



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

“Evaluación de los efectos teratogénicos
inducidos por exposición subcrónica vía aérea
a óxido de vanadio IV en descendientes de
ratones de la cepa CD-1”

Carrera de Biología

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGO

PRESENTA:
HERNÁNDEZ GALLARDO CARLOS ALDAIR

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. ELIA ROLDÁN REYES



Ciudad de México, 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*.

A G R A D E C I M I E N T O S

A

UNAM-PAPIIT Clave IN221919-3

Financiamiento del proyecto

Y

PAPIIT/DGAPA

Beca Titulación para Hernández Gallardo Carlos Aldair

No. de Folio: 249721



Agradecimientos

Quiero agradecer en primera instancia a la **Dra. Elia Roldán Reyes**, por darme la oportunidad de formar parte del laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, por todo el conocimiento que me ha otorgado y por la dedicación en el asesoramiento de nuestros proyectos.

Agradezco a la **MVZ. Adriana Altamirano Bautista** y al **MVZ. Román Hernández Meza**, por todo el apoyo que me brindaron en el bioterio y por la gran labor que hacen en la gestión del bioterio.

Agradezco al **Dr. Carlos Castillejos Cruz**, por ser uno de los mejores profesores que tuve el placer de conocer y además una gran persona, agradezco infinitamente aquellas palabras de aliento que me dio en tercer semestre, jamás las olvidaré ya que han sido de gran ayuda para mí a lo largo de toda esta etapa.

Agradezco a todos mis compañeros del laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, por todos los buenos momentos, por sus aportaciones, el conocimiento y el apoyo brindado para lograr este proyecto.

Agradeceré siempre a mis amigos, a todos aquellos que estuvieron a mi lado durante la carrera, por compartir tantos momentos especiales y por todas las aventuras que vivimos, por todos sus consejos, por todas las pláticas y por acompañarme durante esta etapa, les deseo mucho éxito.



Agradecimientos

Quiero agradecer con todo mi corazón a mis hermanas **Vero** y **Ani**, por hacerme más bonita la vida, por tantas risas y todo el cariño, hemos pasado tantos momentos, buenos y malos, pero siempre han sido mi constante, mi apoyo, una de mis más grandes motivaciones y porque sin importar lo que pasara siempre estuvieron conmigo, las quiero mucho y a pesar del tiempo o las circunstancias siempre serán mis hermanitas.

Finalmente, quiero agradecer con todo mi ser a **Óscar** y **Luisa**, mis padres, quienes me han dado todo y por quienes he podido llegar hasta aquí, porque ustedes han sacrificado gran parte de su vida por mis hermanas y por mí, por todo el amor y todo el esfuerzo que han hecho para sacarnos adelante, ustedes son mi mayor motivación para lograr mis metas y superarme, jamás me alcanzarán las palabras para agradecerles todo lo que han hecho, espero algún día poderles dar una alegría por cada día de su vida que han estado para mí y devolverles aunque sea un poco de todo lo que han dado por nosotros, son los mejores padres, los admiro y los amo muchísimo.



Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi padre **Óscar**, a mi madre **Luisa** y a hermanas, **Ani** y **Vero**, porque sin ustedes no sería quien soy, gracias por su apoyo, sus consejos y su amor, sin ustedes nada de esto sería posible.



Resumen

La contaminación ambiental, ha sufrido un notable aumento en las últimas décadas, entre diversos factores el incremento de esta ha propiciado que todos podamos estar expuestos a varios contaminantes como lo son los metales, dentro de los cuales se encuentra el vanadio (**V**). La liberación de **V** en la atmósfera es principalmente ocasionada por la actividad humana, por lo que es considerado un contaminante, además el vanadio se encuentra presente en el material particulado PM_{10} y $PM_{2.5}$.

En este estudio se evaluaron los efectos embriológico, fetotóxico y teratogénico de tetraóxido de vanadio (V_2O_4) en la descendencia de ratones macho CD-1 expuestos de forma subcrónica vía aérea, para esto se utilizaron cinco grupos: un control negativo el cual no recibió ningún tratamiento, un control positivo tratado con Mitomicina C (0.08 mg/g), y tres grupos que se trataron con V_2O_4 en concentraciones de 1.5 mg/g, 3 mg/g y 4.5 mg/g, se analizó la presencia de anomalías morfológicas y cuantificando en fetos diafanizados las alteraciones en centros de osificación y cartílago.

Respecto al análisis morfológico los tres grupos presentaron un aumento en el porcentaje de fetos con hematomas y malformaciones en párpados, además el grupo 1.5 mg/g presentó un aumento en fetos con cuello corto y por otra parte el grupo 3 mg/g presentó un aumento en orejas mal desarrolladas. Respecto al análisis esquelético el grupo 1.5 mg/g presentó un aumento en el porcentaje de fetos con anomalías en los huesos craneales a excepción del hueso temporal, por su parte el grupo 3 y 4.5 mg/g únicamente presentaron alteraciones en el hueso occipital. Los tres grupos tratados con V_2O_4 presentaron alteraciones en la osificación de las esternebras, apófisis xifoides, vértebras lumbares, metacarpos y metatarsos, por otra parte, el grupo 4.5 mg/g presentó anomalías en las vértebras cervicales y el grupo 1.5 mg/g presentó anomalías en cúbito, radio, huesos de la cadera, tibia y peroné. Los tres grupos tratados presentaron también un aumento el porcentaje de fetos con costillas supernumerarias.

