotesticular y placentaria e inducir daño citotóxico y teratogénico (Altamirano-Lozano *et al.*, 2014).

### **Transporte intracelular del Vanadio**

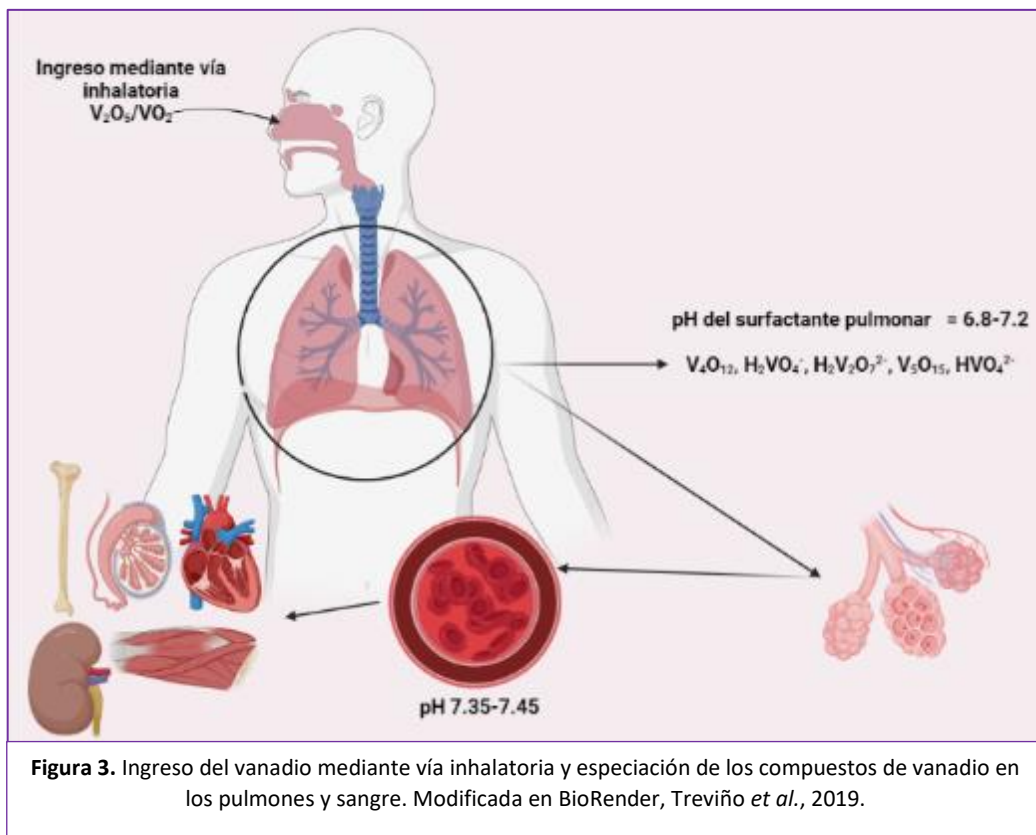
Como se mencionó anteriormente, los compuestos de vanadio pueden ingresar mediante tres vías distintas y, dependiendo de la vía de ingreso, se absorberá una menor o mayor cantidad de dicho elemento.

La vía que se tiene más descrita es la gástrica, sin embargo, no se han encontrado diferencias metabólicas entre las otras vías una vez que el vanadio ingresa al torrente sanguíneo (Edel y Sabbioni, 1988).

Se ha sugerido que, cuando el vanadio ingresa al organismo mediante la vía gástrica, es transformado en iones vanadilo que son absorbidos en la mucosa duodenal, en donde entran al torrente sanguíneo para unirse con la transferrina o la albúmina. Estas proteínas estabilizan los iones vanadilo, los cuales se oxidan espontáneamente a iones vanadato (Radike *et al.*, 2002, Goe, 2006). Por otra parte, se sabe que, cuando el vanadio ingresa mediante la vía inhalatoria (Figura 3), antes de ser transportado al torrente sanguíneo, actúa directamente sobre el músculo liso bronquial, promoviendo la liberación de  $Ca^{2+}$  intracelular, mediante la producción de segundos mensajeros, lo cual, da como resultado producción de espasmos debido a la inhibición de la bomba de calcio (Cortijo *et al.*, 1997; Treviño *et al.*, 2019)

Una vez en el torrente sanguíneo, los compuestos y iones de vanadilo penetran en la membrana de las células, sin que existan cambios conformacionales en el compuesto original, a través de difusión pasiva, mientras que, los iones y compuestos de vanadato ingresan mediante canales aniónicos. Ambos tipos de iones y compuestos sufren procesos de óxido-reducción, cambiando de vanadilo a vanadato y viceversa (Cantley *et al.*, 1978; Urban *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2003; Goe, 2006). Por otra parte, algunos estudios con la línea celular CaCo-2 (células neoplásicas del colon) sugieren que los compuestos de vanadio, en su forma catiónica y aniónica, ingresan a las células por el espacio intracelular a través difusión pasiva y ocasionan cambios en los filamentos de actina y en las

microvellosidades (Yang *et al.*, 2004). Este mecanismo de entrada volvió a ser confirmado en 2014 por Sanna y cols., en donde analizaron los efectos del vanadio en pacientes diabéticos.



Dentro de las células, el ion vanadilo forma uniones con los aminoácidos, especialmente con el ácido glutámico, cisteína y glutamina, así como con ácidos nucleicos y lípidos (Kiersztan, 1998). Por otra parte, los compuestos y iones de vanadato, dentro de la célula, atraviesan un proceso de especiación, es decir, pueden formar monómeros, dímeros, tetrámeros, pentámeros, decámeros u otros compuestos, dependiendo del pH intracelular (Figura 3). Estos polímeros de vanadato se unen a las proteínas de la célula, formando complejos que pueden intervenir en el metabolismo celular (Goe, 2006; Treviño *et al.*, 2019). Un ejemplo de esto, es que el  $VO_3^{-4}$ , análogo estructural de  $PO_3^{-4}$ , puede reemplazar los centros activos de las enzimas a las que se une dicho anión e incluso puede reemplazar a otros ésteres de fósforo, lo que desencadena la activación o inhibición de algunas enzimas.

También se ha demostrado que el vanadio, posee una gran afinidad por las proteínas que contienen hierro, como la ferritina, proteína que almacena hierro (Sanna *et al.*, 2014).

Además, dependiendo del tipo de polímero que formen los iones vanadato, tendrán diferentes efectos sobre el mecanismo celular. Por ejemplo, en las células eucariotas, los dímeros y tetrámeros influyen en el proceso de polimerización de los microtúbulos, mientras que, los decámeros pueden inhibir

la polimerización de los microtúbulos, actuando directamente sobre la tubulina e inhibiendo, a su vez, la unión de las proteínas MAP y Tau (Galli *et al.*, 1991; Correia *et al.* 1994; Lobert *et al.*, 1994).

Cabe mencionar que se ha observado que, el vanadio interfiere con el flujo de  $K^+$  mediante la fosforilación en los residuos de tirosina y la activación de la bomba  $Na^+/K^+$  (Bruck *et al.*, 1998; Goe, 2006). Posteriormente, algunos estudios demostraron que otros mecanismos enzimáticos como las bombas de  $Ca^{2+}$ , son inhibidas por el vanadio. Un fuerte inhibidor de esta ATPasa, es el decavanadato ( $[V_{10}O_{28}]^{-6}$ ) (Cortijo *et al.*, 1987; Aureliano *et al.*, 2008; Treviño *et al.*, 2019;).

La capacidad de los complejos de vanadio para inhibir dichas ATPasas, puede deberse a su facultad para imitar un análogo del estado de transición, que puede ser reversible (formas de vanadato) o irreversible (complejos peroxivanádicos), (Goe, 2006; Aureliano *et al.*, 2008). Otro ejemplo de que el vanadio imita estados de transición, es que, el vanadato inhibe a la miosina, la cual puede ser considerada como una ATPasa. La miosina tipo II se une al vanadio en Ser236, que es un residuo crítico para la actividad de la proteína. El vanadio también puede interactuar con la miosina tipo I y IV. Esto se debe a que el vanadio imita el estado de transición para la hidrólisis del fosfato, bloqueando la miosina por el estado intermediario ADP-fosfato (Aureliano, 2011; Aureliano, 2016; Treviño, 2019)

Por otra parte, el vanadio no solo puede intervenir en la regulación enzimática, sino que también puede dar origen a especies reactivas de oxígeno, las cuales producen peroxidación de lípidos y lipoproteínas, esto conduce a la agregación de proteínas, endurecimiento de la membrana plasmática, inducción de procesos mutagénicos y apoptosis (Lapenna *et al.*, 2002).

Por último, se ha demostrado que, el vanadio interfiere en la actividad de segundos mensajeros, por ejemplo, mediante la estimulación de la adenil ciclasa, que cataliza la reacción del ATP para formar AMPc. También se sabe que el vanadio estimula los receptores de insulina, los cuales activan la fosfolipasa C, la cual participa en el metabolismo del fosfatidilinositol bifosfato y las vías de calcio dependientes de la señalización celular relacionada con lípidos, que, a su vez, regulan varios procesos celulares (Hayashi y Kimura, 1986; Bencherif y Lukas, 1992; Poot, 2010).

## Vanadio y su interacción con Fosfatasas y Quinasas

Las quinasas y las fosfatasas son enzimas que catalizan la adición o eliminación de un grupo fosfato. Estas enzimas participan y regulan diversas rutas de señalización celular, como por ejemplo el ciclo celular.

Las fosfatasas son enzima que catalizan la hidrólisis del enlace éster fosfórico y dichas enzimas se clasifican en tres grupos: las que catalizan la hidrólisis del enlace del fosfato a residuos de serina o treonina (S/TPP); las que catalizan la hidrólisis sobre los residuos de tirosina (YPP) y, las que poseen especificidad

dual (S/YPP) (Hernández-Fernández, 2012). También pueden clasificarse como fosfatasa alcalinas o ácidas, siendo las alcalinas las que poseen un residuo de serina en el sitio activo e hidrolizan monoésteres de fosfato, además de que catalizan la transferencia de fosfatos a grupos hidroxilo. Mientras que, las fosfatasa ácidas, fosforilan, en su sustrato, el residuo de histidina en el sitio activo y el grupo fosfato también cataliza la reacción (Treviño *et al.*, 2019). En ambos tipos de fosfatasa, ácidas y alcalinas, durante la hidrólisis, se forma un estado de transición de alta energía del fosfato (Vescina *et al.*, 1996).

Se ha demostrado que el vanadato es capaz de inhibir algunas fosfatasa, debido a que puede imitar el estado de transición de alta energía del fosfato durante el ciclo catalítico de la fosfatasa. La capacidad de inhibición se atribuye a que el vanadio forma estados análogos de transición con estructura bipiramidal trigonal, la cual es parecida al estado de transición que muestran los grupos fosfato, además de que probablemente, los análogos de transición del vanadio, interactúan más fuertemente con el sitio activo de la enzima (Holtz *et al.*, 1999; Marchand *et al.*, 2009; Mercado-Mercado *et al.*, 2012; Treviño *et al.*, 2019).

Por otra parte, el vanadato también puede oxidar la cisteína del sitio activo de las PTPasas (receptores tirosina-fosfatasa) que requieren agentes reductores de tiol para funcionar correctamente (Deng *et al.*, 2002).

En cuanto a las quinasas, estas son enzimas que catalizan la transferencia de grupos fosforilo desde un nucleósido trifosfato (generalmente ATP) hacia aminoácidos hidroxilados que forman parte de una proteína (Hernández-Fernández, 2012).

Las quinasas se clasifican en tres grupos: las que transfieren el grupo fosforilo hacia los residuos de serina o treonina; las que lo hacen hacia residuos de tirosina y las que lo hacen hacia cualquiera de ellos (Hernández-Fernández, 2012). Diversos estudios han demostrado que los compuestos de vanadio inhiben directamente la actividad de la CDK2 en los complejos con ciclina A y ciclina B, con lo que se inducen la detención del ciclo celular en la fase G2/M (Zhang *et al.*, 2001). Además, también se demostró que las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs), específicamente ERK y p38, pueden ser activadas por compuestos de vanadio, lo cual da como resultado, al igual que el caso anterior, la detención del ciclo celular en la fase G2/M (Zhang *et al.*, 2003).

Por último, en un estudio realizado por Zhang y cols. en 2004, se comprobó que el vanadato desencadena la fosforilación de la proteína pRb y la liberación del factor de transcripción E2K1, el cual regula la maquinaria de proliferación celular junto con la proteína quinasa B (Akt).

## **Efectos teratogénicos ocasionados por vanadio**

La teratología se define como el estudio de las malformaciones congénitas, su manifestación y los mecanismos anormales del desarrollo prenatal. La teratogénesis, es ocasionada por factores físicos, químicos o biológicos, que presentan un efecto adverso sobre el embrión o feto, en el periodo entre la implantación y el nacimiento (O'Rhailly y Müller, 1992).



En el caso de la exposición materna a agentes teratogénos, es importante mencionar que el periodo más sensible donde pueden ocurrir anomalías en el desarrollo del embrión, es durante la organogénesis (O'Rhailly y Müller, 1992).

Sobre los efectos teratogénicos del vanadio, aún hay pocos estudios, sin embargo, en un estudio realizado en 1982 por Carlton y cols., en donde se suministró  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  vía oral, en dosis de 0.47, 1.88 y 3.75 mg/kg, a hembras preñadas de hámster sirio dorado durante los días 5-10 de gestación. En este estudio no se reportó toxicidad materna, sin embargo, hubo un aumento en el número de anomalías esqueléticas, entre las que destacan un aumento de costillas y la falta de osificación en esternebras.

Domingo y cols., en 1986 realizaron un estudio, en donde se les suministró metavanadato de sodio ( $\text{NaVO}_3$ ) a ratas hembra y macho de la cepa Sprague-Dawley en dosis de 0, 5, 10 o 20 mg/kg/día vía intragástrica. El compuesto se les administró, tanto a los machos como a las hembras, durante 14 días antes de la cruce y además a las hembras, se les suministró durante el periodo gestacional. Posteriormente, la mitad de las hembras preñadas fueron sacrificadas al día 14 de gestación. En este estudio no se encontraron diferencias significativas en el grupo de 5 mg/kg/día, en el número de cuerpos lúteos, implantaciones, fetos vivos y muertos, así como reabsorciones, sin embargo, en las dosis más altas, se reportó un aumento en el número de fetos muertos y en el número de reabsorciones, además de que, durante la lactancia el número de crías disminuyó y los pesos de órganos como el bazo, hígado y riñones de los fetos, fue menor.

Además de los estudios anteriores, Sánchez y cols., en 1991, suministraron un tratamiento vía oral de ortovanadato de sodio ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ), con dosis de 7.5, 15 y 30 mg/kg, a ratones hembras durante los días 6 a 15 de gestación. Los resultados que arrojó dicho estudio fueron una disminución del peso materno y un retraso en la osificación de los fetos.

Por otra parte, Roldán-Reyes en 1992 realizó un estudio en donde se suministró  $\text{V}_2\text{O}_5$  vía intraperitoneal (i.p), a una dosis de 8.5  $\mu\text{g}$  por g de peso, a ratones hembra de la cepa CD-1 durante el periodo de organogénesis, es decir desde el día 6 al día 15 de gestación, y se encontró que, en los fetos descendientes de las hembras tratadas hubo una disminución del peso fetal y un aumento en el número de reabsorciones, además de que mostraron un retraso del proceso de osificación.

En 1992, Gómez y cols., suministraron  $\text{NaVO}_3$  vía i.p. en dosis de 2,4 y 8 mg/kg/día a ratones suizos hembra durante el periodo de gestación y encontraron que en los grupos experimentales, hubo un aumento de la reducción del peso corporal fetal por camada, así como un número mayor de fetos muertos, reabsorciones y pérdidas posimplantación, sin embargo, no hubo anomalías externas y esqueléticas, a excepción de la dosis de 8 mg/kg/día, ya que en esta hubo un aumento en la incidencia de paladar hendido.

Por último, en otro estudio realizado en el 2003 por Morgan y El-Tawil, se expuso, por vía oral (mediante el agua), a ratas hembra y macho, a metavanadato de amonio ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ) a una concentración de 200 ppm, Las ratas macho se expusieron durante 70 días, mientras que las hembras estuvieron expuestas durante 14 días antes del apareamiento, durante el apareamiento y a lo largo del periodo gestacional, lactancia y destete. Los resultados de dicho estudio fueron una disminución significativa de la fertilidad, la cual se reflejó en la reducción del número de fetos viables y el número de sitios de implantación, así como un aumento en el número de fetos muertos, reabsorciones y anomalías morfológicas, viscerales y esqueléticas.

## Reprotoxicidad en el macho ocasionada por vanadio

Los efectos de los metales pesados sobre el sistema reproductivo de los machos, se conocen desde mediados del siglo XIX, cuando los problemas de infertilidad se asociaron con el plomo. Se sabe que algunos metales como el cadmio, plata, cobre, estaño, níquel, etc., pueden alterar la espermatogénesis (Altamirano-Lozano, 1992).

En el caso del vanadio, como se mencionó anteriormente, este elemento es capaz de penetrar la barrera hematotesticular y acumularse en los testículos y/o el epidídimo (Domingo, 1996, Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006), por lo cual, puede causar daño en las células que conforman el epitelio testicular, así como alteraciones en la espermatogénesis, además, pueden alterar el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal de los machos (Altamirano *et al.*, 2014).

Un estudio realizado en 1991 por Altamirano-Lozano y cols., demostró que la administración vía i.p. de  $\text{V}_2\text{O}_5$  a una concentración de 12.5 mg/kg, ocasiona en ratas macho, un incremento del peso de las vesículas seminales, timo y glándulas submandibulares, además, se demuestra que la toxicidad del vanadio en ratas prepúberes es mayor en los machos que en las hembras.

En 1993, Llobet y cols. realizaron un estudio en donde se suministró  $\text{NaVO}_3$  vía oral (en el agua), a ratones macho, en dosis de 20, 40, 60 y 80 mg/kg, durante 60 a 64 días. El resultado de este estudio fue una disminución en el número de espermátidas y espermatozoides.

En un estudio realizado por Altamirano-Lozano y cols. en 1996, se suministró cada tercer día, durante un lapso de 60 días,  $\text{V}_2\text{O}_5$  vía i.p., a ratones macho de la cepa CD-1, en dosis de 8.5  $\mu\text{g/g}$ . Los resultados de este estudio fueron una disminución de la densidad espermática, la motilidad y un incremento de las formas anormales en los espermatozoides. Lo anterior indica que el pentóxido de vanadio induce dos tipos de daño: infertilidad y mutagénesis. Además, en este mismo estudio, se evaluó, mediante ensayo cometa, el daño al DNA espermático y se encontró el daño al material genético fue mayor en los organismos expuestos a la dosis más alta de dicho compuesto.

Por otra parte, D'Cruz y Uckun en el año 2000 realizaron una investigación en donde se suministraron 4 diferentes vanadocenos a ratones macho, vía

intratesticular, en concentraciones de 7.5 mg/kg/testículo, cada dos días durante 28 días. En esta investigación, se observó la inhibición de la espermatogénesis, atrofia en los túbulos seminíferos y pérdida de las espermátidas, lo cual indica la capacidad del vanadio para producir daño al DNA e inducir apoptosis.

En 2005, Aragón y cols., suministraron vía i.p. tetróxido de vanadio ( $V_2O_4$ ) en concentraciones de 18.8 mg/kg, cada dos días durante un lapso de 2 meses. El resultado de dicho estudio fue una disminución del peso testicular, alteraciones en la viabilidad y motilidad espermática, y un aumento de anomalías morfológicas en los espermatozoides.

Por otra parte, Fortoul y cols. (2011), han desarrollado un sistema de exposición vía inhalatoria, a  $V_2O_5$  en las concentraciones de 0.05 M, 0.01 M, y 0.02 M, siendo a partir de esta última concentración en la que se observan efectos adversos de la exposición a este compuesto. En un estudio realizado en 2014, se expuso, mediante vía inhalatoria, a machos de ratón CD-1 a  $V_2O_5$  [0.02 M] durante una hora dos veces por semana y se encontró que la concentración de vanadio en los testículos aumenta durante la primera semana, sin embargo, en la segunda semana, la concentración se mantiene estable. Además, la exposición a dicho compuesto ocasionó necrosis en las células germinales y de Sertoli, también se observó una disminución en la gamma-tubulina de las células testiculares, así como una disminución de actina (Fortoul *et al.*, 2014).

## Funciones del vanadio en los seres vivos

El vanadio juega un papel de suma importancia en algunos organismos como los tunicados, en donde interviene en la síntesis de la túnica, ya que este elemento cataliza la polimerización de las fibras de tunicina (Rehder, 1999).

Este elemento también es esencial en las algas y en algunos hongos, pues es el centro catalítico de las haloperoxidasas, las cuales, catalizan la oxidación de los halógenos Cl, Br y I por el  $H_2O_2$  a los ácidos hipocloroso, hipobromoso e hipoyodoso (Contreras-Cadena *et al.*, 2014).

Por otra parte, el papel del vanadio en los organismos superiores aún causa controversia, sin embargo, en los últimos años, el vanadio ha tomado gran relevancia y se han realizado diversos estudios sobre su función en el cuerpo humano.