Los resultados de este estudio indican que el tetraóxido de vanadio (V_2O_4) administrado de forma subcrónica por vía aérea a ratones macho CD-1 fue capaz de inducir en su descendencia, efectos tóxicos sobre el desarrollo embrio-fetal, aumento de anomalías morfológicas y anomalías en la osificación, evidenciando los efectos de este compuesto sobre el desarrollo embrionario y fetal.

Palabras clave:

Desarrollo Embrio-fetal, Diafanización, Exposición Subcrónica, Ratón, Vanadio.

Abstrac

Environmental pollution has suffered a notable increase in recent decades, among various factors, its increase has caused to everyone being exposed to various pollutants such as metals, in which is included vanadium (**V**). The release of **V** into the atmosphere is mainly caused by human activity, this is why it is considered a pollutant, and vanadium is also present in particulate matter PM₁₀ and PM_{2.5}

In this study, the embryotoxic, fetotoxic and teratogenic effects of vanadium tetroxide (**V₂O₄**) were evaluated in the offspring of male CD-1 mice exposed subchronically by airway, for this, five groups were used: a negative control which did not receive any treatment, a positive control treated with Mitomycin C 0.08 mg/g, and three groups that were treated with V₂O₄ in concentrations of 1.5 mg/g, 3 mg/g and 4.5 mg/g, analyzing the presence of morphological abnormalities and quantifying alterations in ossification centers and cartilage in diaphanized fetuses.

Regarding the morphological analysis, the three groups presented an increase in the percentage of fetuses with bruises and malformations in the eyelids, in addition, the 1.5 mg/g group presented an increase in fetuses with short necks and, on the other hand, the 3 mg/g group presented an increase in underdeveloped ears. Regarding the skeletal analysis, the 1.5 mg/g group presented an increase in the percentage of fetuses with anomalies in the cranial bones, except for the temporal bone, while the 3 and 4.5 mg/g groups only presented alterations in the occipital bone. The three groups treated with V₂O₄ presented alterations in the ossification of the sternbrae, A. xiphoid, lumbar vertebrae, metacarpals and metatarsals, while the 4.5 mg/g group presented abnormalities in the cervical vertebrae and the 1.5 mg/g group presented abnormalities in the ulna, radius, hip bones, tibia and fibula. The three treated groups also showed an increase in the percentage of fetuses with supernumerary ribs.

The results of this study indicate that vanadium tetroxide (**V₂O₄**) administered subchronically by airway to male CD-1 mice was able to induce in its offspring, toxic effects on embryo-fetal development, increased morphological abnormalities and ossification abnormalities, evidencing the effects of this compound on embryonic and fetal development.

Keywords:

Diaphanization, Embryo-Fetal Development, Mouse, Subchronic Exposure, Vanadium.

Índice

Introducción.....	1
Vanadio.....	1
Tetraóxido de Vanadio.....	2
Vanadio en el ambiente.....	2
Exposición a vanadio.....	3
Biocinética del vanadio.....	4
Efectos de vanadio en el organismo.....	6
Efectos del vanadio a nivel celular.....	6
Efectos reprotóxicos.....	7
Modelo biológico.....	10
Impronta Genómica.....	11
IGF-II.....	13
Justificación.....	15
Hipótesis.....	15
Objetivos.....	15
Método.....	16
Resultados.....	20
Discusión.....	38
Conclusiones.....	48
Referencias Bibliográficas.....	49
Perspectivas.....	59
Anexo I.....	60
Anexo II.....	62

Introducción

La contaminación ambiental, ha aumentado en las últimas décadas, entre diversos factores el incremento de la contaminación industrial ha propiciado que todos podamos estar expuestos a varios contaminantes como pesticidas, hidrocarburos y metales (Al-Saleh *et al.*, 2011).

La población en general se encuentra expuesta una gran cantidad de metales: respirando aire contaminado, en el agua o en los alimentos (Callan *et al.*, 2013). Una gran variedad de estos compuestos ingresa al organismo, son distribuidos y se almacenan en diferentes órganos blanco. Incluso algunos de estos metales son capaces de cruzar las barreras biológicas (Salazar-Montes *et al.*, 2011).

La contaminación por metales es un problema importante en todo el mundo, con varios casos documentados de toxicidad por metales en áreas mineras, industrias, centrales eléctricas de carbón y el sector agrícola. Los suelos contaminados con metales pesados son un problema grave para las plantas, los recursos hídricos, el medio ambiente y la nutrición. Entre todos los metales no esenciales, el vanadio (V) se está convirtiendo en un tema serio de discusión para los científicos (Imtiaz *et al.*, 2015).

Vanadio

El vanadio es un metal de color grisáceo, en la tabla periódica se ubica como el primer elemento de transición del grupo VB, su densidad es de 6.11 g/cm³, número atómico 23, peso atómico 50.95, punto de fusión 1950 °C y punto de ebullición 3600 °C (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

En la corteza terrestre, el vanadio ocupa el lugar 22 entre los elementos más abundantes con una presencia de 0.014 a 0.02 %. Participa en la síntesis de clorofila en organismos fotosintéticos y es un micronutriente para varias especies marinas y terrestres. Su requerimiento para los humanos no ha sido confirmado, pero debido a sus múltiples mecanismos de acción se ha estimado que, en el caso de ser necesario, la ingesta aproximada sería de 15 µg por día (Lagerkvist *et al.*, 1986; EFSA, 2004; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Existe en diferentes estados de oxidación que van de -1 a +5, y generalmente pasa de un estado a otro por la transferencia de un electrón por procesos de óxido-reducción. Sin embargo, sólo los tres estados más altos, V^{III} , V^{IV} y V^V , respectivamente, tienen funciones biológicas reconocidas (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

El vanadio es usado en la industria metalúrgica, en manufactura de aleaciones de alta resistencia y baja corrosión, también se utiliza en la preparación de vidrio, de pinturas de aplicación común, en colorantes para fotografía y cinematografía. En la industria agrícola se emplea en la elaboración de fungicidas e insecticidas y como micronutriente en fertilizantes, además en la producción de ácido sulfúrico y caucho sintético. Se utiliza en materiales de superconductividad, además es importante en la industria de la energía atómica, en la construcción de maquinaria aérea y tecnología espacial (Stokinger, 1981; Baroch, 1983; Lagerkvist *et al.*, 1986; Carson *et al.*, 1987; Alessio *et al.*, 1988; IPCS, 2001). En años recientes ha habido un notable interés en torno a la posible actividad farmacológica de complejos de vanadio. Inicialmente toda la actividad se centró en torno a la utilización de algunos compuestos inorgánicos sencillos, pasándose gradualmente a la investigación de complejos de vanadio con ligandos orgánicos (Baran, 2017).

Tetraóxido de Vanadio

El vanadio en su estado de oxidación IV es el más común en el ambiente intracelular. El tetraóxido de vanadio, de fórmula V_2O_4 , constituye un polvo de color azul-negro, el cual se funde a $1976\text{ }^\circ\text{C}$ (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Se usa para catalizar varias reacciones a temperaturas elevadas y es muy irritante. Por su dureza y resistencia a la tensión, se usa en la fabricación de muelles, engranajes de transmisión y otras partes de los motores; también se emplea como agente reductor y como desecante en algunas pinturas (Aragón *et al.*, 2005).

Vanadio en el ambiente

En la naturaleza, el vanadio no se encuentra en forma pura, por sus propiedades intrínsecas es propenso a reaccionar con otros elementos. Sin embargo, su liberación en la atmósfera es principalmente ocasionada por la actividad humana, por lo que es considerado un contaminante ambiental (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

La liberación de vanadio al ambiente ocurre de manera natural mediante emisiones volcánicas, polvos continentales e incendios forestales. Por otra parte, la actividad industrial como la siderúrgica y refinerías de petróleo, la quema de combustibles fósiles y el carbono, han incrementado su nivel en la atmosfera (Imtiaz *et al.*, 2015). Se ha estimado que los procesos naturales, como las erupciones volcánicas y la erosión de suelos, dan como resultado la liberación de 65 000 toneladas de vanadio al medio ambiente, mientras que las fuentes antropogénicas agregan 200 000 toneladas adicionales por año (Roberts *et al.*, 2016). Los principales productores de vanadio son China, Rusia y Sud. África, la producción de estos países da cuenta de aproximadamente el 93% de la producción mundial (Baran, 2017).

Los niveles en el ambiente dependen de las condiciones climáticas, la posición geográfica y las condiciones de urbanización, entre otros factores. Para la Ciudad de México se han reportado valores que alcanzan $0.114 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en aeropartículas de $10 \mu\text{m}$ y $0.093 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en las de $2.5 \mu\text{m}$ (Gutiérrez-Castillo *et al.*, 2006).

Exposición a vanadio

La mayoría de las personas se encuentran expuestas a mínimas dosis de vanadio provenientes de los alimentos, del agua potable y el aire. En los alimentos se encuentra en los estados de oxidación III y IV. Las concentraciones en peso fresco de grasas, aceites, frutas y vegetales van de 1 a $10 \mu\text{g}/\text{kg}$; en granos, alimentos de mar y carnes de 5 a $40 \mu\text{g}/\text{kg}$; en eneldo o pimienta negra las cantidades detectadas se encuentran en 431 y $987 \mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente y en tabaco para fumar de 1 a $8 \mu\text{g}/\text{g}$. Se ha estimado, que la ingesta de vanadio en la dieta en promedio es de 13 a $15 \mu\text{g}/\text{día}$ y algunos autores mencionan que alcanza valores de $60 \mu\text{g}/\text{día}$ (EFSA, 2004). En el agua para beber se describen valores por debajo de $10 \mu\text{g}/\text{L}$, con un promedio de $4.3 \mu\text{g}/\text{L}$. Cantidades altas, que van de 49.2 a $70 \mu\text{g}/\text{L}$, se han encontrado en ríos cercanos a minas y mantos acuíferos ubicados cerca de zonas industriales (IPCS, 1988). En grandes urbes se han detectado concentraciones en el aire que van de 0.15 a $1.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y en áreas rurales cantidades menores a $0.024 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (IPCS, 1988). De manera cotidiana la población humana puede estar expuesta a este metal al respirar el aire urbano, ya que el vanadio se encuentra presente en el material particulado PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$ (Espinoza-Zurutuza *et al.*, 2017)