En el cuerpo humano, la concentración normal de vanadio en el plasma sanguíneo es aproximadamente de 200nM. En la grasa y el músculo, se ha reportado que la concentración es de 0.55 ng/g de peso húmedo; en el riñón y el corazón es de 1.1 ng/g de peso húmedo; en el hígado, alcanza valores de 7.5 ng/g de peso húmedo y en los pulmones y tiroides la concentración es de 2.1 y 3.1 ng/g de peso húmedo, respectivamente. También se ha reportado que el calostro y la leche materna contiene hasta 1 ng/g de peso seco. En general, la mayoría de los tejidos del cuerpo humano contienen menos de 10 ng de vanadio /g de peso húmedo (Treviño *et al.*, 2019).

En 2015, se propuso una clasificación para los oligoelementos según su esencialidad en base a su aplicación en oligoterapia, nutrición, etc. Dentro de



esta nueva propuesta de clasificación se encuentra el vanadio, el cual, se clasifica como oligoelemento con función esencial sospechada. Puede considerarse como oligoelemento debido a que es capaz de interactuar con la ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  a nivel de las células cardíacas y renales, y, además, se están realizando estudios para que el vanadio pueda ser utilizado como metalofármaco contra la diabetes y patologías hematológicas (Ramírez-Hernández *et al.*, 2015). Sin embargo, el vanadio puede ocasionar envenenamiento y daños al metabolismo celular.

En cuanto a los efectos que ocasiona la deficiencia de vanadio, se ha reportado que, en ratas y otros animales, se produce una disminución de la producción de leche durante la lactancia, cambios en el metabolismo de los fosfolípidos del hígado y en la tiroides, así como un aumento de las muertes perinatales en hembras privadas de alimentos que contiene vanadio (French y Jones, 1993).

Hoy en día aún se discute si dicho elemento es esencial, porque a pesar de que el vanadio se encuentra en una gran cantidad de alimentos, su absorción es relativamente baja, sin embargo, como se mencionó anteriormente, puede almacenarse en diversos órganos hasta alcanzar una concentración detectable (no rebasa los 10 ng de vanadio/g de peso húmedo en dichos órganos), por lo cual, puede que este elemento juegue un papel de importancia biológica en nuestro organismo (French y Jones, 1993).

## Espermatogénesis en el ratón

La espermatogénesis, puede definirse como la producción de espermatozoides maduros haploides ( $n$ ) a partir de espermatogonias diploides ( $2n$ ). La espermatogénesis en los mamíferos, es un proceso continuo de diferenciación celular, el cual se puede dividir en tres etapas: proliferación y renovación de las espermatogonias (fase mitótica), la meiosis y, por último, la espermiogénesis, lo cual conduce a la formación de espermatozoides, células altamente especializadas (Gallegos De Lerma, 1984; Xia *et al.*, 2005).

La espermatogénesis se lleva a cabo en los túbulos seminíferos que conforman al testículo (glándulas se encuentran en la región inguinal). En ratones, los túbulos seminíferos miden aproximadamente 200 mm de diámetro y se estima que existen de 15 a 20 túbulos en cada testículo, con una longitud total de 2 m (Guzmán *et al.*, 2005).

En cuanto a la estructura de los túbulos seminíferos, estos constituyen la parte exócrina del testículo. Cada uno de los túbulos se encuentra rodeado por una lámina propia, formada por colágeno, la cual se divide en dos capas, externa e interna (Gallegos De Lerma, 1984; Ross y Pawlina, 2007).

Junto a la capa interna de la lámina propia, se encuentran las células mioideas (Ross y Pawlina, 2007). En cuanto a la conformación del epitelio seminífero (es decir, el túbulo seminífero), este está formado por células de Sertoli y las células germinales o espermatogonias. Las células de Sertoli son células columnares altas, las cuales se extienden desde la base hasta el vértice del túbulo

seminífero, son células de soporte, las cuales se encargan de nutrir y proteger a las espermatogonias, además de realizar otras funciones vitales para la espermatogénesis y ser las responsables de la compartimentalización de los túbulos seminíferos (Russell *et al.*, 1990). En el caso de la rata, las células de Sertoli dejan de proliferar al día 20 posterior al nacimiento (Xia *et al.*, 2005).

Las células de Sertoli, también componen la Barrera Hematotesticular, la cual está formada por uniones estrechas. En la rata, la Barrera Hematotesticular se forma completamente al día 16-19 posterior al nacimiento (Xia *et al.*, 2005). Cabe mencionar que, a pesar de que las células del epitelio seminífero se encuentran protegidas por la Barrera Hematotesticular, las espermatogonias y espermatocitos preleptoténicos que se encuentran en el compartimiento basal del túbulo seminífero, tienen acceso a las sustancias provenientes de la sangre, por la vía del tejido conectivo intersticial y los espacios intracelulares de la lámina propia (Gallegos De Lerma, 1984).

Además de las células de Sertoli, en el epitelio seminífero, se encuentran las espermatogonias, las cuales se sitúan en la parte basal del túbulo seminífero. En roedores, se encuentran dos tipos de espermatogonias: las células madre de reserva (tipo A<sub>0</sub>) y las células madre en renovación (tipo A<sub>1</sub>-A<sub>4</sub>). Algunas espermatogonias tipo A<sub>0</sub> comienzan a diferenciarse hasta A<sub>4</sub>, siendo estas últimas las que nuevamente se diferencian y dan origen a los espermatocitos primarios (o intermedios) y secundarios (B) (Clermont y Bustos-Obregón, 1968 en Gallegos De Lerma, 1984; Hermo *et al.*, 2010) que posteriormente, a través del proceso de espermiogénesis, darán origen a los espermatozoides. Las células más diferenciadas se encuentran cerca de la luz del túbulo.

Como se mencionó anteriormente, la espermatogénesis se divide en tres etapas: proliferación y renovación de las espermatogonias: en esta fase, las espermatogonias proliferan, incrementando su número y generando espermatocitos primarios. En la segunda etapa, la meiótica, los espermatocitos primarios se dividen por meiosis, pasando de ser células diploides (2n) a células haploides (n). Por último, en la etapa de espermiogénesis, las espermátides pasan de ser células redondas a espermatozoides. En ratones, un ciclo completo dura 35 días. Este proceso es muy productivo y teóricamente, en ratas, una espermatogonia es capaz de producir 4096 espermatozoides maduros (Russell *et al.*, 1990; Franca, 1998; Guzmán *et al.*, 2005; Hermo *et al.*, 2010).

En el ratón, el tiempo de duración de cada etapa se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Duración de la espermatogénesis en el ratón

<b>Estadio</b>	<b>Duración (Horas)</b>	<b>Tiempo restante para alcanzar la forma de espermatozoide maduro (días)</b>
Espermatogonia A	Siempre presente	33.5 a 35.5
Espermatogonia Intermedia	27.3	28.8 a 30
Espermatogonia B	29.4	27.6 a 28.6
Espermatocito primario en reposo	31	26.3 a 27.6
Espermatocito primario leptoténico	31.2	25.3 a 26.3
Espermatocito primario zigoténico	37.5	23.4 a 25
Espermatocito primario paquiténico	175.3	16.1 a 23.4
Espermatocito primario diploténico	21.4	15.2 a 16.1
Diacinesis y metafase I	10.4	14.8 a 15.2
Espermatocito secundario	10.4	14.4 a 14.8
Espermátidas	229.2	0 a 14.4

Tomada y modificada de Oakberg, 1957 en Gallegos de Lerma, 1984.

## Desarrollo Embrionario del ratón

El desarrollo embrionario se puede definir como el periodo que transcurre entre la fecundación y el nacimiento (Arteaga-Martínez y García-Peláez, 2013).

En el ratón, el periodo de gestación dura entre 18.5-19.5 días en hembras primíparas y de 19-21 días en hembras múltiparas. En estos organismos, la fecundación se produce aproximadamente 10 horas después de la ovulación y tiene lugar en la ampolla del oviducto de la hembra. A las 10 horas posteriores a la fecundación, se produce la fusión de los pronúcleos, formándose el cigoto y dando lugar a la primera división mitótica (Theiler, 1989; Benavides y Guénet, 2003).

Posteriormente, alrededor del día 4.5-5 de gestación, se producirá la implantación del cigoto (el cual se encuentra en etapa de blastocisto) en el útero.

En el día 6-7 de gestación, comienzan a diferenciarse las tres capas germinativas del embrión, comienza a formarse la cavidad amniótica y se definen los ejes caudal y cefálico del embrión; comienza el periodo de organogénesis (Theiler, 1989).

En la tabla 2, se muestran las etapas del desarrollo embrionario del ratón, desde la fecundación hasta el nacimiento, así como el tiempo de duración de cada etapa.

**Tabla 2.** Etapas del desarrollo embrionario en el ratón.

<b>Etapas del desarrollo</b>	<b>Tiempo (Días)</b>
Fusión de los pronúcleos	20 horas posteriores a la ovulación
Comienzo de la segmentación	20-24 horas
Blastocisto	3
Implantación	4 <sup>1/2</sup> -5
Reacción endometrial avanzada. Diferenciación de las blastómeras.	6-6 <sup>1/2</sup>
Formación del amnios y diferenciación de las hojas germinativas del embrión (ectodermo, mesodermo y endodermo). Formación de la placa neural y presomitas	7-7 <sup>1/2</sup>
Primeras somitas. Rotación del embrión	8-8 <sup>1/2</sup>
Formación y cierre del neuróporo anterior. Formación del neuróporo posterior. Formación de la yema de las extremidades superiores	9-9 <sup>1/2</sup>
Cierre del neuróporo posterior. Formación de la yema de las extremidades inferiores y la cola. Formación del surco óptico.	10-10 <sup>1/2</sup>
Cierre y formación completa de las vesículas ópticas	11 -11 <sup>1/2</sup>
Comienza la formación de los dedos. Comienza la formación de la planta de las extremidades inferiores.	12-13
Separación de los dedos de las extremidades anteriores e inferiores	14-15
Reposicionamiento de la hernia umbilical (reposicionamiento de los intestinos)	16
Termina la formación de los dedos de las extremidades superiores y anteriores	17
Formación de las vibrisas	18
Nacimiento	19-21

Tomada y modificada de Theiler, 1989.

## Justificación

Debido a las actividades industriales del ser humano, la contaminación atmosférica se ha visto incrementada. Dentro de los contaminantes atmosféricos se encuentran los metales pesados, como el vanadio. Además de las emisiones naturales dadas por volcanes, erosión de suelos e incendios forestales, este metal se libera a la atmósfera mediante la quema de combustibles fósiles y otros procesos industriales. El vanadio como producto de dichas actividades se libera a la atmósfera principalmente como pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ ). El vanadio, generalmente ingresa al organismo mediante inhalación, llegando a los pulmones (PM 2.5) y distribuyéndose por medio de la sangre en todo el cuerpo. Se ha demostrado que el pentóxido de vanadio tiene efectos genotóxicos y mutagénicos, además, de que dicho compuesto se almacena en varios órganos, incluidos los testículos.

La importancia de este estudio es conocer el efecto embriotóxico, fetotóxico y teratogénico del pentóxido de vanadio, ocasionado por la exposición de los ratones macho a dicho compuesto, así como determinar si la reprotoxicidad y la genotoxicidad causadas por exposición vía inhalatoria a partir de concentraciones  $\geq 0.02$  M de pentóxido de vanadio reportadas anteriormente, ocasionan un aumento de anomalías en el desarrollo de los fetos descendientes.

## Hipótesis

Los compuestos de vanadio, pueden inducir daño genotóxico, mutagénico y citostático en diversas células, incluidos los gametos masculinos. Por lo tanto, las crías descendientes de los machos expuestos a tratamiento subcrónico vía aérea de pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ ) presentarán embriotoxicidad, fetotoxicidad y efectos teratogénicos (o alteraciones en el desarrollo).

## Objetivo general

- Evaluar los efectos embriotóxico, fetotóxico y teratogénico del pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ ) en la descendencia de ratones macho CD-1 expuestos de forma subcrónica vía aérea.

## Objetivos particulares

- Observar y registrar el número de fetos vivos y muertos, reabsorciones tempranas y tardías, para mostrar la embrio-fetotoxicidad en la descendencia.
- Evaluar la frecuencia de malformaciones externas para establecer los efectos teratogénicos o efectos en el desarrollo embrio-fetal.
- Cuantificar en fetos diafanizados las alteraciones en centros de osificación y cartílago, para mostrar los efectos en su desarrollo.

- Establecer la correlación entre la frecuencia de efectos teratogénicos y las dosis de exposición a las que fueron sometidos los machos progenitores.

## Material y método

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó pentóxido de vanadio ( $V_2O_5$ , Aldrich Chemical Company, USA) a diferentes concentraciones molares, solución salina fisiológica 0.9% (P/V), alcohol etílico al 70% (V/V), hidróxido de potasio (KOH, Karal, México) al 2% (P/V), glicerina, rojo de alizarina (Sigma-Aldrich, Alemania) y azul de alciano (Sigma-Aldrich, India).

Se utilizaron ratones macho de la cepa CD-1 sexualmente maduros, de entre 8 y 12 semanas de edad, con un peso de 37-45 g y hembras de 8 a 12 semanas de edad con un peso de 32-36 g, que fueron proporcionados por el Bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campus II. Los organismos se mantuvieron con fotoperiodos 12 horas luz/ 12 horas oscuridad, a temperatura estándar ( $21 \pm 1^\circ C$ ), con alimento y agua *ad libitum*. Todos los procedimientos se llevaron a cabo según la NOM-062-ZOO-1999.

Los machos se dividieron en seis grupos (tabla 3), cada uno conformado por cinco ratones. Tanto el grupo control positivo y como los grupos expuestos a pentóxido de vanadio fueron sometidos a tratamientos subcrónicos. Al grupo control positivo se le suministró, cada dos días, durante un lapso de 15 días, Mitomicina C vía intraperitoneal a una concentración de 0.08 mg/kg de peso.

Por otra parte, las disoluciones de pentóxido de vanadio fueron preparadas con agua destilada. Las concentraciones de  $V_2O_5$  utilizadas para los tratamientos subcrónicos vía aérea fueron las siguientes: 0.02 M, 0.04 M, 0.08 M y 0.12 M. Los machos fueron expuestos cada tercer día durante un lapso de 15 días. Los tratamientos se suministraron mediante un nebulizador compresor Omron C801 KD con un flujo de 0.25 mL/min., dentro de un sistema herméticamente sellado que se colocó en la campana de extracción para evitar riesgos de intoxicación por el compuesto. La duración de cada tratamiento con  $V_2O_5$  fue de 1 hora. El control negativo y las hembras no recibieron ningún tratamiento.

**Tabla 3.** Grupos Experimentales

Grupo	Concentración del compuesto	Vía de administración
Control Negativo	-----	-----
Control Positivo (Mitomicina C) [mg/kg de peso]	0.08	i.p.
<b>Pentóxido de Vanadio [M]</b>		
1	0.02	Vía Inhalatoria
2	0.04	
3	0.08	
4	0.12	

Mediante frotis vaginales, se llevó un registro de los ciclos estrales de las hembras.

Para realizar los frotis, se tomaron 0.3 mL de solución salina fisiológica al 0.9% (P/V) con una pipeta Pasteur. La punta de la pipeta se colocó sobre el orificio vaginal; se vació y reabsorbió el contenido varias veces (Frías-Domínguez y Ortega-Villalobos, 2013 en Olvera Pérez, 2016).

Los frotis se observaron en fresco en un microscopio Nikon utilizando contraste de fases a 10X y 20X.

Las cruces se realizaron 5 días antes de terminar el tratamiento subcrónico al cual fueron expuestos los machos. La proporción de machos y hembras fue de 1:2 o de 1:1 dependiendo del número de hembras proporcionadas por el bioterio. Durante este periodo de tiempo, se revisó la presencia de tapón vaginal y se realizaron frotis para determinar la presencia de espermatozoides. Las hembras que presentaron cualquiera de los dos anteriores indicadores de cópula, fueron separadas y se comenzaron a contabilizar los días de gestación (los días que las hembras presenten tapón vaginal o espermatozoides en el frotis se tomaron como día 0 de gestación). Se llevó un control del peso de las hembras gestantes, pues dicho factor también es útil para determinar el tiempo de gestación.

La n de camadas para los grupos control y por concentración de pentóxido de vanadio fue  $\geq 5$ .

Al día 16 de gestación las hembras fueron sacrificadas en la cámara de CO<sub>2</sub>. Se confirmó su muerte por dislocación cervical, según la NOM-062-ZOO-1999. Posteriormente, se extrajeron los fetos (Figura 4).

Se contabilizó el número de fetos vivos y muertos, el número total de fetos en los cuernos uterinos derecho e izquierdo, así como las reabsorciones tardías y/o tempranas.

En los fetos, se evaluaron los siguientes aspectos utilizando un estereoscopio Nikon: extremidades (superiores, inferiores y cola), ojos, cabeza, boca, lengua, paladar, tronco y presencia de hematomas u otra alteración morfológica. Se registró la longitud cefalocaudal de cada feto, el peso fetal y el peso por camada, por último, se sexaron.

Para el aclaramiento de los tejidos y la tinción del hueso con rojo de alizarina, se siguió el método descrito por Gaviño *et al.*, 1985 y por Rivera-Cardona, 2015, mientras que, para la tinción de los cartílagos se siguió el método de Cortés-Delgado *et al.*, 2009, Piovesana *et al.*, 2014 y Sandoval *et al.*, 2016; estos métodos son descritos a continuación.

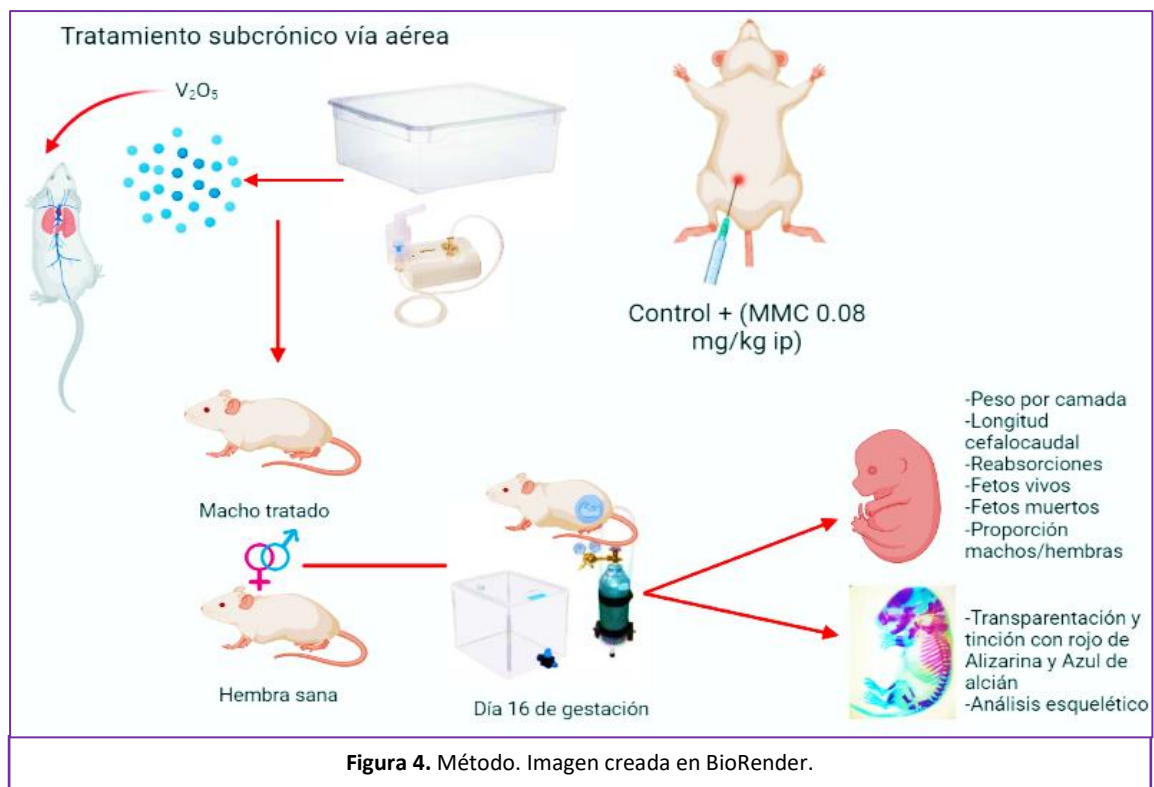
Los fetos se fijaron en alcohol etílico al 70% durante seis días y después en formol 32% (V/V) durante dos días. Posteriormente, se les retiraron las vísceras y la piel. Los organismos se colocaron durante 24 a 48 horas en una disolución ácida de azul de alcian 8GX al 0.15%, que se preparó con 80 mL de etanol 96°, 20 mL de ácido acético y 15 mg del reactivo. Una vez retirados de la disolución de azul de alcian, se dejaron en etanol 96° durante tres días. Al finalizar este periodo, los



organismos se colocaron en una disolución de KOH al 2% (P/V). Una vez que los tejidos comenzaron a aclararse, los fetos fueron teñidos en una disolución 0.1% de rojo de alizarina. La disolución se preparó añadiendo 1 mg de colorante por cada 100 mL de KOH. Los organismos se mantuvieron en la disolución de rojo de alizarina durante 24 horas. Por último, se realizaron los siguientes lavados para eliminar el exceso de colorante y terminar con el proceso de aclaramiento de los tejidos:

- 2 partes de glicerina por 8 de KOH al 2%.
- 2 partes de glicerina por 7 de KOH al 2%.
- 2 partes de glicerina por 6 de KOH al 2%.
- 2 partes de glicerina por 5 de KOH al 2%.
- 2 partes de glicerina por 4 de KOH al 2%.
- 2 partes de glicerina por 3 de KOH al 2%.
- 2 partes de glicerina por 2 de KOH al 2%.
- 2 partes de glicerina por 1 de KOH al 2%.
- Únicamente glicerina y timol.