Biocinética del vanadio

La entrada de vanadio al organismo de los mamíferos ocurre a través de la piel, por el tracto gastrointestinal y por el sistema respiratorio. La absorción por la piel es mínima, varios reportes coinciden en que el 10 % del vanadio es ingerido y el **25 % inhalado**, este es absorbido y transportado a varios tejidos del cuerpo por el torrente sanguíneo (Figura 1) (Elinder *et al.*, 1988; Mukherjee *et al.*, 2004).

Una vez que ha sido absorbido, puede encontrarse en estados de oxidación III, IV y V. El V^{5+} es reducido a V^{4+} por el glutatión de los eritrocitos o por el ácido ascórbico, las catecolaminas y otras sustancias reductoras del plasma (Rehder, 2003). El vanadio es transportado por la albúmina y preferentemente por la transferrina. Las condiciones de pH neutro propician el dominio de V^{5+} en plasma. Se sabe que el V^{5+} entra a la célula por mecanismos de transporte aniónico, principalmente por los canales de fosfato. En el interior de la célula el V^{5+} puede ser nuevamente reducido a V^{4+} por el glutatión y otros sustratos donde permanece unido (Yang *et al.*, 2004).

Algunos estudios de farmacocinética en eritrocitos demuestran que la entrada de vanadio al interior de la célula se da en dos etapas, cada una regida por un mecanismo en particular. En la etapa inicial, V^V cruza la membrana celular a través del sistema de intercambio aniónico, en tanto que en la segunda etapa el cruce es mucho más lento e involucra el producto reducido, V^{IV} y un mecanismo de paso semejante al de los cationes divalentes (Heinz *et al.*, 1982).

El vanadio se acumula exclusivamente como V^{IV} . Los órganos que lo acumulan son hígado, riñón, hueso y bazo, mientras que en pulmones y testículos se concentra en menor cantidad; también se ha detectado en corazón, tiroides, cerebro, músculo esquelético, médula ósea y tejido graso (Sharma *et al.*, 1987; Alessio *et al.*, 1988; Elinder *et al.*, 1988; French y Jones, 1993).

Intracelularmente, el vanadio tiene afinidad por el material genético (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Diversas pruebas bioquímicas demuestran que el vanadio en estados de oxidación IV y V, interactúa en concentraciones de micromoles (μM) con muchas moléculas orgánicas, incluyendo proteínas, péptidos, aminoácidos, nucleótidos y azúcares (Crans *et al.*, 1989; Baran, 2000). En la célula, el vanadio tiene preferencia por

los grupos fosfato, carboxilo y amino de las biomoléculas; se calcula que el 61 % del total de V^{IV} se une a los fosfatos, el 29 % a las proteínas, el 1 % queda libre y el resto a radicales sulfhidrilo y vitaminas, entre otras moléculas (Nechay *et al.*, 1986).

En trabajadores expuestos a óxidos de vanadio y en modelos animales, el vanadio absorbido es rápidamente desechado por los riñones o a través de la bilis y excretado en la orina o en las heces. La cinética de eliminación por la orina sigue un comportamiento bifásico, en las 20 primeras horas se excreta la mayor cantidad y de 40 a 50 días la otra parte (Elinder *et al.*, 1988).

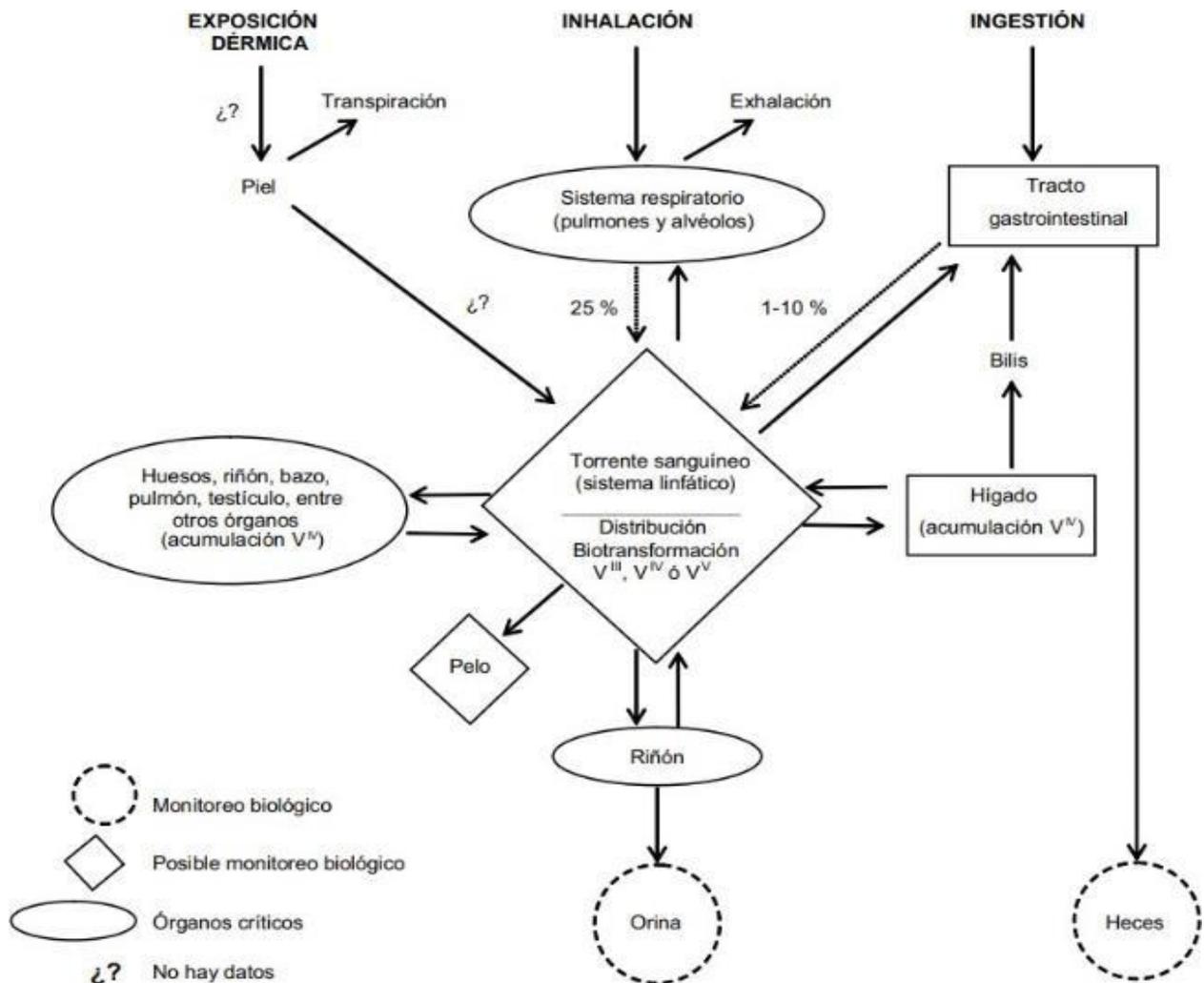


Figura 1. Toxicocinética del Vanadio (Tomado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Efectos de vanadio en el organismo

La exposición crónica por inhalación en ambientes laborales induce cambios en los órganos respiratorios y la aparición de bronquitis, rinitis, laringitis y faringitis, en algunos casos produce cambios en el ritmo cardiaco y la aparición de un color verdoso en la lengua de trabajadores fumadores (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

Efectos del vanadio a nivel celular

Debido a su gran similitud química con el fosfato, el vanadio puede interferir con diversos sistemas enzimáticos como la Na⁺-K⁺-ATPasa, la H-K-ATPasa y Ca⁺-Mg⁺-ATPasas, las cuales son inhibidas en presencia de este metal (Baghavan *et al.*, 1983; Nechay, 1984). El vanadio también inhibe enzimas involucradas en la formación e hidrólisis de ATP, como la adenilatocinasa y la ATP fosfohidrolasa (Nechay, 1984; Rodríguez, 2005). Además, puede interferir en procesos metabólicos como la glucólisis, al inhibir las enzimas gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y glucosa-6-fosfato. Otras enzimas que son inhibidas por el vanadio son las ribonucleasas y ADN polimerasas de manera que el metal produce daños a nivel de síntesis de ADN (Barceloux, 1999; Nechay, 1984; Rodríguez, 2005).

Por otra parte, se sabe que el vanadio altera el balance entre oxidantes y antioxidantes en las células provocando estrés oxidativo. Algunas formas del vanadio como el vanadilo y vanadato funcionan como radicales libres y participan en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las principales vías por las cuales se generan ROS son: el transporte de electrones que se lleva a cabo en la membrana interna mitocondrial y el complejo NADPH oxidasa. Los electrones transferidos por estas vías al oxígeno molecular (O₂) inducen la producción del radical superóxido (O₂⁻), el cual a su vez genera peróxido de hidrógeno (H₂O₂) mediante la dismutación llevada a cabo por la superóxido dismutasa (SOD). Esta especie finalmente genera el radical hidroxil ('OH) vía la reacción de Fenton ($V^{IV} + H_2O_2 \rightarrow V^{V+} + 'OH + 'OH$) (Martínez-Cayuela, 1998; Nechay, 1984; Zhang *et al.*, 2001). El radical superóxido y el peróxido de hidrógeno son poco tóxicos, sin embargo, generan el radical 'OH, el cual es una de las especies más tóxicas ya que reacciona rápidamente con cualquier molécula (Martínez-Cayuela, 1998).