Una vez que los fetos fueron diafanizados, se llevó a cabo el análisis esquelético y de los cartílagos utilizando un microscopio estereoscopio Leica (8X, 10X, 12.5X, 16X y 20X).



Se utilizó la prueba *t* de Student para comparar la longitud y el peso de cada grupo contra el grupo control y la prueba de Z de proporciones para analizar el porcentaje de fetos vivos y muertos, las proporciones de machos y hembras y la tasa de fertilización. Por otra parte, para analizar y correlacionar las

concentraciones a las cuales fueron expuestos los machos CD-1 con los datos obtenidos de la evaluación morfológica externa, esqueleto y cartílago, se utilizó la prueba de  $X^2$  y V de Cramer.

Las pruebas se realizaron utilizando el software estadístico *R Studio*.

## Resultados

### a) Efectos embriofetales

Los datos como número de camadas, fetos por camada, reabsorciones, fetos vivos y muertos, así como el promedio de la longitud y peso fetal se muestran en la tabla 4.

Se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ), con respecto al grupo control negativo, en el número de fetos vivos descendientes de los machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía aérea de  $V_2O_5$ , en las concentraciones 0.08 M y 0.12 M. Por otra parte, la longitud fetal promedio disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ), en los grupos de fetos descendientes de machos expuestos a las concentraciones 0.02 M, 0.08 M y 0.12 M de  $V_2O_5$ . En los fetos de la concentración 0.04 M de  $V_2O_5$ , la disminución de la longitud no fue significativa. En cuanto al peso fetal promedio, se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en los fetos de la concentración 0.08 M de  $V_2O_5$ . Se observó un aumento significativo del peso fetal promedio en la concentración 0.04 M de  $V_2O_5$ .

**Tabla 4.** Efectos en el desarrollo embriofetal ocasionados por  $V_2O_5$  en la descendencia de ratones macho CD-1 tratados vía aérea

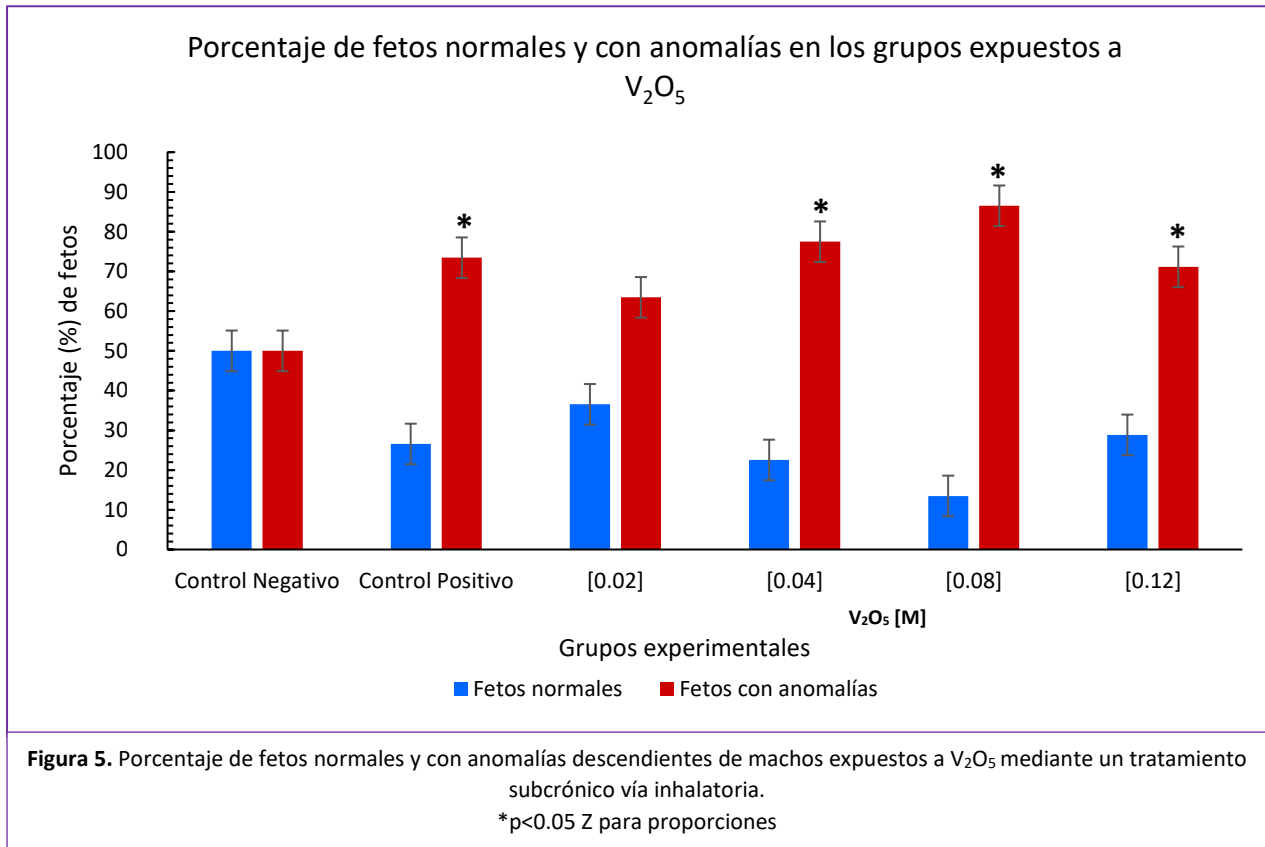
	Control Negativo	Control Positivo	$V_2O_5$ [M]			
			[0.02]	[0.04]	[0.08]	[0.12]
No. de camadas	5	5	5	5	6	7
No. de fetos totales	62	64	62	71	89	104
X peso fetal $\pm$ DE (g)	0.84 $\pm$ 0.09	<b>0.76 <math>\pm</math> 0.11*</b>	0.86 $\pm$ 0.21	<b>1.17 <math>\pm</math> 0.34*</b>	<b>0.76 <math>\pm</math> 0.07*</b>	0.87 $\pm$ 0.08
X longitud fetal $\pm$ DE (cm)	1.99 $\pm$ 0.13	<b>1.89 <math>\pm</math> 0.09*</b>	<b>1.90 <math>\pm</math> 0.17*</b>	1.97 $\pm$ 0.11	<b>1.78 <math>\pm</math> 0.16*</b>	<b>1.84 <math>\pm</math> 0.10*</b>
(%)						
Tasa de fertilización	62.50	59.80	<b>42.50<sup>#</sup></b>	62.50	50.00	66.00
Fetos vivos	91.93	<b>79.68<sup>+</sup></b>	90.32	87.32	<b>68.54<sup>+</sup></b>	<b>81.71<sup>+</sup></b>
Fetos muertos	8.07	<b>20.31<sup>+</sup></b>	9.68	12.68	<b>31.46<sup>+</sup></b>	<b>18.29<sup>+</sup></b>
Machos	52.54	46.88	43.55	52.11	53.93	57.69
Hembras	47.45	53.13	56.45	47.89	46.07	42.31
No. Reabsorciones Tardías	0	0	2	2	1	0
No. Reabsorciones Tempranas	4	0	0	3	5	0

+  $p < 0.05$  Z para proporciones

\*  $p < 0.05$  t de Student

#  $p < 0.05$   $\chi^2$ . Todas las pruebas se realizaron contra el grupo control negativo.

El porcentaje de fetos normales por camada se muestran en la figura 5. Los grupos de fetos descendientes de machos expuestos a las concentraciones molares de 0.04, 0.08 y 0.12, mostraron un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de fetos anormales y una disminución de fetos normales.



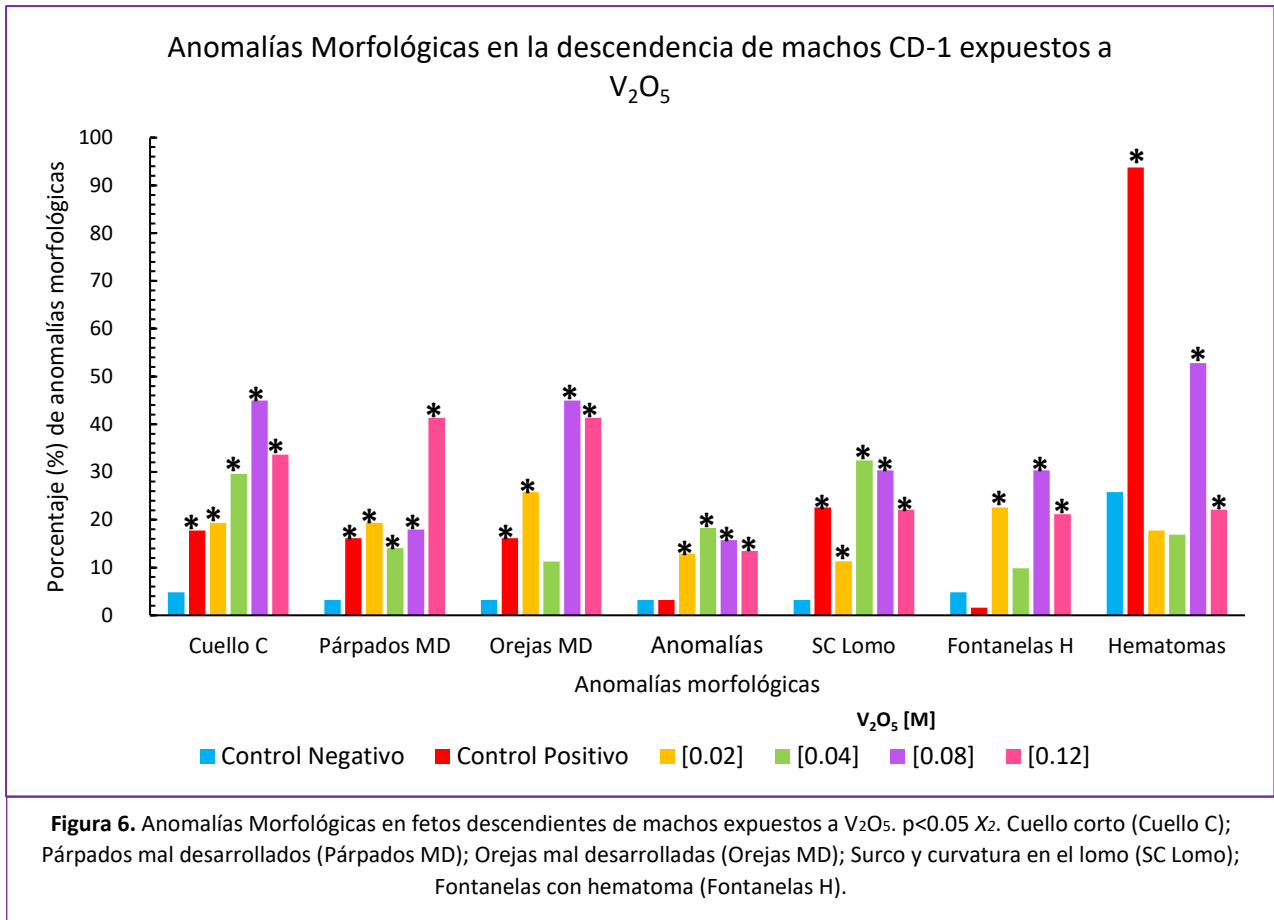
## **b) Anomalías morfológicas**

En los fetos descendientes de machos CD-1 tratados vía inhalatoria con  $V_2O_5$ , en comparación con el grupo control negativo, se encontró un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en el porcentaje de anomalías morfológicas como cuello corto, párpados y orejas mal desarrolladas, así como surcos y/o curvaturas en el lomo (Figura 6), en las concentraciones 0.02 M, 0.04 M y 0.12 M de  $V_2O_5$ .

Las anomalías morfológicas en párpados, incluyeron ausencia de uno o ambos párpados y párpados parcialmente desarrollados. Las anomalías morfológicas en orejas, también incluyeron la ausencia de una o ambas orejas y orejas mal desarrolladas.

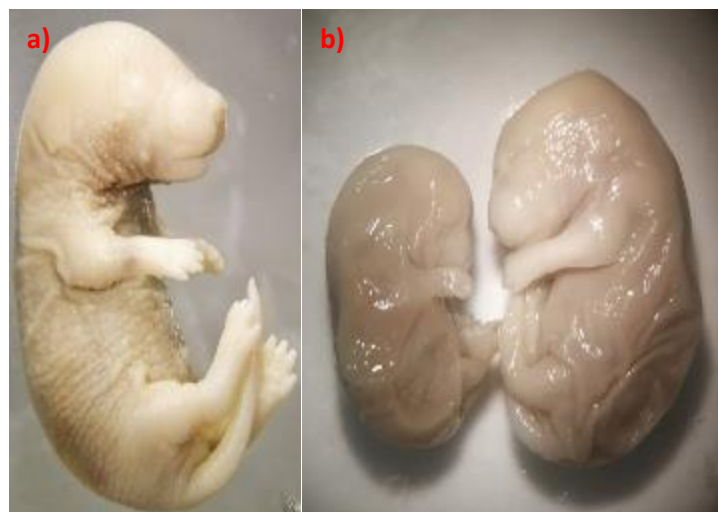
En cuanto a la presencia de hematomas, estos incluyen hematomas en abdomen, lomo y el resto del cuerpo a excepción de la cabeza, en la cual, se evaluó la presencia de hendiduras, hematomas en el surco cigomático y fontanelas marcadas con hematoma.

Se encontraron fetos con poco desarrollo general en los grupos cuyos progenitores fueron expuestos a  $V_2O_5$  de forma subcrónica vía inhalatoria, a las concentraciones 0.08 M y 0.02 M, sin embargo, la frecuencia de estos no fue estadísticamente significativa.

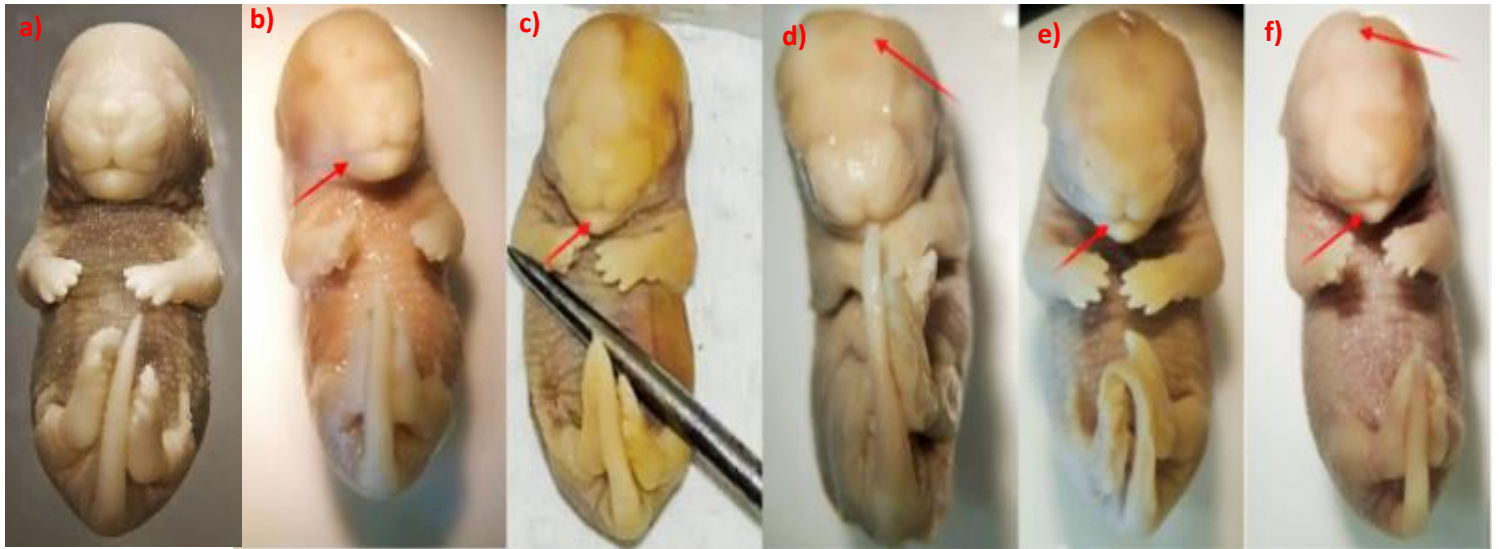


Además de las anomalías anteriormente mencionadas, también se observaron otras menos frecuentes como hocico plano y protuberancias en la parte occipital de la cabeza y en el lomo.

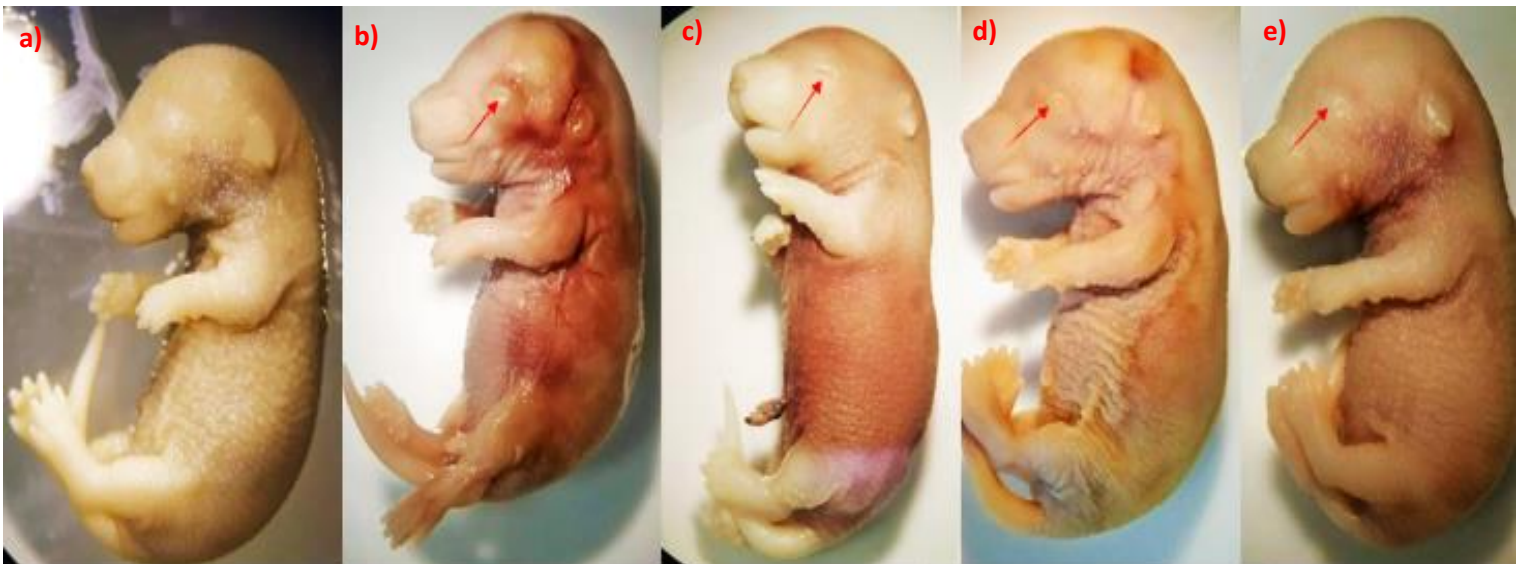
En las figuras 7-11 se muestran fetos con las anomalías morfológicas observadas.



**Figura 7.** Fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos con  $V_2O_5$ , presentan poco desarrollo general. A) Control negativo, normal. B) [0.08 M]. Microscopio estereoscópico Nikon, 8X-10X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.

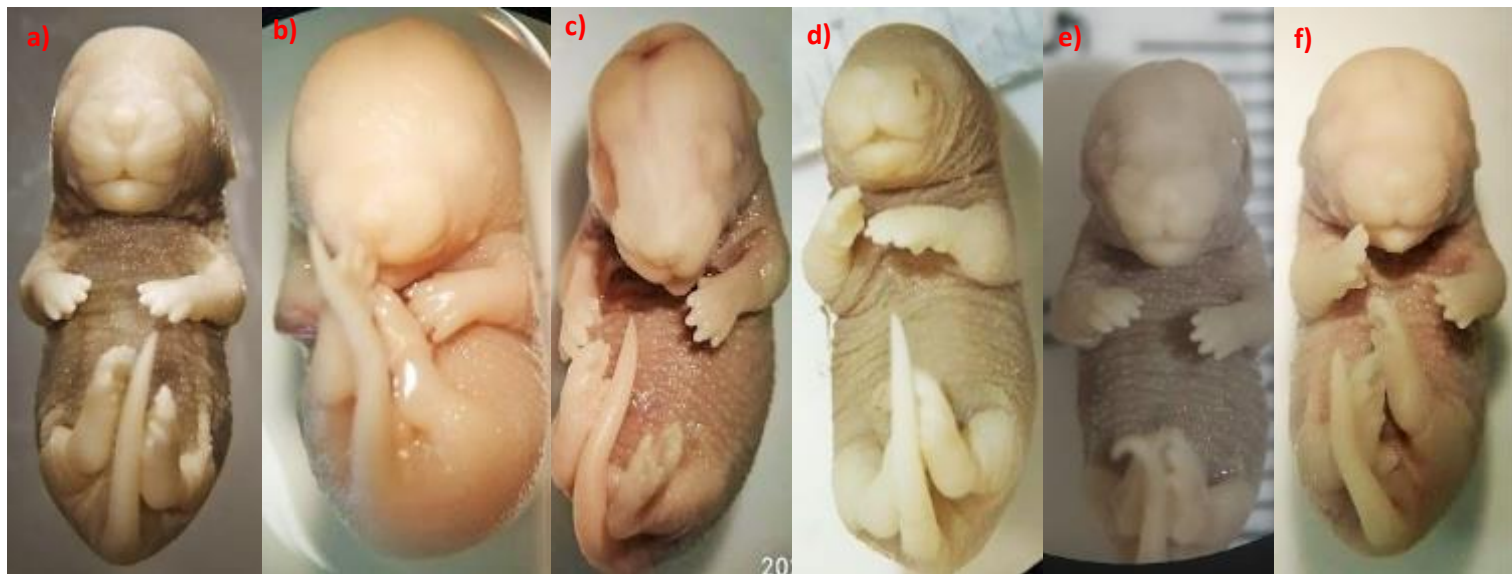


**Figura 8.** Anomalías presentes en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo, normal. B) Control Positivo, en la boca. C) [0.02 M], en la boca. D) [0.04 M], en la cabeza. E) [0.08 M] en la boca. F) [0.12 M], boca y cabeza. Microscopio estereoscópico Nikon, 8X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.

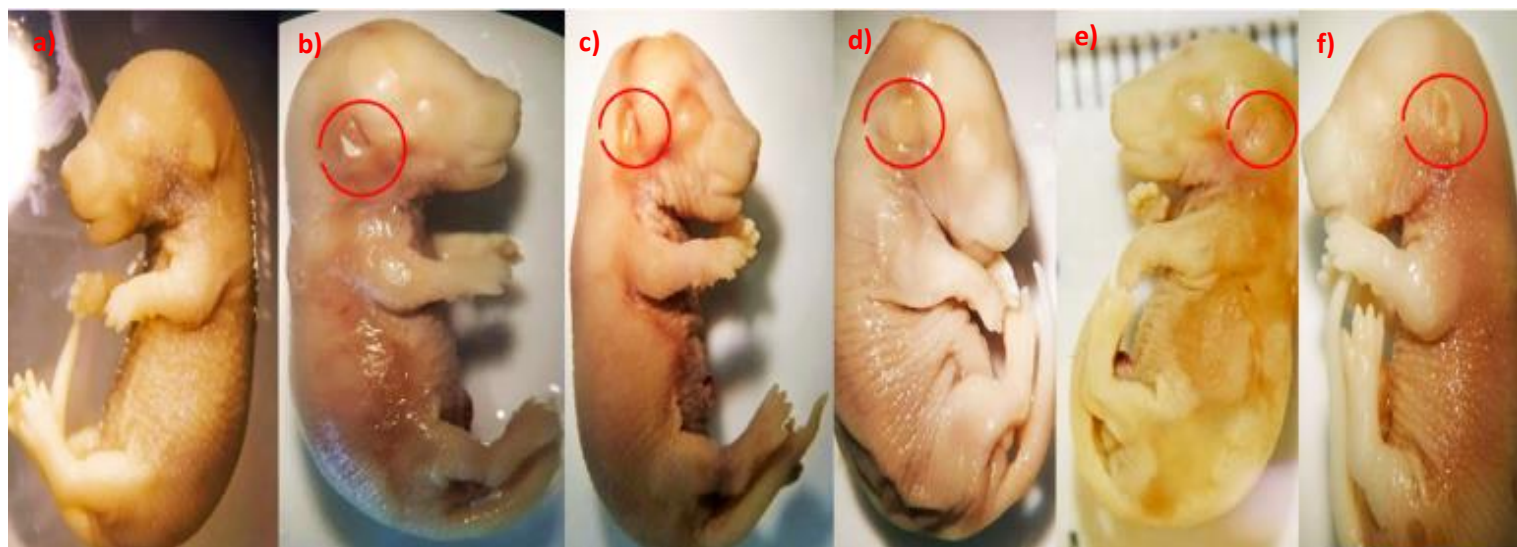


**Figura 9.** Párpados mal desarrollados en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo, normal. B) [0.02 M], parcialmente desarrollado, con hematomas. C) [0.04 M], no presenta. D) Grupo [0.08 M], párpado parcialmente desarrollado. E) [0.12 M], parcialmente desarrollado. Microscopio estereoscópico Nikon, 8X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.





**Figura 10.** Cuello corto en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo, normal. B) Control positivo. C) [0.02 M]. D) [0.04 M]. E) [0.08 M]. F) [0.12 M]. Microscopio estereoscópico Nikon, 8X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



**Figura 11.** Orejas mal desarrolladas en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo, normal. B) Control positivo. C) [0.02 M]. D) [0.04 M], con hematomas. E) [0.08 M]. F) [0.12 M]. Microscopio estereoscópico Nikon, 8X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



## c) Alteraciones en centros de osificación y cartílago

### 1. Cráneo

Se observó un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en el número de huesos con retraso en la osificación y osificación incompleta en los fetos descendientes de machos tratados con  $V_2O_5$ .

En la tabla 5, se presentan el número total de huesos y centros de osificación (CO) del cráneo, con retraso en la osificación, en los diferentes grupos de fetos analizados.

**Tabla 5.** Frecuencia de huesos craneales con anomalías en la osificación observados en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos con  $V_2O_5$  vía inhalatoria.

	Control Negativo	Control Positivo	$V_2O_5$ [M]			
			[0.02]	[0.04]	[0.08]	[0.12]
<b>Fetos examinados</b>	62	64	62	71	89	104
<b>Frontal</b>						
RO	0	1	5	<b>10*</b>	2	<b>15*</b>
OI	0	0	<b>6*</b>	0	<b>15*</b>	<b>17*</b>
AU	1	0	1	0	0	0
<b>Nasal</b>						
RO	0	<b>12*</b>	<b>6*</b>	0	1	0
OI	0	<b>12*</b>	3	<b>7*</b>	<b>7*</b>	<b>7*</b>
AU	0	0	1	0	0	0
<b>Mandíbula</b>						
RO	0	<b>5</b>	1	<b>6*</b>	<b>6*</b>	<b>10*</b>
OI	0	0	0	0	2	0
<b>Incisivo</b>						
RO	0	0	0	0	4	0
OI	22	2	5	1	20	24
AU	3	0	2	0	0	0
<b>Cigomático</b>						
RO	0	2	<b>11*</b>	<b>6*</b>	<b>5*</b>	<b>43*</b>
OI	2	0	4	0	4	5
AU	5	1	9	0	3	1
<b>Parietal</b>						
RO	0	<b>40*</b>	<b>8*</b>	<b>18*</b>	<b>11*</b>	<b>53*</b>
OI	16	<b>36*</b>	8	7	17	<b>34*</b>
AU	1	0	4	0	0	0
<b>Occipital</b>						
RO	0	<b>68*</b>	<b>36*</b>	<b>17*</b>	<b>16*</b>	<b>53*</b>
AU	10	<b>53*</b>	<b>30*</b>	7	<b>41*</b>	<b>31*</b>

\* $p < 0.05$   $\chi^2$ , contra el grupo control negativo. Retraso en la osificación (RO). Osificación incompleta (OI). Ausencia de osificación (AU).

## 2. Extremidades Superiores

En las extremidades superiores, los CO en los huesos del cúbito, radio y metacarpos, presentaron retrasos en la osificación, osificación incompleta y en el caso de los metacarpos, también presentaron ausencias de los CO.

En la tabla 6, se muestran los CO de los huesos de las extremidades superiores con osificación incompleta, retrasos en la osificación y ausencia de osificación de los distintos grupos evaluados.

**Tabla 6.** Frecuencia de huesos de las extremidades superiores con anomalías en la osificación observados en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos con V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> vía inhalatoria.

	Control Negativo	Control Positivo	V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> [M]			
			[0.02]	[0.04]	[0.08]	[0.12]
<b>Fetos examinados</b>	62	64	62	71	89	104
<b>Clavículas</b>						
AU	0	0	1	0	0	0
<b>Escápula</b>						
RO	0	<b>18*</b>	0	0	<b>9*</b>	0
OI	0	1	0	0	<b>5*</b>	4
AU	1	0	2	2	0	0
<b>Húmero</b>						
RO	0	<b>15*</b>	0	0	4	0
OI	0	0	0	0	<b>5*</b>	<b>7*</b>
AU	0	0	2	0	0	0
<b>Cúbito</b>						
RO	0	<b>19*</b>	0	<b>4*</b>	<b>4*</b>	0
OI	0	0	0	2	<b>7*</b>	<b>14*</b>
AU	0	0	2	0	0	0
<b>Radio</b>						
RO	0	<b>19*</b>	0	<b>4*</b>	<b>4*</b>	0
OI	0	0	0	2	<b>6*</b>	<b>14*</b>
AU	0	0	0	0	0	0
<b>Metacarpos</b>						
RO	0	<b>19*</b>	<b>13*</b>	<b>36*</b>	<b>20*</b>	<b>34*</b>
OI	2	<b>7*</b>	<b>31*</b>	<b>7*</b>	<b>46*</b>	<b>49*</b>
AU	0	5	19	1	0	6

\*p<0.05 X<sup>2</sup>, contra el grupo control negativo. Retraso en la osificación (RO). Osificación incompleta (OI). Ausencia de osificación (AU).

### 3. Extremidades Inferiores

Los CO de los huesos de las extremidades inferiores, presentaron retrasos en la osificación y osificación incompleta, además, en los metatarsos se encontraron ausencias totales de CO.

En la tabla 7, se muestra el número total de huesos con anomalías en la osificación en los distintos grupos de fetos analizados.

**Tabla 7.** Frecuencia de huesos de las extremidades inferiores con anomalías en la osificación observados en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos con V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> vía inhalatoria.

	Control Negativo	Control Positivo	V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> [M]			
			[0.02]	[0.04]	[0.08]	[0.12]
<b>Fetos examinados</b>	62	64	62	71	89	104
<b>Pelvis (Ilión, isquion y pubis)</b>						
RO	2	<b>16*</b>	2	2	5	0
OI	0	0	<b>6*</b>	<b>4*</b>	<b>29*</b>	<b>27*</b>
AU	0	0	3	0	0	0
<b>Fémur</b>						
RO	0	<b>16*</b>	0	2	<b>4*</b>	0
OI	0	0	0	0	<b>22*</b>	<b>15*</b>
AU	0	0	2	0	0	0
<b>Tibia</b>						
RO	0	<b>16*</b>	0	<b>9*</b>	<b>5*</b>	0
OI	0	0	0	1	<b>24*</b>	<b>15*</b>
AU	0	0	2	0	0	0
<b>Peroné</b>						
RO	0	<b>16*</b>	0	<b>10*</b>	<b>4*</b>	0
OI	2	0	0	0	<b>28*</b>	<b>17*</b>
AU	0	0	2	0	0	0
<b>Metacarpos</b>						
RO	0	<b>138*</b>	<b>43*</b>	<b>18*</b>	<b>60*</b>	<b>52*</b>
OI	2	1	<b>37*</b>	<b>29*</b>	<b>93*</b>	<b>51*</b>
AU	4	11	13	0	0	10

\*p<0.05 X<sup>2</sup>, contra el grupo control negativo. Retraso en la osificación (RO). Osificación incompleta (OI). Ausencia de osificación (AU).

## 4. Esqueleto axial

Las esterneras y la apófisis xifoides, fueron los CO que mostraron más anomalías en la osificación, sin embargo, también se observaron en las costillas y vértebras.

En la tabla 8, se muestran las anomalías en la osificación presentes en los distintos grupos de fetos observados.

**Tabla 8.** Frecuencia de huesos del esqueleto axial con anomalías en la osificación presentes en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos con V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> vía inhalatoria

	Control Negativo	Control Positivo	V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> [M]			
			[0.02]	[0.04]	[0.08]	[0.12]
<b>Fetos examinados</b>	62	64	62	71	89	104
<b>Costillas</b>						
RO	0	3	0	<b>10*</b>	0	1
OI	0	0	0	0	2	0
AU	0	0	0	0	0	0
<b>Apófisis xifoides</b>						
RO	0	<b>15*</b>	<b>17*</b>	1	<b>12*</b>	3
OI	1	<b>23*</b>	0	0	0	0
AU	4	<b>24*</b>	0	0	36	<b>26*</b>
<b>Vértebras</b>						
RO	0	<b>9*</b>	0	<b>18*</b>	2	2
OI	0	0	0	0	<b>20*</b>	5
AU	0	2	2	0	3	3
<b>Esternebras (No. de huesos)</b>						
RO	0	<b>23*</b>	<b>12</b>	<b>8*</b>	<b>12*</b>	<b>43*</b>
OI	0	<b>10*</b>	<b>4</b>	<b>10*</b>	<b>11*</b>	<b>13*</b>
AU	34	<b>142*</b>	10	0	<b>59*</b>	<b>126*</b>

\*p<0.05 X<sup>2</sup>, contra el grupo control negativo. Retraso en la osificación (RO). Osificación incompleta (OI). Ausencia de osificación (AU).

Se encontró un aumento la frecuencia del número de fetos con costillas supernumerarias, así como cartílagos intercostales extra.

Los fetos que presentaron costillas extras, también presentaron una transformación de vértebra lumbar a torácica.

En la tabla 9, se muestra la frecuencia total de costillas supernumerarias, transformaciones de vértebras lumbares a torácicas, cartílagos intercostales extras y vértebras fusionadas presentes en los fetos analizados.

**Tabla 9.** Frecuencia de fetos descendientes de machos expuestos tratamientos subcrónicos de V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> vía inhalatoria con anomalías en vértebras y costillas.

	Control Negativo	Control Positivo	V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> [M]			
			[0.02]	[0.04]	[0.08]	[0.12]
Fetos examinados	62	64	62	71	89	104
Costillas supernumerarias	17	26	<b>34*</b>	24	<b>39*</b>	<b>49*</b>
Transformación de vértebras	12	17	<b>21*</b>	17	<b>25*</b>	<b>31*</b>
8 cartílagos intercostales	0	0	6	4	<b>13*</b>	<b>15*</b>
Fusión de vértebras	0	0	0	1	2	0

\*p<0.05 X<sup>2</sup>, contra el grupo control negativo.

## 5. Longitud de los huesos

No se encontraron diferencias significativas (p<0.05) en la longitud de los huesos largos de las extremidades superiores e inferiores, a excepción de las falanges (tabla 10).

**Tabla 10.** Promedio de las longitudes de las extremidades superiores e inferiores

Hueso	Control Negativo	Control Positivo	V <sub>2</sub> O <sub>5</sub> [M]			
			[0.02]	[0.04]	[0.08]	[0.12]
<b>Extremidades Superiores</b>						
Escápula	3.6 ± 0.16	3.39 ± 0.31	<b>3.36 ± 0.08*</b>	3.7 ± 0.12	3.49 ± 0.13	3.55 ± 0.22
Húmero	3.38 ± 0.15	3.26 ± 0.15	3.26 ± 0.07	3.54 ± 0.06	3.31 ± 0.09	3.31 ± 0.11
Cúbito	3.48 ± 0.16	3.41 ± 0.27	3.29 ± 0.13	3.63 ± 0.08	3.33 ± 0.15	3.31 ± 0.24
Radio	2.6 ± 0.21	2.5 ± 0.24	2.51 ± 0.09	2.77 ± 0.15	2.46 ± 0.10	2.49 ± 0.23
Falanges	1.34 ± 0.23	1.2 ± 0.08	1.13 ± 0.02	1.21 ± 0.05	1.15 ± 0.03	1.18 ± 0.04
Mano	2.45 ± 0.15	2.42 ± 0.08	2.38 ± 0.09	2.6 ± 0.10	2.35 ± 0.09	2.45 ± 0.11
Brazo	5.93 ± 0.28	5.83 ± 0.34	5.67 ± 0.18	6.23 ± 0.15	5.69 ± 0.17	5.77 ± 0.33
<b>Extremidades Inferiores</b>						
Fémur	3.01 ± 0.21	2.85 ± 0.28	2.87 ± 0.15	3.42 ± 0.17	2.84 ± 0.11	2.87 ± 0.15
Tibia	2.8 ± 0.31	2.62 ± 0.23	2.69 ± 0.16	3.19 ± 0.15	2.56 ± 0.08	2.65 ± 0.19
Peroné	2.51 ± 0.23	2.47 ± 0.32	2.43 ± 0.13	2.86 ± 0.15	2.26 ± 0.10	2.37 ± 0.19
Falanges	1.68 ± 0.20	1.5 ± 0.47	<b>1.43 ± 0.06*</b>	1.48 ± 0.06	<b>1.34 ± 0.09*</b>	<b>1.49 ± 0.08*</b>
Pie	4.2 ± 0.12	3.96 ± 0.33	4.19 ± 0.14	4.67 ± 0.13	4.07 ± 0.06	4.33 ± 0.12
Pierna	9.98 ± 0.49	<b>9.34 ± 0.34 *</b>	9.75 ± 0.38	11.28 ± 0.41	9.47 ± 0.14	9.86 ± 0.42

Promedio ± DE. \*p<0.05, t de Student, contra el grupo control negativo.

En la siguiente tabla, se muestran los resultados de las correlaciones obtenidas entre las anomalías morfo-esqueléticas observadas en los fetos de machos expuestos a las distintas concentraciones de  $V_2O_5$ .

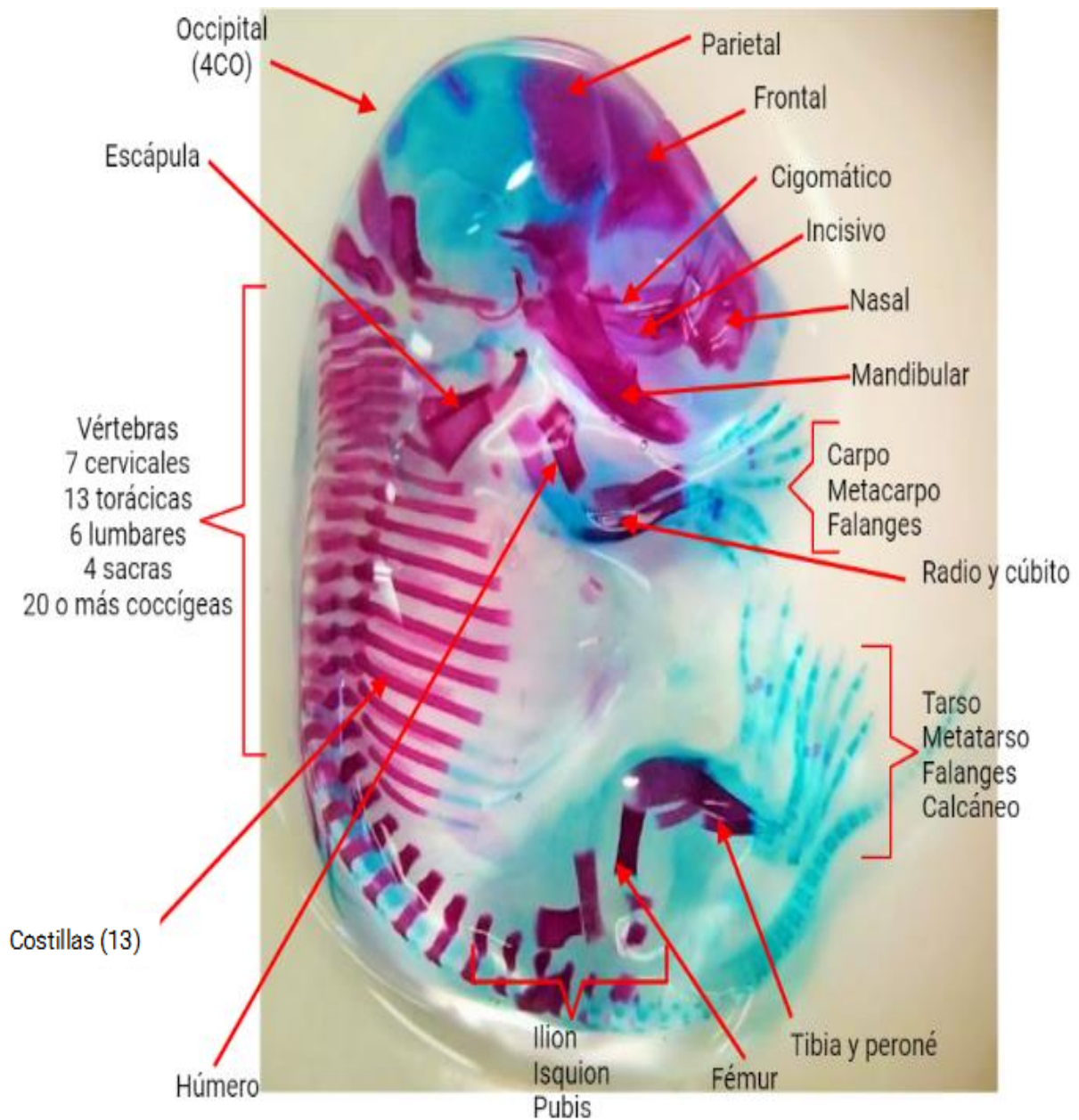
**Tabla 11.** Correlación entre las anomalías morfológicas y esqueléticas observadas en los fetos y las concentraciones de  $V_2O_5$  a las cuales fueron expuestos sus progenitores macho.