Los radicales libres y ROS provocan la peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas,

carbohidratos y alteraciones sobre el ADN (Nechay, 1984; Zhang *et al.*, 2001). El estrés oxidativo causado por el vanadio produce un efecto mayor debido a que este metal disminuye la actividad de enzimas antioxidantes como la glutatión peroxidasa (GSH) y la catalasa en varios órganos, principalmente en hígado y riñón (Ruslanov *et al.*, 1994).

Por otro lado, algunos compuestos del vanadio como el vanadato, son capaces de inhibir la actividad de proteínas motoras como la dineína y miosina a concentraciones de 1-10 μM (Kirazov y Weiss, 1986). Por ejemplo, se ha reportado en diversos estudios realizados en cultivos de células epiteliales, de tráquea, en organismos ciliados y células flageladas que el vanadato y el metavanadato alteran la función y cinética de la dineína ATPasa, así como su unión con las proteínas de los microtúbulos, lo cual resulta en la inhibición del movimiento de cilios y flagelos (Cande y Wolniak, 1978; Gibbons *et al.*, 1978; Sale y Gibbons, 1979; Okuno, 1980; Anderson y Purich, 1982; Shimizu y Johnson, 1983; Nechay, 1984; Gibbons *et al.*, 1987). Se ha sugerido que, debido a la similitud química del vanadio con el fosfato, el metal puede formar un complejo enzima-ADP-Vanadato que induce la disociación de la unión dineína-microtúbulos (Shimizu y Johnson, 1983), así mismo se ha sugerido que el vanadio interactúa con las cadenas alfa y beta de la enzima, alterando su estructura y función (Gibbons *et al.*, 1987). Las alteraciones producidas por el vanadio sobre las proteínas del citoesqueleto se han sugerido como probables causas de la reprotoxicidad de este metal, por lo que resulta de gran importancia estudiar sus efectos a nivel reproductivo (Rodríguez, 2005).

Efectos reprotóxicos

Los estudios en humanos, animales e *in vitro* sugieren que los metales pesados pueden ejercer efectos adversos en la salud reproductiva de los hombres, incluso en concentraciones relativamente bajas. Los metales pesados pueden afectar el sistema reproductivo masculino, alterando el eje hipotalámico pituitario-gonadal o afectando directamente la espermatogénesis, disminuyendo así la calidad del semen (Leopardi *et al.*, 2005; Mendiola *et al.*, 2011; Altamirano-Lozano *et al.*, 2014). De los metales tóxicos, el arsénico, el cadmio, el cromo, el plomo, el mercurio y el vanadio han sido identificados como altamente significativos en las exposiciones ambientales y ocupacionales, ya que los estudios han demostrado que estos metales pueden acumularse en los testículos y/o el epidídimo, alterando el sistema reproductivo y endocrino. (Danielsson *et al.*, 1984; Clarkson *et al.*, 1985; Thompson y Bannigan, 2008; Castellini *et al.*,

2009; Altamirano-Lozano *et al.*, 2014).

La toxicidad del vanadio, al igual que la de otros metales, depende de la estructura química del compuesto, de la solubilidad, del estado de oxidación, la duración de la administración y la dosis, la vía de exposición y de la biotransformación que ocurra por el metabolismo (Domingo, 1996; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). El vanadio en modelos animales puede cruzar la barrera hematotesticular y placentaria e inducir alteraciones en las diferentes células del testículo y en el desarrollo embrionario y fetal (Domingo, 1996; Aragón *et al.*, 2005).

La información sobre la toxicidad reproductiva causada por los compuestos de vanadio es limitada y no existe en humanos; sin embargo, el interés en los compuestos de vanadio (p. ej., oxovanadatos) ha aumentado en los últimos años debido a las propiedades farmacológicas de los compuestos, que pueden emplearse para tratar la diabetes mellitus o controlar los niveles de colesterol. Otras áreas de mayor atención son los efectos de estos complejos en el tratamiento del cáncer y sus actividades espermicidas (Less *et al.*, 2006; Altamirano-Lozano *et al.*, 2014). Sin embargo, los datos de animales de laboratorio sugieren una advertencia seria en la última aplicación que revela que el vanadio puede dañar permanentemente la función reproductiva (Altamirano-Lozano *et al.*, 2014).

En cuanto a la vía de exposición, se ha reportado que el vanadio es más tóxico para el testículo cuando se administra vía intraperitoneal o intratesticular que cuando se administra vía oral (Domingo, 1996). En cuanto a los efectos de este metal vía inhalada, no existen muchos datos al respecto (Rodríguez, 2005). El efecto reprotóxico del vanadio se ha reportado en modelos animales, en los cuales se ha observado que compuestos como el metavanadato de sodio y amonio, así como el pentóxido y tetraóxido de vanadio administrados vía oral e intraperitoneal respectivamente, producen decremento en el peso testicular y alteraciones en la espermatogénesis tales como decremento en el conteo espermático. Además, estos compuestos, disminuyen la fertilidad y fecundidad, ya que provocan decremento en el número de implantaciones e incremento en la frecuencia de reabsorciones y de fetos con bajo peso en hembras preñadas por machos expuestos al metal (Llobet *et al.*, 1993; Altamirano-Lozano *et al.*, 1996; Aragón y Altamirano-Lozano, 2001; Morgan y El-Tawil, 2003; Rodríguez, 2005).