Grupo	V de Cramer		Grado de Correlación	
	Morfológicas	Esqueléticas	Morfológicas	Esqueléticas
Control Positivo	0.510	0.501	Alto	Alto
<b><math>V_2O_5</math> [M]</b>				
[0.02]	0.573	0.503	Alto	Alto
[0.04]	0.338	0.360	Moderado	Moderado
[0.08]	0.695	0.440	Alto	Moderado
[0.12]	0.572	0.442	Alto	Moderado

Grados de correlación V de Cramer: 0-0.100, no hay relación; 0.100-0.300, efecto pequeño; 0.300-0.500, efecto moderado; 0.500-1.00 efecto alto. La prueba se realizó contra el grupo control negativo.

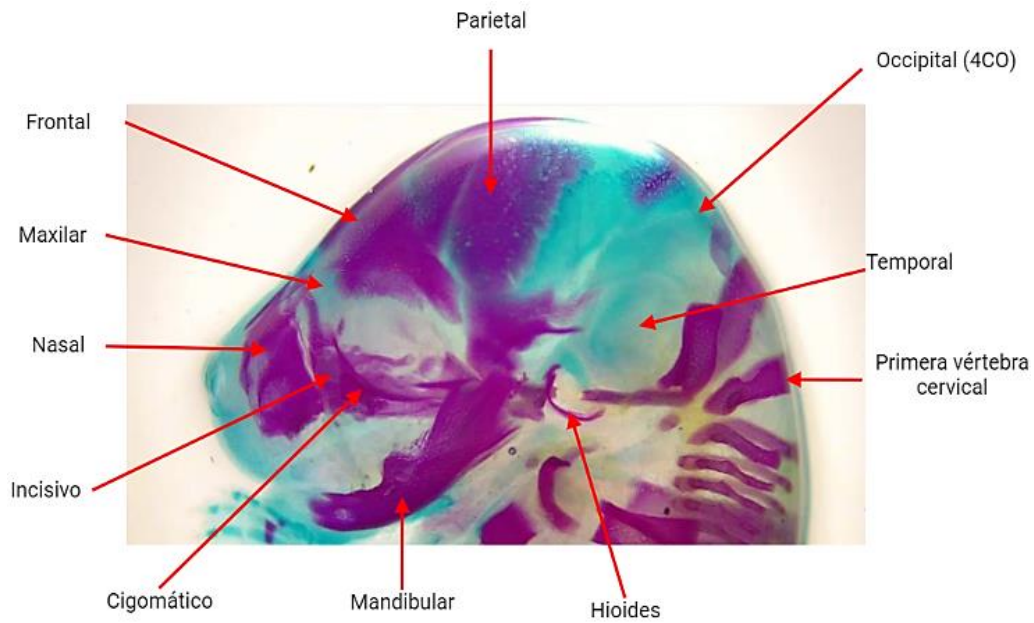
Se encontraron correlaciones altas y moderadas para las anomalías morfo-esqueléticas en todos los grupos, a excepción del grupo [0.04] de  $V_2O_5$ , en donde en ambos casos, la correlación fue moderada.

A continuación, se muestran imágenes de huesos del cráneo, extremidades superiores e inferiores y el esqueleto axial con osificación incompleta, retraso en la osificación y ausencia de huesos o CO (Figuras 12-24).

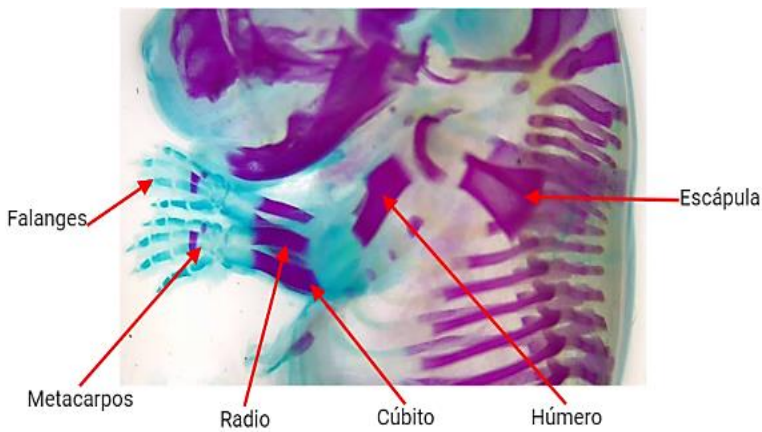


**Figura 12.** Control negativo, se indican los huesos y centros de osificación (CO) evaluados. En el caso del hueso occipital, posee 4 CO. (2 occipitales y 2 supra occipitales). Microscopio estereoscópico Leica, 8X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.

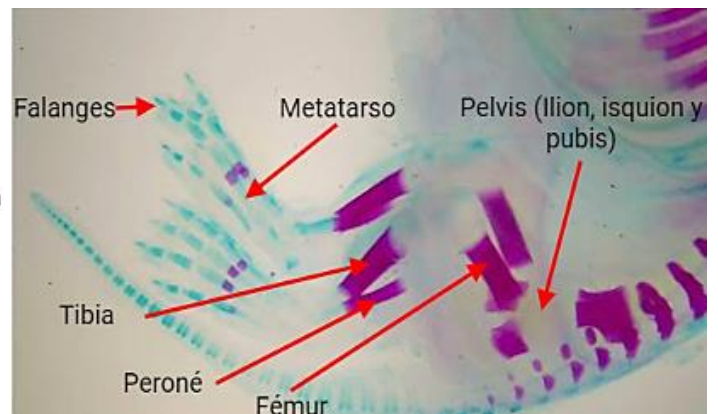




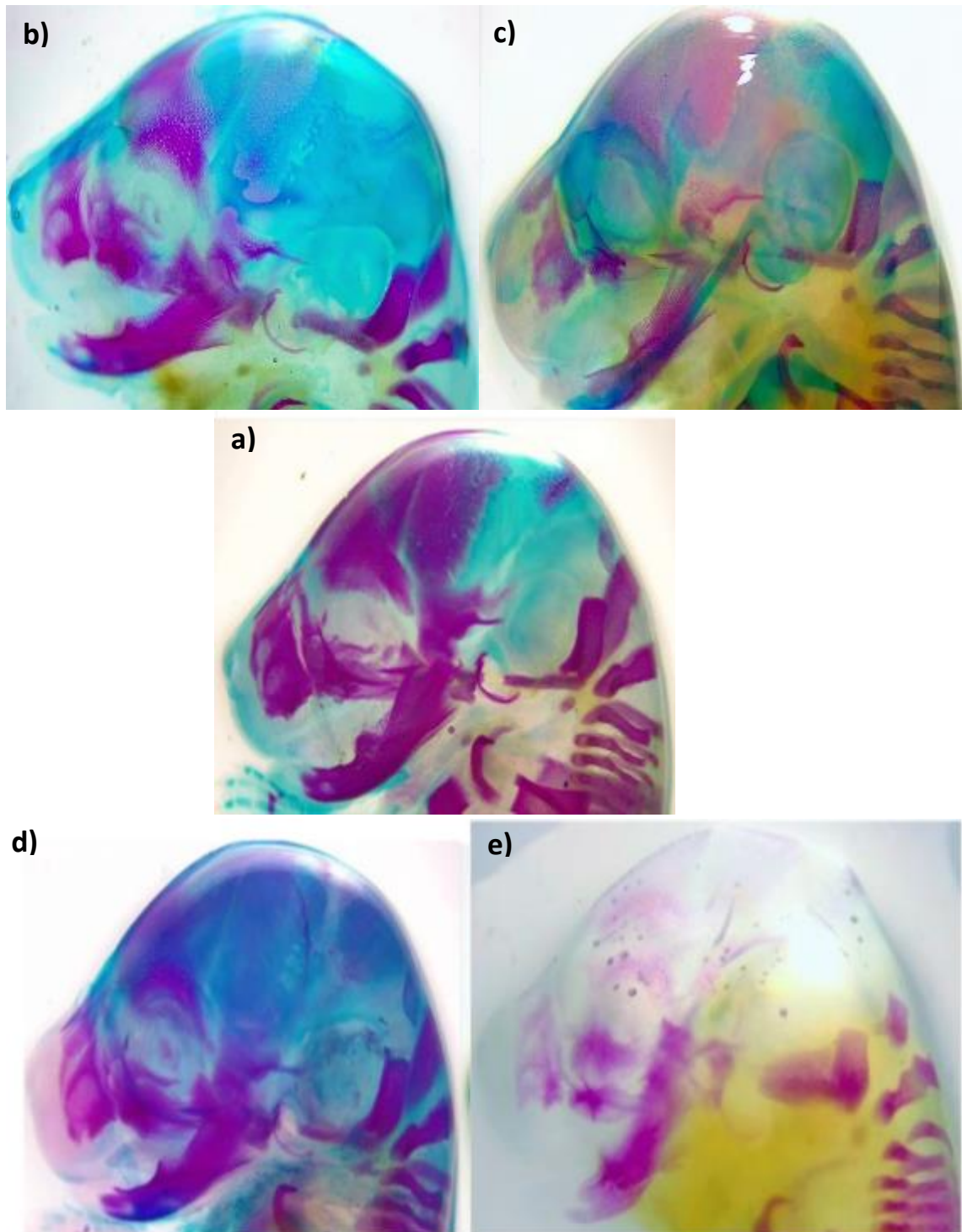
**Figura 13.** Control negativo, se indican los huesos y CO del cráneo. Microscopio estereoscópico Leica, 12X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



**Figura 14.** Control negativo, se indican los huesos con CO de las extremidades superiores. Microscopio estereoscópico Leica, 10X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



**Figura 15.** Control negativo, se indican los huesos con CO de las extremidades inferiores. Microscopio estereoscópico Leica, 12X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



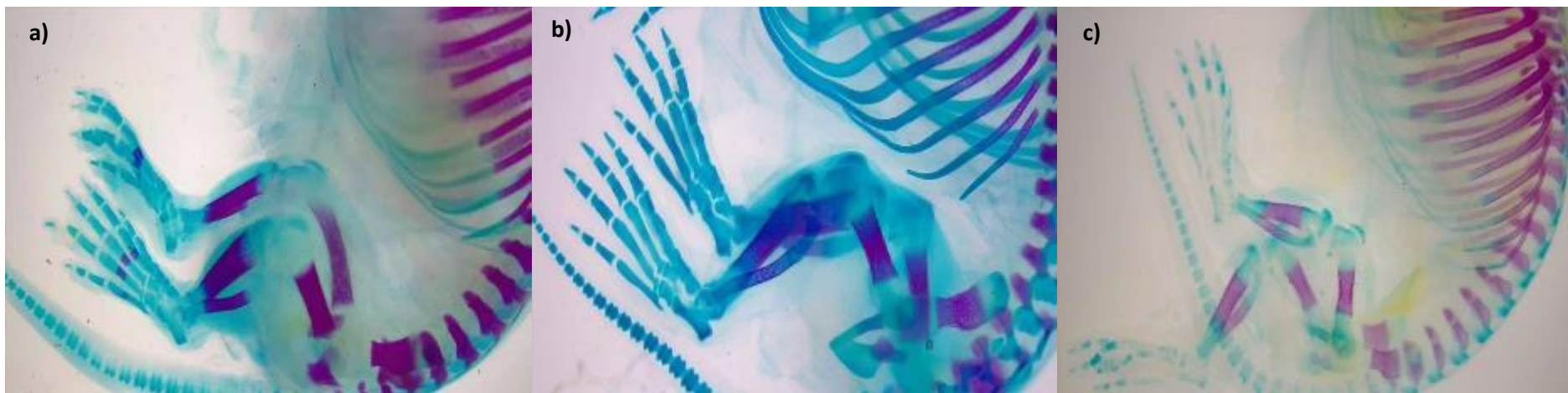
**Figura 16.** Anormalidades en la osificación de los huesos craneales en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo con todos los CO y huesos del cráneo correctamente osificados. B) [0.02], retraso en la osificación. C) [0.08 M], osificación incompleta del hueso nasal, incisivo, frontal y parietal; retraso en la osificación del hueso mandibular y CO del occipital; ausencia del cigomático. D) [0.12], retraso en la osificación. E) [0.12], osificación Incompleta. Microscopio estereoscópico Leica, 10X.

Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.

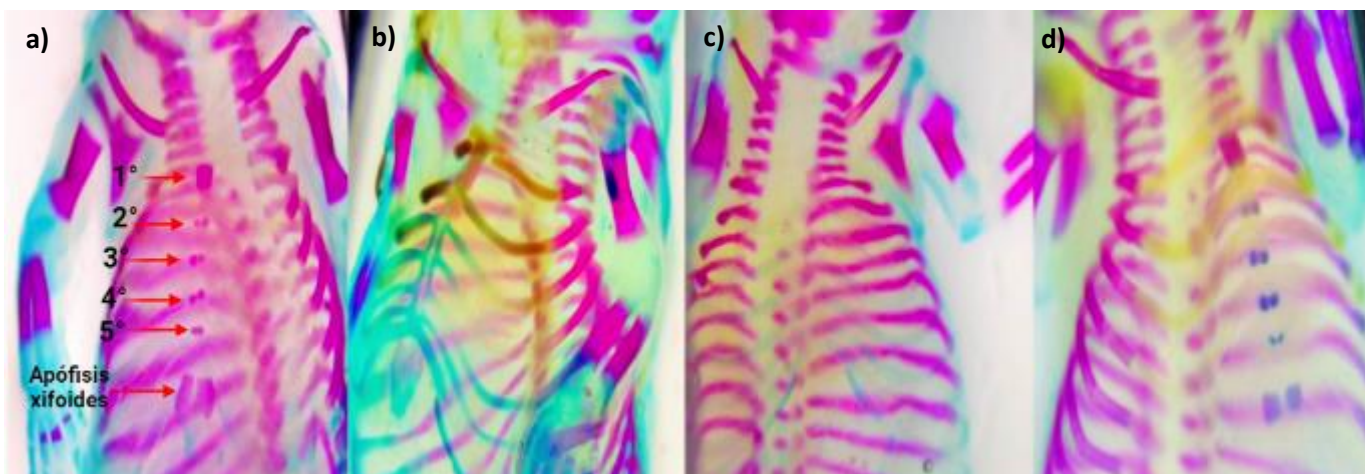




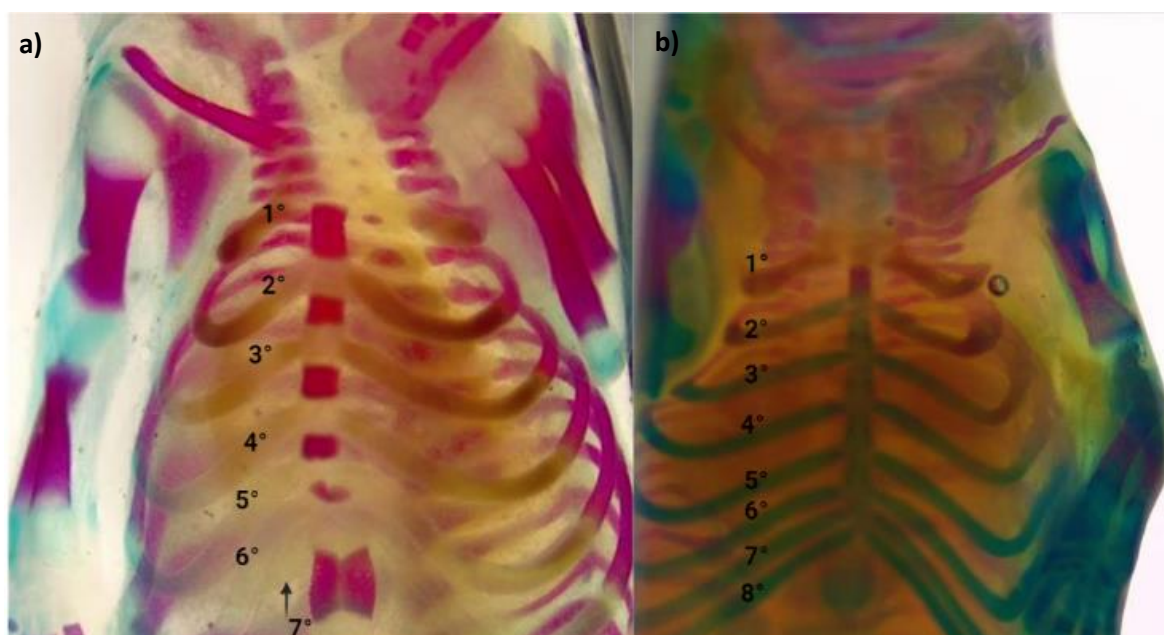
**Figura 17.** Anormalidades en la osificación de los huesos de las extremidades superiores en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo con todos los CO y huesos de las extremidades superiores correctamente osificados. Se observan los CO de los metacarpos. B. Grupo [0.02 M], retraso en la osificación del cúbito, radio y metacarpos. C) [0.04 M], retraso en la osificación en dos CO del metacarpo. D) [0.08 M], ausencia de los CO del metacarpo y osificación incompleta del húmero, radio y cúbito. E) [0.12 M], ausencia de los CO del metacarpo. Microscopio estereoscópico Leica, 8X-10X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



**Figura 18.** Anormalidades en la osificación de los huesos de las extremidades inferiores en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo con todos los CO y huesos de las extremidades inferiores correctamente osificados. Se observan los CO de los metatarsos. B) [0.02], retraso en la osificación de todos los huesos de las extremidades inferiores. No presenta CO en los metatarsos. C) [0.08 M], osificación incompleta en los huesos de las extremidades inferiores; ausencia de CO en metatarsos e isquion. Microscopio estereoscópico Leica, 8X-10X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.

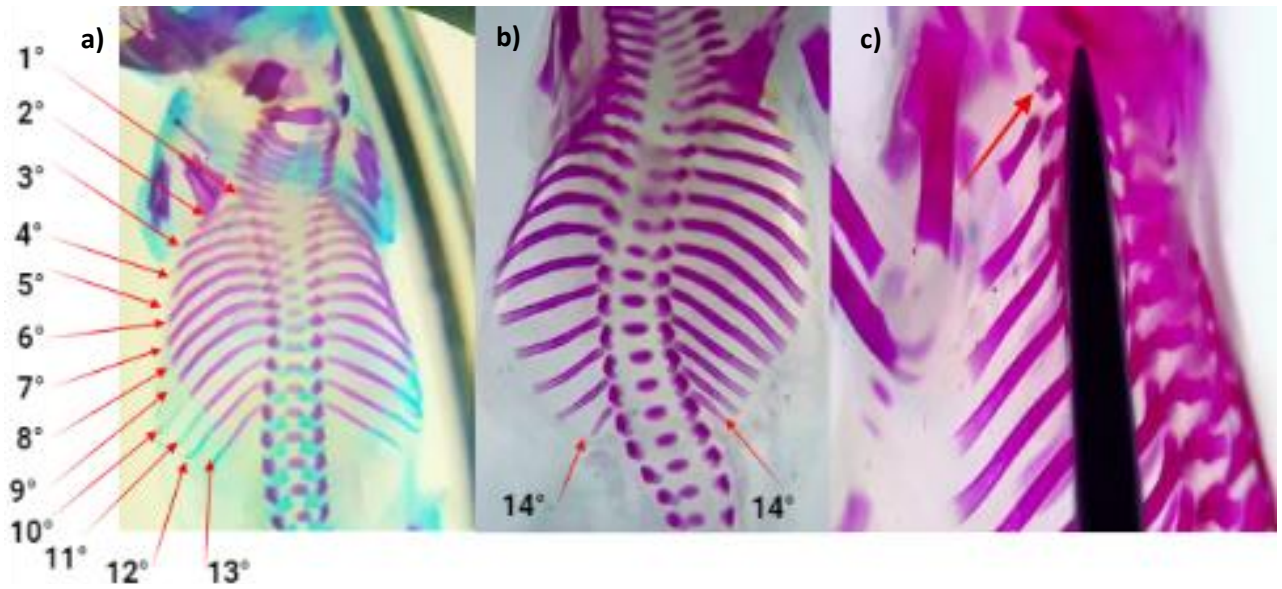


**Figura 19.** Anormalidades en la osificación de los huesos del esqueleto axial, presentes en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo, presenta todos los CO de las esternebras (1-5) y apófisis xifoides con CO. B) [0.02 M], osificación incompleta en la 1° esternebra y apófisis xifoides; ausencia de CO en esternebras. C.) [0.08 M], ausencia de CO en esternebras y apófisis xifoides. D) [0.12 M], retraso en la osificación de la 2° a la 5° esternebra y en la apófisis xifoides. Microscopio estereoscópico Leica, 10X-12X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



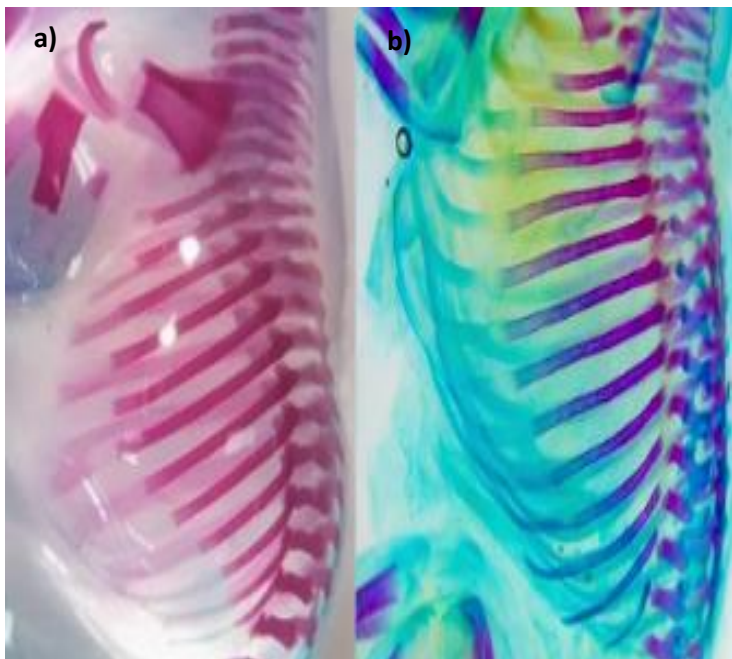
**Figura 20.** Anormalidades en óseas observadas en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control Negativo, 7 cartílagos intercostales. B) [0.08 M], 8 cartílagos. Microscopio estereoscópico Leica, 12X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



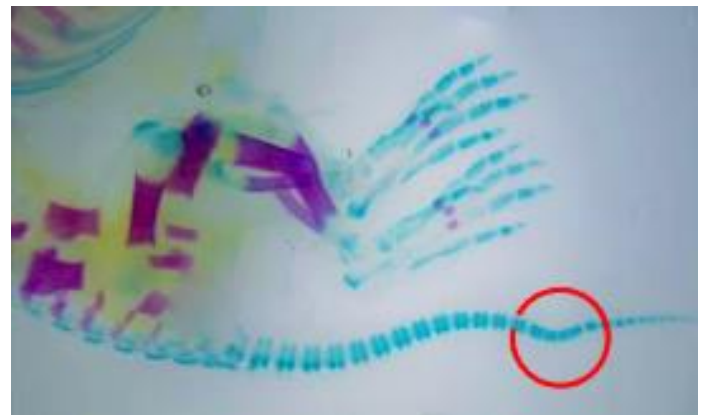


**Figura 21.** Anormalidades óseas observadas en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo, 13 pares de costillas. B) [0.02 M], 14 pares de costillas. C) [0.04 M], un primordio de costilla en la vértebra C7 del lado izquierdo. Microscopio estereoscópico Leica, 8X, 10X y 12X.

Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



**Figura 22.** Anormalidades en la osificación de las costillas, presentes en fetos descendientes de machos expuestos a tratamientos subcrónicos vía inhalatoria con  $V_2O_5$ . A) Control negativo, osificación normal de costillas y vértebras. B) [0.12 M], retraso en la osificación en costillas y apófisis espinosa. Microscopio estereoscópico Leica, 10X; Microscopio estereoscópico Nikon, 8X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.



**Figura 23.** [0.08 M], fusión de 4 vértebras coccígeas. Microscopio estereoscópico Leica, 10X; Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ



**Figura 24.** [0.02 M], ausencia de CO y huesos. Microscopio estereoscópico Leica, 8X. Microfotografía. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ

## Discusión

Las anomalías morfo-esqueléticas observadas en las crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a un tratamiento subcrónico vía aérea con  $V_2O_5$ , pueden deberse a que el vanadio afecta el material genético de los gametos masculinos mediante distintos mecanismos, como, por ejemplo, el estrés oxidativo y la inhibición de la acción de las fosfatasa y quinasa.

Un estudio que demuestra que el vanadio induce daño a los gametos masculinos mediante la modificación de la actividad de las fosfatasa y quinasa, es el realizado por Bae y cols., en 2021, en el cual, se expuso a ratones macho BALB/C a  $V_2O_5$  vía inhalatoria (4mg/m<sup>3</sup>/6 horas al día, 3 días a la semana, 4 semanas), y se demostró que estos presentaron una disminución de células espermatogoniales y de Sertoli, así como colapso en los arreglos estructurales de los túbulos seminíferos y ruptura de la densidad estructural entre las células germinales testiculares. También se observó una disminución en la capacidad de capacitación de los espermatozoides y una disminución en la motilidad progresiva. En este estudio, se evaluó la actividad de la proteína quinasa A y la fosforilación de tirosina, demostrando que el vanadio es capaz de interactuar con dichas proteínas y modificar su actividad, alterando la salud reproductiva del macho.

Cabe mencionar que, tanto las fosfatasa como las quinasa, poseen efectos pleiotrópicos sobre diferentes funciones celulares como el metabolismo, crecimiento, diferenciación gonadal y esteroidogénesis (Gómez-Chang *et al.*, 2012).

Por otra parte, se ha demostrado que los compuestos de vanadio afectan el material genético de los gametos masculinos. Una forma mediante la cual el vanadio produce daño al material genético de los espermatozoides, es a través de la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS) (Molinuevo, 2005). Las ROS y RNS se producen debido a la especiación que sufren los compuestos de vanadio dentro de los distintos órganos y compartimientos celulares y, a su unión con distintos ligandos (Treviño *et al.*, 2019), además, estudios subsecuentes han demostrado que el vanadilo estimula la oxidación de NADH, promoviendo la generación de vanadatos, seguidos de la producción de  $H_2O_2$  y  $^*O_2^-$  (reacción de Fenton), incrementando así, la concentración de  $O_2^-$  (Islam *et al.*, 2007). Las diversas interacciones que pueden tener los vanadatos al reaccionar con NADH y generar reacciones de oxidación en los diversos compartimientos celulares aún no se han esclarecido, sin embargo, se ha documentado que puede ocasionar peroxidación lipídica (Mendoza *et al.*, 2005; Ramasarma, 2006; Abdelhamid *et al.*, 2010).

Un ejemplo de que los compuestos de vanadio producen daño a los gametos masculinos mediante el estrés oxidativo, es el estudio realizado por Castellini y cols., en el año 2009, en donde se evaluó el efecto *in vitro*, de tres concentraciones (1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M y 100  $\mu$ M) de metales pesados, entre ellos el

vanadio, sobre espermatozoides de conejo, encontrándose una disminución de la motilidad progresiva y daños en la cabeza del espermatozoide, como la formación de pliegues en la membrana acrosomal y un aumento de morfología anormal.

Por otra parte, en el estudio realizado por Díaz-Mejía en 2021, se demostró la capacidad del vanadio de inducir daño al material genético espermático. En este estudio, se expuso a ratones macho CD-1 a un tratamiento subcrónico (1 hora, cada tercer día durante dos semanas) vía inhalatoria, a tres diferentes concentraciones (0.02 M, 0.04 M y 0.08 M) de  $V_2O_5$ . Se encontró un aumento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas numéricas y estructurales en las células del epitelio germinativo, siendo los más frecuentes los rompimientos cromosómicos y las euploidías, también se encontró una disminución en la densidad espermática y un aumento de morfología anormal de los espermatozoides de los ratones expuestos a  $V_2O_5$ . También se ha demostrado que, por exposición aguda a  $V_2O_5$  vía inhalatoria, se produce una disminución de la motilidad espermática y un aumento de formas anormales en los espermatozoides (Roldán-Reyes *et al.*, 2022).

Tomando en cuenta que el vanadio ocasiona daño en el material genético de los gametos masculinos y, para explicar cómo los compuestos de vanadio pueden inducir alteraciones congénitas, es importante mencionar a los genes de impronta paterna, el impacto que tiene el plasma seminal sobre el desarrollo embrionario y que el 50% del juego cromosómico es donado por el progenitor.

Se sabe que, los genes de impronta paterna son los responsables de la formación de los anexos extraembrionarios como la placenta. El desarrollo de este órgano, es un proceso altamente regulado, que juega un papel esencial para el crecimiento y desarrollo embrio-fetal, así como para el mantenimiento de un embarazo saludable (Morgan-Ortiz *et al.*, 2015). La placenta, además de fungir como barrera, cumple otras funciones, como el intercambio y metabolismo de nutrientes, el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono, y funciones endocrinas (Rodríguez-Cortés y Mendieta-Zerón, 2014).

Un mal desarrollo de la placenta, puede producir una mala salud materna durante el embarazo, teniendo consecuencias a corto y largo plazo para la descendencia y la madre (NICHD, 2022).

Diversos estudios, han demostrado la relación entre una mala expresión de los genes de impronta paterna que participan en el desarrollo de la placenta y la salud materna y fetal.

La formación, desarrollo y crecimiento de la placenta, dependen la expresión paterna de *IGF2*, que promueve el crecimiento de la placenta, y junto con el receptor *IGF2* de origen materno, regulan el correcto desarrollo de este órgano (Khoshkerdar *et al.*, 2021). Cuando *IGF2* paterno no se expresa de forma correcta, puede ocasionar predisposición a enfermedades y complicaciones durante el embarazo. En un estudio realizado por Sandovici y cols. en 2022, en donde utilizaron placentas y fetos de ratón con *IGF2* paterno suprimido, se



encontró que estos presentaron una incorrecta diferenciación del trofoblasto, así como crecimiento y diferenciación celular alterados y una angiogénesis deteriorada. Además, en otro estudio realizado con ratones, donde se suprimió *IGF2* paterno, se encontró un crecimiento anormal de la placenta junto con una disminución del crecimiento fetal (Constância *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos en el presente estudio, permiten sugerir que los genes de impronta paterna, como el *IGF2*, pueden estar afectados, lo que explica la disminución de la longitud cefalocaudal y el peso fetal promedio, así como el aumento de la presencia de hematomas en los fetos descendientes de machos expuestos a  $V_2O_5$ .

Otros genes de impronta paterna que podrían verse dañados y ayudar a explicar las causas de la disminución del peso y la longitud cefalocaudal promedio en los fetos descendientes de machos expuestos a  $V_2O_5$ , son los de la familia *SNAT*, específicamente, el de la proteína del receptor *Slc38a4* (esta proteína es un cotransportador de aminoácidos neutros acoplados a  $Na^+$ ), cuya delección en cigotos mutantes, ocasiona hipoplasia placentaria, disminución del crecimiento intrauterino y peso fetal reducido. Es importante mencionar que *Slc38a4* paterno, se expresa en varios tejidos embrionarios como cerebro, ojos, tejidos endocrinos, músculos y órganos del sistema respiratorio (Matoba *et al.*, 2019; The Human Protein Atlas, 2022), por lo que, sumado a lo anterior, una alteración en la expresión de dicho gen, puede ocasionar alteraciones morfológicas. La disminución del crecimiento intrauterino, el peso y la longitud fetal promedio, podría estar relacionada con un déficit en el transporte de aminoácidos, ya que *Slc38a4* paterno, está relacionado directamente con la vía de señalización mTORC1 (Xie *et al.*, 2022).

Por otra parte, la alteración en la expresión del gen de impronta paterna *Zdbf2*, se relaciona con la disminución del crecimiento intrauterino y postnatal, además de falta de apetito y muerte prematura de las crías de ratón recién nacidas (Glaser *et al.*, 2022). Tomando en cuenta que el  $V_2O_5$  causa efectos mutagénicos, varios de los genes anteriormente mencionados podrían estar relacionados con los daños en el desarrollo embrio-fetal observados en la descendencia de los ratones macho tratados.

Cabe mencionar que, algunos genes de impronta regulan a su vez, la expresión o inhibición de más genes, por ejemplo, *Rasgrf1* paterno, interviene en la expresión de los genes de impronta *H19* e *IGF2* (Yoon *et al.*, 2005), por lo que, la alteración de genes de impronta paterna que intervienen en más vías de señalización, puede producir un efecto severo sobre el desarrollo de la descendencia. La pérdida de la impronta del gen *H19*, involucrado también en el desarrollo de la placenta, se ha relacionado con el desarrollo de preeclampsia (PE), una enfermedad caracterizada por una mala angiogénesis durante la invasión trofoblástica. El desarrollo de PE durante el embarazo, trae consecuencias sobre el desarrollo embrio-fetal (Yu *et al.*, 2009; Say *et al.*, 2014; Herrera-Sánchez, 2018).

Una vía que podría verse afectada y que explicaría el aumento de párpados mal desarrollados en fetos descendientes de ratones macho expuestos a  $V_2O_5$ , es la vía *Dkk2*-Wnt/ $\beta$ -catenina. El gen *Dkk2* de impronta paterna, codifica para un ARNm que participa en la regulación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina (Dadoune, 2009). En un estudio realizado por Meng y cols. en 2014, en donde se utilizaron ratones mutantes con dicho gen suprimido, se encontró un aumento de malformaciones oculares, tales como patologías en el cristalino, la retina y en glándulas lagrimales, así como anomalías hipoplásicas en los músculos del párpado. Es importante mencionar que la vía Wnt/ $\beta$ -catenina participa en procesos como proliferación celular, organogénesis y diferenciación celular (Sharma *et al.*, 2021), por lo que la alteración de dicha vía puede tener consecuencias graves para el desarrollo embrio-fetal normal, llegando a ser letal (Theka *et al.*, 2019).

Otro grupo de genes de impronta paterna que podrían verse afectados por el  $V_2O_5$ , son los del dominio *Dlk1-Dio3* (yodotironina desyodasa de tipo III homólogo tipo delta 1), ubicado en el cromosoma 12 del ratón (12F1). El dominio contiene tres genes que codifican las siguientes proteínas: *Dlk1* codifica una glicoproteína transmembranal que posee seis dominios similares al factor de crecimiento epidérmico y juega un papel importante en la diferenciación de tejidos, además de ser clave en la inhibición de la adipogénesis; el segundo es *Rtl*, el cual se expresa principalmente durante las etapas embrionarias en diversos tejidos y la placenta; el último es *Dio3*, el gen más distal de este grupo. Codifica para la yodotironina desyodasa tipo 3, enzima que participa en la degradación de la hormona tiroidea (Teixeira *et al.*, 2008).

Este grupo de genes, se regulan junto con los de origen materno, cuya expresión produce ARNm. Se ha encontrado que las disomías uniparentales (DUP) maternas en estos genes, ocasionan defectos en los huesos derivados de la cresta neural del oído medio, así como hipertrofia e inmadurez de los músculos y huesos (Teixeira *et al.*, 2008). Un daño en estos genes, podría explicar el retraso en la osificación y la poca osificación de los huesos y CO en los fetos descendientes de machos expuestos a  $V_2O_5$ , evaluados en este estudio.

Es importante recalcar que una mala expresión en los genes de impronta paternos, también pueden afectar la expresión de los genes homeóticos, como los *HOX* (Mohamad *et al.*, 2020), *PAX*, *NOX*, etc., cuyo papel es fundamental para el correcto desarrollo intrauterino o posnatal, pues estos definen los segmentos del cuerpo y dirigen el desarrollo de las estructuras. La inhibición o sobreexpresión de estos genes, puede explicar malformaciones como el mal desarrollo y ausencia de párpados y orejas, la presencia de costillas supernumerarias, la transformación de las vértebras sacras a torácicas y la ausencia de huesos y CO en los fetos evaluados.

Un ejemplo de esto, es que el mal desarrollo de las orejas, conocido como microtia-atresia, está asociado con la hipermetilación del gen *ZNF597* paterno y la hipometilación de *ERLIN2* materno. El gen *ZNF597* paterno, normalmente se encuentra hipometilado, siendo *ZNF597* materno el que se expresa. Esta expresión anormal de *ZNF2* paterno, tiene consecuencias sobre la acetilación de

*BAPX1* (Guida *et al.*, 2021), que es un miembro de la clase NK2 de genes homéoticos. *BAPX1*, en ratón, se expresa en el día 8 de gestación en la sección antero-posterior del intestino. En las somitas, este gen se expresa en el esclerotomo y participa en la formación del esqueleto axial. Al día 9.5 de gestación, se expresa en el primer arco branquial y al día 10.5 se expresa en las estructuras craneofaciales. Al día 16.5 de gestación, *BAPX1* se expresa en todo el esqueleto axial, también se ha reportado que este gen se expresa en el esqueleto apendicular y junto con *Shh*, regula la formación y osificación de las extremidades (Akazawa *et al.*, 2000; Triboli y Lufkin, 2006). Es importante mencionar que los ratones con *BAPX1* suprimido presentan displasia esquelética letal, malformaciones severas en la región cervical y malformaciones leves en la región caudal, tales como pérdida de los centros de osificación, hipoplasia en el cigomático y otros huesos y, hueso supraoccipital ausente (Fischer *et al.*, 2009). Lo anterior, podría explicar las anomalías morfológicas en orejas y la falta de osificación en los huesos de esqueleto apendicular y axial, así como la ausencia del hueso supraoccipital, presentes en los fetos descendientes de machos expuestos a  $V_2O_5$ .

Otro gen importante relacionado con los genes homeóticos, es *POU5F1*. Este gen codifica para el factor de transcripción de homeodominio Oct4 (Kellner y Kikyo, 2010). La expresión de dicho gen, está en función de la metilación del promotor. En un estudio realizado por Kwon y cols. en 2018, se estudió la importancia del gen *Zfp127*, que codifica para una proteína homóloga. El gen está ubicado en el cromosoma 7 del ratón, cuyo alelo materno se encuentra silenciado, expresándose únicamente el alelo de origen paterno. En este estudio se encontró que *Zfp127* induce la expresión de *POU5F1* mediante la acetilación del promotor. Oct4, junto con otras proteínas como Cdx-2, regula la expresión de los genes *HOX* y participa en la señalización de las vías Wnt. Se ha demostrado que una pobre expresión de los genes *HOX*, ocasiona que fetos de ratón presenten costillas supernumerarias (Aires *et al.*, 2016). El aumento en la frecuencia de costillas supernumerarias y cartílagos intercostales extra, observados en los fetos analizados en el presente estudio, puede deberse a una alteración en la expresión de Oct4, cuya regulación depende de genes de impronta como *Zfp127*.

Finalmente, hay que destacar la importancia que juega el plasma seminal durante la fertilización y post-fertilización, ya que activa señales que facilitan la correcta respuesta inmune de la madre, lo que se traduce en una correcta implantación y desarrollo de la placenta (Khoshkerdar *et al.*, 2021). Es posible que el plasma seminal de los ratones macho expuestos a  $V_2O_5$ , contenga vanadio, lo que puede interferir en los procesos anteriormente mencionados y promover la aparición de PE u otras complicaciones durante la implantación, lo que se traduce en un desarrollo embrio-fetal afectado.

Se ha demostrado que, dependiendo de la concentración en el plasma seminal, el vanadio puede tener efectos benéficos o adversos sobre la descendencia. Rodríguez-Díaz y cols. en el año 2022, realizaron un estudio en donde se evaluó la concentración de metales pesados, entre ellos el vanadio, en el plasma

seminal y el efecto que tenía esto sobre la capacitación del espermatozoide, el porcentaje de fecundación y la correcta implantación y desarrollo del cigoto. Se encontró que los bajos niveles de vanadio en el plasma seminal, incrementan la tasa de fertilización, mientras que, las altas concentraciones, incrementan las anomalías en la implantación y la muerte del cigoto.

En un estudio realizado por Wang y cols. en 2018, se evaluó la concentración de vanadio en orina y plasma seminal de pacientes masculinos subfértiles no expuestos ocupacionalmente, habitantes de la ciudad de Tongji, China, una de las ciudades donde se reportan mayores concentraciones plasmáticas de metales pesados en los habitantes no ocupacionalmente expuestos. En este estudio se demostró que los hombres no ocupacionalmente expuestos, presentaron niveles detectables de vanadio en orina y plasma seminal, con una disminución de la calidad seminal, además se encontró una relación dosis-respuesta en el daño al DNA espermático (ensayo cometa) y una relación inversamente proporcional en la concentración de vanadio y hormonas séricas (estradiol, testosterona, FSH y LH), por lo que se demuestra que el vanadio es capaz de permanecer en el plasma seminal y posiblemente intervenir en los mecanismos posfecundación.

Debido a lo anterior, es posible que los machos expuestos a  $V_2O_5$ , contengan vanadio en el plasma seminal, lo que podría explicar, junto con la disminución en los parámetros de calidad seminal reportados por distintos autores, la disminución en la tasa de fertilización en las concentraciones 0.02 M y en 0.08 M, a pesar de que en esta última no fue significativa, así como los efectos adversos embrio-fetales.

## Conclusiones.

En el presente estudio se realizó una evaluación morfo-esquelética para analizar los efectos del  $V_2O_5$  sobre la descendencia de ratones macho tratados de forma subcrónica vía inhalatoria. Por los resultados obtenidos, se puede concluir que:

- El  $V_2O_5$  aumentó la frecuencia de efectos adversos sobre la descendencia, tales como disminución del peso y longitud cefalocaudal promedio fetal y aumento del número de fetos muertos.
- El  $V_2O_5$  aumentó la frecuencia de anomalías morfológicas externas tales como, malformación de orejas y párpados, fetos con poco desarrollo, entre otros.
- El  $V_2O_5$  promueve el incremento de alteraciones óseas, como retrasos en la osificación, poca osificación y ausencias de huesos y CO en los fetos descendientes de machos expuestos.
- El  $V_2O_5$  es un compuesto con efecto bifásico, siendo las dosis de [0.02 M], [0.08 M] y [0.12 M] las que presentaron mayor efecto congénito ( $p < 0.05$ ) sobre la descendencia de los machos tratados, mientras que, la concentración [0.04 M], fue la que menos efectos adversos tuvo sobre el desarrollo embrio-fetal.
- Con base en los resultados obtenidos en el análisis de correlación, se puede concluir que la exposición de los machos a  $V_2O_5$  vía inhalatoria, induce anomalías morfo-esqueléticas sobre la descendencia.

## Perspectivas.

En este estudio solamente se evaluaron los efectos embrio-fetales y morfo-esqueléticos, ocasionados por la exposición paterna a  $V_2O_5$ , aportando información sobre los efectos congénitos (teratogénesis mediada por el macho) ocasionados por la reprotoxicidad del compuesto. Sin embargo, aún quedan cuestiones por resolver, por lo que se tienen las siguientes perspectivas:

- Desarrollo de estudios como FISH, Fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP), Pirosecuencia, Secuenciación de nueva generación (NGS) y PRC aplicados a los gametos masculinos de machos expuestos a compuestos de vanadio, para identificar genes que se puedan ver afectados.
- Aplicación de diversas técnicas como qRT-PCR para la evaluación de la expresión de genes de impronta paterna en los tejidos embrionarios y fetales de las crías descendientes de machos expuestos.
- Evaluación del cariotipo de las crías descendientes de machos expuestos a compuestos de vanadio.
- Evaluación del desarrollo posnatal de las crías descendientes de machos expuestos a compuestos de vanadio.
- Realización de más estudios sobre los efectos reprotóxicos, genotóxicos y toxicológicos, del vanadio por exposición laboral, ambiental y farmacológica en humanos, como, por ejemplo, ensayo cometa, ensayo de micronúcleos en linfocitos o exfoliados de la mucosa oral, espermatobioscopias periódicas en los casos de exposición laboral, etc.
- Crear conciencia sobre el impacto que tiene el aumento de la concentración de metales pesados en la atmósfera, en la salud reproductiva del ser humano, mediante la realización y publicación de estudios sobre los efectos adversos que tiene sobre el organismo.



## Referencias Bibliográficas

- ❖ Abd-Elaziz, R.M., El-Tabl, A.S., Elmazar, M.M. y Abd-Elwahed, M.M. (2020). Metallopharmaceutical Complexes based on Vanadium as potential anti-hyperglycemic agents. *Egyptian Journal of Chem.*, 63(2):389-404.
- ❖ Abdelhamid, G., Anwar-Mohamed, A., Elmazar, M.M. y El-Kadi, A.O. (2010). Modulation of NAD (P)H: quinone oxidoreductase by vanadium in human hepatoma HepG2 cells. *Toxicol in Vitro*, 24(6):1554-1561.
- ❖ Aires, R., Jurberg, A.D., Leal, F., Nóvoa, A., Cohn, M. y Mallo, M. (2016). Oct4 is a key regulatory of vertebrate trunk length diversity. *Cell Press*, 38:262-274.
- ❖ Akazawa, H., Komuro, Y., Sugitani, Y., Yazaky, Y. Nagai, R. y Noda, T. (2000). Targeted disruption of the homeobox transcription factor Bapx1 results in lethal skeletal dysplasia with asplenia and gastroduodenal malformation. *Genes Cells*, 5(6):499-513.
- ❖ Altamirano-Lozano, M.A., Ayala, M.E., Flores, A., Morales, L. y Domínguez, R. (1991). Sex differences in the effects of vanadium pentoxide administration to prepuberal rats. *Med.Sci.Res.*, 19:825-6.
- ❖ Altamirano-Lozano, M.A. (1992). Efectos mutagénicos y alteraciones del ciclo reproductivo del ratón producidos por pentóxido de vanadio (Tesis doctoral), Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- ❖ Altamirano-Lozano, M.A., Álvarez-Barrea, L., Basurto-Alcántara, F., Valverde, M. y Rojas, E. (1996). Reprotoxic and genotoxic studies of vanadium pentoxide in male mice. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*, 16:1-7.
- ❖ Altamirano-Lozano, M.A., Álvarez-Barrera, L., Mateos-Nava, R.A., Fortoul, T.I. y Rodríguez-Mercado, J.J. (2014). Potential for genotoxic and reprotoxic effects of vanadium compounds due to occupational and environmental exposures: An article based on a presentation at the 8th International Symposium on Vanadium Chemistry, Biological Chemistry, and Toxicology, Washington DC, August 15-18, 2012. *Journal of Immunotoxicology*, 11(1):19-27.
- ❖ Aragón M.A., Ayala M.E., Fortoul T.I., Bizarro P. y Altamirano-Lozano M. (2005). Vanadium induced ultrastructural changes and apoptosis in male germ cells. *Reprod. Toxicol.* 20:127-134
- ❖ Arteaga Martínez, S. y García Peláez, M.I. (2013). Embriología Humana y Biología del Desarrollo (79-108 pp). México: Editorial Médica Panamericana.
- ❖ Athanasios, V., Konstantinos, F., Vlahogianni, T., Bakeas, E.B., Triantafillaki, S., Paraskevopoulou, V. y Dassenakis, M. (2006). Characterization of atmospheric particulates, particle-bound transition metals and polycyclic aromatic hydrocarbons or urban air in the centre of Athens (Greece). *Chemosphere*, 65:760-768.
- ❖ Aureliano, M., Henao, F., Tiago, T., Duarte, R.O., Moura, J.J.G., Baruah, B. y Crans, D.C. (2008). Sarcoplasmic reticulum calcium ATPase is inhibited by organic vanadium coordination compounds: pyrimidine-2,6-dicarboxylatodioxovanadium (V), BMOV, and an amavadin analogue. *Inorg. Chem.*, 47 (13):5677-5684.



- ❖ Aureliano, M. (2011). Recent perspectives into biochemistry of decavanadate. *World J. Biol. Chem.*, 2 (10):215-225.
- ❖ Aureliano, M. (2016). Decavanadate toxicology and pharmacological activities: V10 or V1, both or none?. *Oxidative Med. Cell Longev*, 2016:6103457.
- ❖ Bae, J.W., Im, H., Hwang, J., Kim, S., Ma, L., Kwon, H.J., Kim, E., Kim, M. O. y Kwon, W.S. (2021). Vanadium adversely affects sperm motility and capacitation status via protein kinase A activity and tyrosine phosphorylation. *Reproductive Toxicology*, 96:195-201.
- ❖ Benavides, F. y Guénet, J.L. (2003). *Manual de genética de roedores de laboratorio*. Universidad de Alcalá: España
- ❖ Bencherif, M. y Lukas, R.J. (1992). Vanadate amplifies receptor- mediated accumulation of inositol triphosphates and inhibits inositol tris- and tetrakis-phosphatase activities. *Neurosc. Lett.*, 134 (2):157-60.
- ❖ Billet, S., Garc-on, G., Dagher, Z., Verdin, A., Ledoux, F., Cazier, F., Courcot, D., Aboukains, A., y Pirouz, S.P. (2007). Ambient Particulate Matter (PM<sub>2.5</sub>): Physicochemical characterization and metabolic activation of the organic fraction in human lung epithelial cells (A549). *Environmental Research*, 105:212-223.
- ❖ Bruck, R., Helpern, Z. Aeed, H. Shechter, Y. y Karlsh, S.J. (1998). Vanadyl ions stimulate K<sup>+</sup> uptake into isolated perfused rat liver via the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-pump by a tyrosine kinase-dependent mechanism. *Pflugers Arch.*, 435 (5):610-6.
- ❖ Cantley, L.C., Resh, M.D. y Guidotti, G. (1978). Vanadate is a potent (Na, K)-ATPase inhibitor found in muscle-derived ATP. *Nature*, 252 (21):7421-7423.
- ❖ Castellini, C., Mourvaki, E., Sartini, E., Cardinali, R., Moretti, E., Collodel, G., Fortaner, S., Sabbioni, E. y Renieri, T. (2009). *In vitro* toxic effects of metal compounds on kinetic traits and ultrastructure of rabbit spermatozoa. *Reproductive Toxicology*, 27:46-54.
- ❖ Contreras-Cadena, D.A., Gómez-Pech, C., Rangel-García, M., Ruíz-Hernández, A., Martínez-Bulit, P. y Barba-Behrens, N. (2014). La importancia del vanadio en los seres vivos. *Educación Química*, 25 (1):245-253.
- ❖ Constância, M., Hemberger, M., Hughes, J., Dean, J., Ferguson-Smith, A., Fundele, R., Stewart, F., Kelsey, G., Fowden, A., Sibley, C. y Reik, W. (2002). Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth. *Nature*, 417:495-498.
- ❖ Cordero, M.R., Montero, U.C. y Murillo, N. (1985). Conceptos generales sobre la albúmina humana y su utilización clínica. *Acta Médica Costarricense*, 28(1):32-38.
- ❖ Correia, J.J., Lipscomb, L.D., Dabrowiak, J.C., Isern, N. y Zubieta, J. (1994). Cleavage of tubilin by vanadate ion. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 309 (1):94-104.
- ❖ Correia, I., Chorna, I., Cavaco, I., Roy, S., Kuznetsov, M.L., Ribeiro, N., Justino, G., Marques, F., Santos-Silva, T., Santos, M.F.A., Santos, H.M., Capelo, J.L., Douth, J. y Costa-Pessoa, J. (2017). Interaction of [VIVO(acac)<sub>2</sub>] with Human Serum Transferrin and albumin. *Chem. Asian Journal*, 12:2062-2084.

- ❖ Crebelli, R. y Leopardi, P. (2012). Long-Term risk of metal contaminants in drinking water: a critical appraisal of guideline values for arsenic and vanadium. *Ann Ist. Super Sanità*, 48(4):354-361.
- ❖ Cortés-Delgado, N., Pérez-Torres, J. y Hoyos, J.M. (2009). Staining procedure of cartilage and skeleton in adult bats and rodents. *Int. J. Morphol.*, 27 (4):1163-1167.
- ❖ Cortijo, J., Villagrasa, V., Martí-Cabrera, M., Villar, V., Moreau, J., Advenier, C., Morcillo, E.J. y Small, R.C. (1997). The spasmogenic effects of vanadate in human isolated bronchus. *Br. J. Pharmacol.*, 121 (7):1339-1349.
- ❖ Dadoune, J.P. (2009). Spermatozoal RNAs: What About their functions?. *Microscopy Res. and Tech.*, 72:536-551.
- ❖ D'Cruz, O.J. y Uckun, F.M. (2000). Vanadocene-mediated *in vivo* male germ cell apoptosis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 166: 186-195.
- ❖ Deng, H., Callender, R., Huang, Z.H. y Zhang, Z.Y. (2002). Is the PTPase-vanadate complex a true transition state analogue?. *Biochem.*, 41:6865-5872.
- ❖ Díaz-Mejía, S.A. (2021). Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de ratón por exposición aérea a vanadio (Tesis de Licenciatura), Universidad Nacional Autónoma de México, México. P 18-41.
- ❖ Domingo, J.L., Paternain, J.L., Llobet, J.M. y Corbella, J. (1986). Effects of vanadium on reproduction, gestation, parturition and lactation in rats upon oral administration. *Life Science*, 39:819-824.
- ❖ Domingo, J.L. (1996). Vanadium: a review of the reproductive and developmental toxicity. *Reproductive Toxicology Review*, 10 (3):175-182.
- ❖ Echeverri-Londoño, C.A. y Maya-Vasco, G.J. (2008). Relación entre las partículas finas (PM2.5) y respirables (PM10) en la ciudad de Medellín. *Rev. Ing. Uni. Medellín*, 7(12):23-42.
- ❖ Edel, J. y Sabbioni, E. (1988). Retention of tetravalent and pentavalent vanadium instilled and ingested intratracheally in the rat. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 2(1):23-30.
- ❖ Elinder, C.G., Gerhardsson, L. y Oberdoerster, G. (1988). Biological monitoring of toxic metals-overview. En: W.T. Clarkson, I., Friberg, F., Nordberg y R. Sanger (Eds), *Biological monitoring of toxic metals* Plenum (1-71). Press: New York.
- ❖ Erdmann, E., Werdan, K., Krawietz, W., Schmitz, W. y Scholz, H. (1984). Vanadate and its significance in biochemistry and pharmacology. *Biochemical pharmacology*, 33(7):945-50.
- ❖ Fang, G.C., Chang, C.N., Chu, C.C., Wu, Y.S., Fu, P., Yang, I.L. y Chen, M.H. (2003). Characterization of particulate, metallic elements of TPS, PM2.5 and PM2.5-10 aerosols at a farm sampling site in Taiwan Taichung. *The Science of the Total Environm.*, 308:157-166.
- ❖ Fischer, S., Lüdecke, H.J., Wieczorek, D., Böhringer, S., Gillissen-Kaesbach, G. y Horsthemke, B. (2006). Histone acetylation dependent allelic expression imbalance of *BAPX1* in patients with the oculo-auriculo-vertebral spectrum. *Hum. Mol. Gen.*, 15(4):581-587.
- ❖ Fortoul, T I., Rodríguez-Lara, V., González-Villalva, A., Lemus-Rojas, M., Cano--Gutiérrez, G., Ustarroz-Cano, M., Collin-Barenque, L., Montaña, L.F., García-Pélez I., Bizarro- Navares, P., López-Valdez, N., Falcón-Rodríguez,

- C.I., Jiménez-Martínez, R.S., Ruiz-Guerrero, M.I., López-Zepeda, L.I., Morales- Rivero, A. y Muñis-Rivera-Cambas, A. (2011). Vanadium Inhalation in a mouse model for the undersanding of air-suspended particle system respercusions. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 116 (2):723-773
- ❖ Fortoul, T.I., Rodríguez-Lara, V., González-Villalva, A., Rojas-Lemus, M., Cano-Gutiérrez, G., Ustarroz-Cano, M., Colín-Barenque L., Bizarro-Nevarés, P., García-Pelaez, I., Montaña, L.F., Jiménez-Martínez, R.S., López-Valdez, N., Ruiz-Guerrero, M.L., Meléndez-García, N.A., García-Ibarra, F.A., Martínez-Baez, V., Zapata-Alfaro, D., Muñiz-Rivera-Cambas, A. y Cervantes-Yepez, S. (2014). Inhalation of vanadium pentoxide and its toxic effects in a mouse model. *Inorganica Chimica Acta*, 420:8-15.
  - ❖ Franca, L., Ogawa, T., Avarbock, R., Brinster, R. y Russell, L. (1998). Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biol. Reprod.*, 59:1371-1377.
  - ❖ French, J.R. y Jones, H.J.P. (1993). Role of vanadium in nutrition: metabolism, esenciality and dietary considerations. *Life Sciences*, 52 (4):339-346.
  - ❖ Gallegos De Lerma, G. (1984). Estudio Morfológico de las alteraciones producidas por el etilmetanosulfonato, en células espermatogénicas de ratón (Tesis de Maestría), Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey.
  - ❖ Galli, A., Velloso, R., Fiore, R., Della-Croce, C., Del-Carratore, R., Morichetti, E., Giromini, L., Rosellini, D. y Bronzetti, G. (1991). Genotoxicity of vanadium compounds in yeast and cultered mammalian cells. *Teratg. Carcinog. Mutagen.*, 11(4):175-83.
  - ❖ García-Velasco, J., González-Torres, G., Contreras-Rodríguez, S.H. y Cortés-Roman, I. (2019). Caracterización de tamaños de partículas suspendidas en un área conurbana de la ciudad de Guadalajara, Jalisco, México. *Revista de Ciencias de la Salud*, 6(18):18-27.
  - ❖ Gaviño, G., Juárez, J.C. y Figueroa, H.H. (1985). Técnicas Biológicas selectas de laboratorio y campo (76-77 pp). Ciudad de México: Ed. Limusa.
  - ❖ Glaser, J., Iranzo, J., Borensztein, M., Marinucci, M., Gualtieri, A., Jouhanneau, C., Teissandier, A., Gaston-Maussuet, C. y Bourc'his, D. (2022). The imprinted *Zdbf2* gene finely tunes control of feeding and growth in neonates. *eLife*, 11:641-656.
  - ❖ Goe, A. (2006). Biological activity of vanadium compounds. *Central European Journal of Biology*, 1(3):314-332.
  - ❖ Gómez-Chang, Larrea, F. y Martínez-Montes, F. (2012). Vías de señalización asociadas a la esteroidogénesis. *Rev. Espe. En Cien. Químico-Biol.*, 15(1): 24-36.
  - ❖ Gómez, M., Sánchez, D.J., Domingo, J.L. y Corbella, J. (1992). Embryotoxic and teratogenic effects of intraperitoneally administered metavanadate in mice. *J. Toxicology Environ Health*, 37 (1):47-56.
  - ❖ Guida, V., Calzari, L., Fadda, M.T., Picci-Sparascio, F., Digilio, M.C., Bernardini, L., Brancati, F., Mattina, T., Mellis, D., Forzano, F., Briuglia, S., Mazza, T., Bianca, S., Valente, E.M., Salehi, L.B., Prontera, P., Pagnoni, M., Tenconi, R., Dallapiccola, B., Iannetti, G., Corsaro, L., De-Luca, A. y Gentilini, D. (2021). Genome-Wide DNA methylation analysis of a cohort of 41 patients

- affected by oculo-auriculo-vertebral spectrum (OAVS). *Int. Journal of Mol. Scien.*, 22:1190
- ❖ Guzmán, L., López, R., Llerena, G., Pino, J. y Retuerto, F. (2005). Recuperación del epitelio germinal masculino de ratones tratados con dosis única de Busulfán. *Rev. Peru. Biol.*, 12 (1):141-144.
  - ❖ Hayashi, Y. y Kimura, T. (1986). The effects of vanadium compounds on the activation of adenylate cyclase from rat adrenal membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, 869 (1):29-36.
  - ❖ Hermo, L., Pelletier, R., Cyr, D. y Smith, C. (2010). Surfing the wave, cycle, life, history, and gene/proteins expressed by testicular germ cells. Part 1: background to spermatogenesis, spermatogonia and spermatocytes. *Microscopy Research and Technique*, 73 (4):243-278.
  - ❖ Herrera-Sánchez, K. (2018). Preeclampsia. *Rev. Méd. Sinergia*, 3(3):8-12.
  - ❖ Hernández-Fernández, R.A. (2012). Kinasas y fosfatasa: el yin y el yan de la vida. *Rev. Haban, Cienc. Méd.*, 11 (1):15-24.
  - ❖ Hotlz, K.M., Stec, B. y Kantrowitz, E.R. (1999). A modelo of the transition state in the alkaline phosphatase reaction. *J. Biol. Chem.*, 274 (13):8351-8354.
  - ❖ Hu, D., Li, D., Liu, X., Zhou, Z., Tang, J. y Shen, Y. (2021). Vanadium-based nanomaterials for cancer diagnosis and treatment. *Biomedical Materials*, 16 (1):014101.
  - ❖ IPCS. International Programme on Chemical Safety. (2001). Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds, World Health Organization, Ginebra, No. 29:8-14.
  - ❖ Islam, M.K., Tsuboya, C., Kusaka, H., Aizawa, S., Ueki, T., Michibata, H. y Kanamori, K. (2007). Reduction of vanadium (V) to vanadium (IV) by NADPH, and vanadium (IV) to vanadium (III) by cysteine methyl ester in the presence of biologically relevant ligands. *Biochim. Biophys. Acta*, 1770(8):1212-1218.
  - ❖ Kellner, S. y Kikyo, N. (2010). Transcriptional regulation of the *Oct4* gene, a master gene for pluripotency. *Histol. Histopathol.*, 25:405-412.
  - ❖ Khoshkerdar, A., Eryasar, E., Morgan, H. y Watkins, A.J. (2021). Impacts of paternal environment and lifestyle on maternal health during pregnancy. *Reproductive Toxicology*, 162(5):F101-F109.
  - ❖ Kiersztan, A. (1998). Insulin-like effect of vanadium compounds. *Post. Biochemii*, 44(1):275-282.
  - ❖ Korbecki, J., Baranoswka, I., Gutowska, I. y Chlubek, D. (2012). Vanadium compounds as pro-inflammatory agents: effects on cyclooxygenases. *Internat. J. Molec. Science*, 16 (6):12648-68.
  - ❖ Kwon, Y.W., Ahn, H.S., Park, J.Y., Yang, H.M., Cho, H.J. y Kim, H.S. (2018). Imprinted gene *Zinc finger protein 127* is a novel regulator of master pluripotency transcription factor, *Oct4*. *BMB Rep.*, 51(5):242-248.
  - ❖ Lapenna, D., Ciofani, G., Bruno, C., D Pierdomenico, S., Giuliani, L., Giamberardino, M.A. y Cuccurullo, F. (2002). Vanadyl as catalyst of human lipoprotein oxidation. *Biochem. Pharmacol.*, 63 (3):375-80.
  - ❖ Lobert. S., Isern, N., Hennington, B.S. y Correia, J.J. (1994). Interaction of tubulin and microtubule proteins with vanadate oligomers. *Biochemistry*, 33 (20):6244-52.