El tratamiento con pentóxido de vanadio produce alteraciones morfológicas en la cabeza de los

espermatozoides y decremento en la movilidad de estos (Altamirano-Lozano *et al.*, 1996). Otros compuestos orgánicos del vanadio como los vanadocenos, administrados vía intratesticular, producen atrofia y alteraciones a nivel del epitelio seminífero, como la pérdida de espermátidas maduras, vacuolización, multinúcleos y apoptosis en células germinales, lo cual se atribuye a alteraciones en los puentes citoplásmicos que existen entre estas células y a daños en las células de Sertoli. Se ha sugerido, que estas alteraciones son el resultado de daño sobre el citoesqueleto, y los procesos que de él dependen (D'Cruz y Uckun, 2000; Rodríguez, 2005).

Roldán *et al.* (2022), reportaron que la exposición a pentóxido de vanadio aplicado por vía aérea de forma aguda a ratones macho de la cepa CD-1: Disminuye el Índice mitótico espermatogonial, al alterar el proceso de división celular denotando un efecto citostático-citotóxico en células diferenciadas (espermatogonias tipo B). Altera las proporciones de los diferentes tipos de espermatogonias, lo cual muestra un efecto citostático en células troncales diploides, del testículo. Además, la densidad espermática disminuyó, evidenciando efecto citostático en células diferenciadas haploides. La morfología espermática alterada señala desbalance en el equilibrio antioxidante, debida generación excesiva de ROS que induciría daño genotóxico de las espermatogonias o células troncales de los espermatozoides, concluyendo que la exposición a pentóxido de Vanadio induce efectos toxico-reproductivos.

El tratamiento con Tetraóxido de Vanadio reduce significativamente el índice mitótico en linfocitos de médula ósea y el índice mitótico en espermatogonias, indicando un potencial citotóxico (en bajas dosis). Además, produce un aumento en la presencia de Aberraciones Cromosómicas Estructurales y Numéricas en las espermatogonias y en los espermatocitos I, demostrando que el Tetraóxido de Vanadio es un agente reprotóxico (Estrada y Roldán, 2022).

Por otro lado, el vanadio produce especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan las membranas celulares mediante peroxidación lipídica. Particularmente, los espermatozoides son susceptibles al daño oxidativo debido a que presentan gran cantidad de ácidos grasos y una reducida cantidad de enzimas antioxidantes citoplásmicas (Álvarez *et al.*, 1987; Sheriff, 1991; D'Cruz *et al.*, 1998). El daño oxidativo sobre la membrana de los espermatozoides es un mecanismo patofisiológico que conduce al desarrollo de infertilidad masculina (Aitken y Fisher, 1994; Rodríguez, 2005).

Modelo biológico

La especie de ratón (*Mus musculus domesticus*) utilizada en el bioterio, es de tamaño pequeño, tiene como medidas externas: 130 a 198 mm de largo total, que va desde la punta de la nariz hasta la punta de la cola. Su cola mide de 63 a 102 mm, es larga, con poco pelo y escamosa. Para la determinación del género en los neonatos, se determina la distancia entre el ano y la papila urogenital siendo mayor en los machos (tres veces más). En los adultos, los machos pueden diferenciarse de las hembras por el abultamiento testicular notorio en la pared abdominal (Altamirano, 1994).

Ofrece muchas ventajas como modelo, ya que son fáciles de criar, de tamaño pequeño lo que facilita su manejo, su periodo de gestación es corto, su progenie es abundante, se conoce la secuencia total de su genoma (Guénet y Bonhomme, 2004) y posee semejanza con el genoma humano (Bolon, 2015; Ocampo, 2018). En especial la cepa CD-1 tienen carácter dócil, promedio de crías 11.5, poseen aspectos reproductivos idóneos para su uso en la teratología, también son útiles en las áreas de oncología y toxicología (Ocampo, 2018).

Reproductivamente, en los ratones después de la fertilización, ocurre la implantación, la cual se da al día 4.5-5 y se implanta en la pared del útero. La gestación dura entre 18.5 a 19.5 días en las hembras primíparas, y entre 19 y 21 en las múltiparas, lo anterior depende del estado fisiológico, la constitución genética de la hembra y del número de crías que esté gestando (Benavides y Guénet, 2003).

En los mamíferos, los principales períodos de desarrollo que ocurren antes del nacimiento son la concepción, la preimplantación, la implantación, la organogénesis y el crecimiento fetal, mientras que los que tienen lugar después del nacimiento son las fases neonatal, juvenil y adulta. Las edades específicas de desarrollo en ratones generalmente se asignan mediante el sistema de estadificación de Theiler (TS) (Tabla 1) (Bolon, 2015).