- ❖ Llobet, J.M., Colomina, M.T., Sirvent, J.J., Domingo, J.L. y Coberlla, J. (1993). Reproductive toxicity evaluation of vanadium in male mice. *Toxicology*, 80:199-206.
- ❖ Marchand, S., Marchiers, M., Messens, W. Coudijzer, K. y DeBlock, J. (2009). Thermal inactivation kinetic of alkaline phosphatase in equine milk. *Intern. Dairy Journ.*, 19:763-767.
- ❖ Matoba, S., Nakamuta, S., Miura, K., Hirose, M., Shiura, H., Kohda, T., Nakamuta, N. y Ogura, A. (2019). Paternal knockout of *Slc38a4/SNAT4* causes placental hipoplasia associated with intrauterine growth restriction in mice. *PNAS*, 116(42):21047-21053.
- ❖ Mendoza-Coussette, U., García-Piñeiro, J.C., Gastell, P.L. y Amador-Armendos, A. (2005). Xantina oxidorreductasa, propiedades, funciones y regulación de su expresión genética. *Rev. Cubana Invest. Bioméd.*, 24(2). Recuperado en 21 de agosto de 2022, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002005000200007&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002005000200007&lng=es&tlng=es).
- ❖ Meng, Q., Mongan, M., Carreira, V., Kurita, H., Liu, C.Y., Kao, W.W.Y. y Xia, Y. (2014). Eyelid closure in embryogenesis is required for ocular adnexa development. *OVS*, 55(11):7652-7661.
- ❖ Mercado-Mercado, G., Duarte-Muñoz, N.L., Álvarez-Parrilla, E., De la Rosa, L.A. y Wall-Medrano, A. (2012). Fosfatasa alcalina (E.C.3.1.3.1): bioquímica y aplicaciones en las ciencias biomédicas, ecológicas y alimentarias. *TecnoCiencia*, 6 (2):112-122.
- ❖ Miramand P. y Fowler S. (1998). Bioaccumulation and transfer of vanadium in marine organism. En: *Vanadium in the environmental*. Parte I y II. (J.O. Nriagu Ed.). Wiley, New York.
- ❖ Mohamad, M., Mohd-Manzor, N.F., Zulkifli, N.F., Zainal, N., Hayati, A.R. y Ahmad-Asnawi, A.W. (2020). A review of candidate genes and pathways in Preeclampsia-An integrated bioinformatical analysis. *Biology (Basel)*, 9(4):62-81.
- ❖ Molinuevo, M.S. (2005). Efectos antitumorales de compuestos de vanadio en células óseas en cultivo (Tesis doctoral), Universidad Nacional de la Plata, Argentina, p. 14-16.
- ❖ Morgan, A. y El-Tawil. O. (2003). Effects of ammonium metavanadate on fertility and reproductive performance of adult male and female rats. *Pharmacol. Res.*, 47(1):75-85.
- ❖ Morgan-Ortíz, F., Morgan-Ruíz, F.V., Quevedo-Castro, E., Gutiérrez-Jiménez, G. y Báez-Barraza, J. (2015). Anatomía y fisiología de la placenta y líquido amniótico. *Rev.Med. UAS.*, 5(4):156-164.
- ❖ Mukherjee, B., Patra, B., Mahapatra, S., Banerjee, P., Tiwari, A. y Chatterjee, M. (2004). Vanadium-an elemento of atypical biological significance. *Toxicology Letters*, 150:135-143.
- ❖ National Institute of Child Health and Human Development. (2022). ¿Cuáles son algunas complicaciones comunes del embarazo? Recuperado de <https://espanol.nichd.nih.gov/salud/temas/pregnancy/informacion/complicaciones>

- ❖ New Jersey Department of Health. *Hoja Informativa sobre sustancias peligrosas. Pentóxido de Vanadio*. New Jersey Department of Health. Recuperado de <https://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/1993sp.pdf>
- ❖ NOM-062-ZOO-1999, Diario Oficial de la Federación. (2001). Norma Oficial Mexicana, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- ❖ Olea-Serrano, N., Fernández-Cabrera, M.F., Martín-Olmedo, P. (2011). Disruptores endocrinos. El caso particular de los xenobióticos estrogénicos I. Estrógenos Naturales. *Rev. Salud Ambient.*, 1(1):6-11.
- ❖ O'Rhailly, R. y Müller, F. (1992). Human embryology and teratology (87-90 pp). USA: Wisley-Liss.
- ❖ Olvera-Pérez, K. (2017). Citología vaginal en ratas. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco. Recuperado el 12 de marzo de 2020 en [http://www.innn.salud.gob.mx/descargas/investigacion/bioterio/t\\_citologia.pdf](http://www.innn.salud.gob.mx/descargas/investigacion/bioterio/t_citologia.pdf)
- ❖ Piovesana-Florencia, M., Romina-Gerbas, J. y Vigliano, F.A. (2014). Diafanización: una técnica que permite la visualización diferencial de cartílago y hueso para el estudio del desarrollo y malformaciones en peces. *Revista de la Sociedad Argentina de Histotecnología*, 25 (1):10-14.
- ❖ Placeres, M.R., Olite, F.D. y Álvarez-Toste, M. (2006). La contaminación del aire: su repercusión como problema de salud. *Rev. Cubana Hig. Epidemiol.*, 44 (2). Recuperado de <http://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/691/671>
- ❖ Poot-Poot, W.A. (2010). Silenciamiento del gen que codifica para la fosfolipasa C (PLC) en *Coffea arabica* L. mediante ARN de interferencia (Tesis doctoral), Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., Yucatán.
- ❖ Radike, M., Warshawsky, D., Caruso, J., Goth-Goldstein, R., Rielman, R., Collins, T., Yaeger, M., Wang, J., Vela, N., Olsen, L. y Schneider, J. (2002). Distribution and accumulation of mixture of arsenic, cadmium, chromium, nickel and vanadium in mouse small intestine, kidney, pancreas and femur following oral administration in water of feed. *J. Toxicol. Environ. Health Am.*, 13:2029-2059.
- ❖ Ramasarma-T, R. (2006). Decavanadate interacts with microsomal NADH oxidation system and enhances cytochrome c reduction. *Mol. Cell Biochem.*, 281:139-144.
- ❖ Ramírez-Hernández, J., Bonete, M.J. y Martínez-Espinosa, R.M. (2015). Propuesta de una nueva clasificación de los oligoelementos para su aplicación en nutrición, oligoterapia y otras estrategias terapéuticas. *Nutr.Hosp.*, 31 (3):1020-1033.
- ❖ Rehder, D. (1999). The coordination Chemistry of vanadium as related to its biological functions. *Coordination Chemistry Reviews*, 182:297-322.
- ❖ Rehder, D. (2003). Biological and medicinal aspects of vanadium. *Inorganic Chemistry Communications*, 6(5):604-617.
- ❖ Rehder, D. (2017). The role of vanadium in biology. *Metallomics*, 7:730-742.

- ❖ Rivera-Cardona, G. (2015). Técnica de diafanización con alizarina para el estudio del desarrollo óseo. *Rev. Colom. De Salud Libre*, 10 (2):109-115.
- ❖ Rodríguez-Cortés, Y.M. y Mendieta-Zerón, H. (2014). Placenta like endocrine share organ and it action in normoevolutive pregnancy. *Rev. Medicina e Invest.*, 2(1):28-34.
- ❖ Rodríguez-Díaz, R., Blanes-Zamora, R., Gómez-Rodríguez, J., Alcaide-Ruggiero, L., Hardisson, A., González-Weller, D., Gutiérrez, A.J., Paz, S., Rubio, C. y González-Dávila, E. Influence of vanadium and lead in seminal fluid on assisted reproductive techniques. (2022). *Hum.Rep.*, 37:107-119.
- ❖ Rodríguez-Mercado, J.J. y Altamirano-Lozano, M.A. (2006). Vanadio: Contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 22(4):173-189.
- ❖ Roldán-Reyes, E. (1992). Efectos mutagénico y teratogénico del pentóxido de vanadio (Tesis de Maestría), Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- ❖ Roldán-Reyes, E., Aguilar-García, E.M. y Díaz-Mejía, S.A. (2022). Efectos de la inhalación de vanadio sobre las espermatogonias y calidad seminal en el modelo de ratón *in vivo*. *Rev. Toxicol.*, 39:19-25.
- ❖ Ross, M. y Pawlina, W. (2007). *Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular*. Quinta edición (p.975). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- ❖ Russell, L.D., Ettlín, R.A., SinhaHikim, A.P. y Clegg, E.D. (1990). *Histological and histopatological evaluation of the testis*. (p. 286). St. Louis, MO: Cache River Press.
- ❖ Sánchez, D.J., Ortega, A., Domingo, J.L. y Corbella, J. (1991). Developmental toxicity evaluation of orthovanadate in the mouse. *Biol. Trace Elem. Res.*, 30:219-216
- ❖ Sandoval, D., Téllez, J., García, A., Rivera, G., Moreno, S. y Moreno, F. (2016). Diaphanization technique for the description of the embryonic development of the skeletal system. Systematic literatura review. *Universitas Méd.*, 57 (4):488-501.
- ❖ Sanna, D., Serra, M., Micera, G. y Garribba, E. (2014). Interaction of antidiabetic vanadium compounds with hemoglobin and red blood cells and their distribution between plasma and erythrocytes. *Inorg. Chem.*, 53 (3):1449-1464.
- ❖ Sandovici, I., Georgopoulou, A., Pérez-García, V., Branco, C.M., Sferruzzi-Perri, A.N. y Constância, M. (2022). The imprinted *Igf2-Igf2r* axis is critical for matching placental microvasculature expansion to fetal growth. *Cell Press*, 57:63-79.
- ❖ Say, L., Chou, D., Gemmill, A., Tuncalp, Ö., Moller, A.B., Daniels, J., Gülmezglu, A.M., Temmerman, M. y Alkema, L. (2014). Causes of maternal death: a WHO systematic analysis. 2:323-33.
- ❖ Sermini, C.G., Acevedo, M.J. y Arredondo, M. (2017). Biomarkers of metabolism and iron nutrition. *Rev. Perú Méd. Exp. Salud Pública*, 34(4):690-698.
- ❖ Sharma, A., Mir, R. y Galande, S. (2021). Epigenetic regulation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in cancer. *Front. Genet.*, 12:681053.



- ❖ Sharma, R.P., Flora, S.J., Ahogar, D.B. y Oberg, S.G. (1987). Persistence of vanadium compounds in the lungs after intratracheal instillation in rats. *Toxicology and Ind. Health*, 3(3):321-329.
- ❖ Teixeira da Rocha, S., Edwards, C.A., Ito, M., Ogata, T. y Ferguson-Smith, A.C. (2008). Genomic imprinting at the mammalian *Dlk1-Dio3* domain. *Trend in Genetics*, 24(6):306-315.
- ❖ Theiler, K. (1989). *The House Mouse: Atlas of Embryonic Development*. Sec. Ed. New York: Springer-Verlag.
- ❖ Theka, I., Sottile, F., Cammisa, M., Bonnin, S., Sánchez-Delgado, M., Di Vicino, U., Neguembor, M.V., Arumugam, K., Aulicino, F., Monk, D., Riccio, A. y PiaCosma, M. (2019). Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway safeguards epigenetic stability and homeostasis of mouse embryonic stem cells. *Scientific Rep.*, 9:948.
- ❖ Thompson, H.K. y Orvig, C. (2001). Coordination Chemistry of vanadium in metallopharmaceutical candidate compounds. *Coordination Chemistry Reviews*, 219-221:1033-1053.
- ❖ Treviño, S., Díaz, A., Sánchez-Lara, E., Sánchez-Gaytan, B.L., Pérez-Aguilar, J.M. y González-Vergara, E. (2019). Vanadio en acción biológica: aspectos químicos, farmacológicos e implicaciones metabólicas en la diabetes mellitus. *Biol. Trace Elem. Res.*, 188 (1):68-98.
- ❖ Triboli, C. y Lufkin, T. (2006). Bapx1 homeobox gene gain-of-function mice show preaxial polydactyly and activated Shh signaling in the developing limb. *Dev. Dyn.*, 325(9):2483-92.
- ❖ The Human Protein Atlas. (2022). Tissue expresión of Slc38a4. Recuperado de <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000139209-SLC38A4/tissue>
- ❖ Urban, J., Antonowicz-Juchniewicz, J. y Andrzejak, R. (2001). Vanadium-Threat and hope. *Medycyna Pracy*, 52(2):125-133.
- ❖ Vescina, C.M., Sálice, V.C., Cortizo, A.M. y Etcheberry, S.B. (1996). Effect of vanadium compounds on acid phosphatase activity. *Biol. Trace Elem. Res.*, 53 (1-3):185-191.
- ❖ Wang, Y., Chen, H., Li, X., Chen, Y., Liu, C., Feng, W., Zeng, Q., Wang, P., Pan, A. y Lu, W. (2018). Concentrations of vanadium in urine and seminal plasma in relation to semen quality parameters, spermatozoa DNA damage and serum hormone levels. *Science of Total Environment*, 645:441-448.
- ❖ Weckhuysen, B.M. y Keller, D.E. (2003). Chemistry, spectroscopy and the role of the supported vanadium oxides in heterogeneous catalysis. *Catalysis Today*, 78:25-46.
- ❖ World Health Organization. (2000). Vanadium. En World Health Organization (2° Ed). *Air Quality Guidelines* (170-172). Copenhagen: Regional Office for Europe.
- ❖ World Health Organization. (2016). *Contaminación atmosférica*. World Health Organization. [https://www.who.int/es/health-topics/air-pollution#tab=tab\\_2](https://www.who.int/es/health-topics/air-pollution#tab=tab_2)
- ❖ Xia, W., Mruk, D.D., Lee, W.M. y Yang-Cheng, C. (2005). Cytokines and junctions restructuring during spermatogenesis-a lesson to learn from the testis. *Cytokine & Growth Factor Review*, 16:469-493.

- ❖ Xie, Z., Zhang, W. y Zhang, Y. (2022). Loss of *Slc38a4* imprinting is a major cause of mouse placenta hyperplasia in somatic cell nuclear transferred embryos at late gestation. *Cell Press*, 38(8):110407.
- ❖ Yang, X., Wang, K., Lu, J. y Crans, D.C. (2003). Membrane transport of vanadium compounds and the interaction with the erythrocyte membrane. *Coordination Chem. Reviews*, 237:103-111.
- ❖ Yang, X. G., Yang, X.D., Yuan, L., Wang, K., y Crans, D.C. (2004). The permeability and cytotoxicity of insulin-mimetic vanadium compounds. *Pharmaceut. Res.*, 21:1026-1033
- ❖ Yassi, A., Kjellstrom, T., de Kok, T. y Tee L., G. (2002). Salud Ambiental Básica (versión al español realizada en el INHEM). México, Ciudad de México: PNUMA. 239 pp.
- ❖ Yoon, B., Herman, H., Hu, B., Park, Y.J., Lindroth, A., Bell, A., West, A.G., Chang, Y., Stablewski, A., Piel, J.C., Loukinov, D., Lobanenkov, V.V. y Soloway, P. (2005). *Rasgrf1* imprinting is regulated by a CTCF-Dependent methylation-sensitive enhancer blocker. *Mol. Cell Biol.*, 25(24):11184-11190
- ❖ Yu, L., Chen, M., Zhao, D., Yi, P., Lu, L., Han, J., Zheng, X., Zhou, Y. y Li, L. (2009). The *H19* gene imprinting in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta*, 30:443-447.
- ❖ Zhang, Z., Huang, C., Li, J., Leonard, S.S., Lanciotti, R., Butterworth, L. y Shi, X. (2001). Vanadate-induced cells growth regulation and the role of reactive oxygen species. *Arch Biochem. Biophys.*, 392 (2):311-3210.
- ❖ Zhang, Z., Leonard, S.S., Huang, C., Vallythan, V., Castranova, V. y Shi, X. (2003). Role of reactive oxygen species and MAPKs in vanadate-induces G2/M phase arrest. *Free Radic Biol Med.*, 34:1333-1342.
- ❖ Zhang, Z., Gao, N., He, H., Huang, C., Luo, J. y Shi, X. (2004). Vanadate activated Akt and promoted S phase entry. *Mol Cell Biochem.*, 255:227-237.

## Anexos.

- 16° Congreso de Investigación de la FES Zaragoza. “Efecto teratogénico de compuestos de vanadio en fetos descendientes de ratones macho CD-1 tratados vía aérea” (2020).
- XXVI Foro de Investigación Escolar en Biología. Participación en modalidad oral. “Efecto teratogénico de compuestos de vanadio en fetos descendientes de ratones macho CD-1 expuestos vía aérea” (2020).
- XVIII Congreso Latinoamericano de Genética. “Efecto teratogénico de óxidos de vanadio en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a tratamiento subcrónico vía aérea” (2021). DOI: 10.35407/bag.2021.32.01.suppl.18
- XXI Reunión Internacional de Ciencias Médicas. “Anomalías en el desarrollo ocasionadas por óxidos de vanadio en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a tratamiento subcrónico vía aérea” (2022).



UNIVERSIDAD DE  
GUANAJUATO

Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud  
Universidad de Guanajuato, Campus León

# XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas

24-26 Agosto 2022

OTORGA LA PRESENTE  
CONSTANCIA

A:

**CARLOS ALDAIR HERNÁNDEZ GALLARDO**

POR SU PARTICIPACIÓN CON EL TRABAJO LIBRE:  
**ANOMALÍAS EN EL DESARROLLO OCASIONADAS POR ÓXIDOS DE  
VANADIO EN CRÍAS DESCENDIENTES DE RATONES MACHO CD-1  
EXPUESTOS A TRATAMIENTO SUBCRÓNICO VÍA AÉREA**

EN COAUTORÍA CON:  
**AMÉRICA GUTIÉRREZ ARENAS . ELIA ROLDÁN REYES . AMÉRICA ARENAS**

24, 25 y 26 de Agosto del 2022 en León, Gto.

"LA VERDAD OS HARÁ LIBRES"



**Dr. Tonatiuh García Campos**  
Director de División de  
Ciencias de la Salud

**Dra. Claudia Luévano Contreras**  
Directora del Departamento de  
Ciencias Médicas

**Dra. Lorena del Rocio Ibarra Reynoso**  
Coordinadora de la Maestría  
en Ciencias Médicas

**Dra. María Luisa Lazo de la Vega Monroy**  
Coordinadora del Doctorado  
en Ciencias Médicas

65

**MCTA 11**

**EFFECTO TERATOGÉNICO DE ÓXIDOS DE VANADIO EN CRÍAS DESCENDIENTES DE RATONES MACHO CD-1 EXPUESTOS A TRATAMIENTO SUBCRÓNICO VÍA AÉREA**

Roldán Reyes E<sup>1</sup>, A. Gutiérrez Arenas<sup>1</sup>, C.A. Hernández Gallardo<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, México. eliar@unam.mx

**MCTA 12**

**FAMILY HISTORICAL RELATIONSHIP OF GASTRIC CANCER AND ENDOSCOPIC RESULTS IN PATIENTS FROM A CITY IN NORTHEAST BRAZIL**

Sá Junior J.X.<sup>1</sup>, M.C. Pereira Rodrigues<sup>1</sup>, A.M. Silva Rocha<sup>1</sup>, G.R. Costa Maciel<sup>1</sup>, F. Ferreira Monari<sup>2</sup>, M. Dantas Torres<sup>2</sup>, M.A.A. Oliveira Serra<sup>2</sup>, C.A.A.S.D. Santos<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Enfermagem, Graduação, Universidade Federal do Maranhão/CCSST, Brasil;

A large blue rectangular graphic with white text. At the top right, the letters 'MCTA' are written in a large, bold, sans-serif font. Below this, the title 'MUTAGÉNESIS, CARCINOGENESIS Y TERATOGÉNESIS AMBIENTAL' is written in a smaller, bold, sans-serif font. Underneath the title, the English translation 'MUTAGENESIS, CARCINOGENESIS AND ENVIRONMENTAL TERATOGENESIS' is written in the same font style. At the bottom left of the graphic, the DOI '10.35-407/bag.2021.32.01.suppl18' is printed in a small font.





UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO



# Reconocimiento

Que otorga la  
**FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES ZARAGOZA**  
a través de la División de  
Estudios de Posgrado e  
Investigación

A *Elia Roldán Reyes, América Gutiérrez Arenas, Carlos  
Aldair Hernández Gallardo*

Como ponentes del trabajo **Efecto teratogénico de  
compuestos de vanadio en fetos descendientes de  
ratones macho CD-1 tratados vía aérea (BIO-07)**, en el  
marco del **16° Congreso de Investigación de la FES  
Zaragoza**, los días **23 al 27 de noviembre del 2020**, en la  
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad de México, a 22 de enero de 2021

**Dr. David Nahum Espinosa Organista**

Jefe de la División



**Constancia provisional**







**UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**



# Constancia

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

A Carlos Aldair Hernández Gallardo, América Gutiérrez Arenas y Elia Roldán Reyes

Por su participación en la modalidad **Exposición oral**, con el Tema:  
*“Efecto teratogénico de compuestos de vanadio en fetos descendientes de ratones macho CD-1 tratados vía aérea”*, en el marco del **XXVI Foro de Investigación Escolar en Biología**; organizado por la Carrera de Biología, el día 24 de septiembre del año en curso.

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Ciudad de México, 10 de noviembre del 2020.

3548061617150055031660109

**Dr. Vicente Jesús Hernández Abad**

Director