En los ratones el periodo de organogénesis ocurre aproximadamente entre el día 5 al 15 de gestación (Bolon, 2015), durante este se produce la segregación, migración y diferenciación celular, el agrupamiento de células y formación de tejidos destinados a formar órganos. La sensibilidad de este periodo en cuanto a la inducción de malformaciones abarca los días 5 al 14

de gestación en ratas y ratones lo que es equivalente al tercer mes en humanos (Timbrell, 2009).

Tabla 1. Crecimiento en el Útero del Embrión/Feto de Ratón promedio.

Característica destacada del embrión/feto	Etapa de desarrollo		Dimensión máxima aproximada* (mm)
	Etapa de Theiler (TS)	Día de gestación (GD)	
Cigoto	1	0.5-1.0	0.1
Mórula	2, 3	1.5-2.5	0.1
Blastocisto	4, 5	3.0-4.0	0.1
Blastocisto (implantado)	6	4.5-5.0	0.1
Cilindro de huevo	7, 8	5.0-6.0	0.1-0.15
Linea primitiva	9, 10	6.5-7.0	0.15-0.2
Placa neural	11	7.0-7.5	0.2-0.25
Pares de somitas núms. 1-7	12	8.0-8.5	1.0-1.2
Pares de somitas núms. 8-12	13	8.5-9.0	1.3-1.5
Pares de somitas núms. 13-20	14	8.5-9.0	1.5-1.8
Pares de somitas núms. 21-29	15	9.0-9.7	2.0-2.2
Pares de somitas núms. 30-34	16	9.7-10.2	2.5-3.0
Pares de somitas núms. 35-39	17	10.0-10.5	3-4
Pares de somitas núms. 40-44	18	10.5-11.0	4-5
Pares de somitas núms. 45-47	19	11.0-11.5	6-7
Pares de somitas núms. 48-51	20	11.5-12.0	7-8
Pares de somitas núms. 52-55	21	12.5-13.0	8-9
Pares de somitas núms. 56-60+	22	13.5-14.0	9-10
Párpados cerrados	23	14.5-15.0	11-12
Cierre de hernia umbilical	24	15.5-16.0	12-14
Párpados cerrados	25	16.5-17.0	14-17
Pabellón cubre meato auditivo	26	17.5-18.0	17-20
		18.5-19.0	19-22
Nacimiento	27	19	23-27

Nota : Datos adaptados de valores revisados en Referencias.

* Dimensión máxima (es decir, máxima) en una dirección del embrión o feto; cuando sea factible, esto representa la longitud de la coronilla a la rabadilla.

Tomada y modificada de (Bolón, 2015).

Impronta Genómica

El desarrollo normal de los mamíferos requiere una expresión apropiada de los genes derivados tanto del **genoma materno como paterno**. La mayoría de los genes son expresados independientemente de su origen parental. Sin embargo, un número reducido de ellos (aproximadamente 100 genes) son regulados y transcritos en una manera mono-alélica. Para estos genes, denominados genes imprintados o de impronta (marcados), su patrón de expresión

y regulación es dependiente de su origen parental, es decir, se comporta de una manera distinta si su origen es paterno o materno. Para estos genes existen mecanismos específicos de control que aseguran su correcta expresión (Colmes y Soloway, 2006; Sha, 2008; Reig y Concha, 2012). Numerosos estudios sugieren la contribución de diversas señales regulatorias al mecanismo de impronta genómica. Las mismas están ubicadas dentro o en la proximidad de los genes de impronta (Sha, 2008; Reig y Concha, 2012). Las regiones o dominios de metilación diferencial (DMR) usualmente funcionan como sitios de metilación del ADN dependiente del origen parental (Colmes y Soloway, 2006; Reig y Concha, 2012). Ciertos DMR pueden también funcionar como "aisladores" (insulators), los cuales cumplen con dos características: a) cuando se ubican entre un potenciador (enhancer) y un promotor, son capaces de prevenir la activación del promotor; y b) cuando se ubican río arriba o debajo de un transgén, son capaces de proteger al mismo de los efectos posicionales. Uno de los mejores ejemplos de regulación de la expresión génica mediado por DMR es el que afecta a los genes de impronta *igf-II* /H19. El **gen *igf-II*** codifica para un factor de crecimiento fetal (**IGF-II**), mientras que H19 es un ARN no codificante. Los dos genes están separados sólo por 90 kilobases, y son regulados por impronta genómica. En el cromosoma paterno el gen *igf-II* se expresa activamente por la acción de los potenciadores, mientras que la expresión de H19 está reprimida como resultado de la fuerte metilación que ocurre sobre las DMR. Esta metilación sobre la DMR a su vez induce cambios epigenéticos sobre el promotor de H19, que dan como resultado un silenciamiento de su expresión (Figura 2). En el cromosoma materno, la ausencia de metilación sobre la DMR favorece dos eventos: a) el reclutamiento de la proteína CTCF, la cual bloquea la actividad de los potenciadores sobre el gen *igf-II*, lo que resulta en la inhibición de su expresión; y b) la expresión de H19. Así, los genomas materno y paterno complementan la expresión de sus genes (Reig y Concha, 2012) (Figura 2).

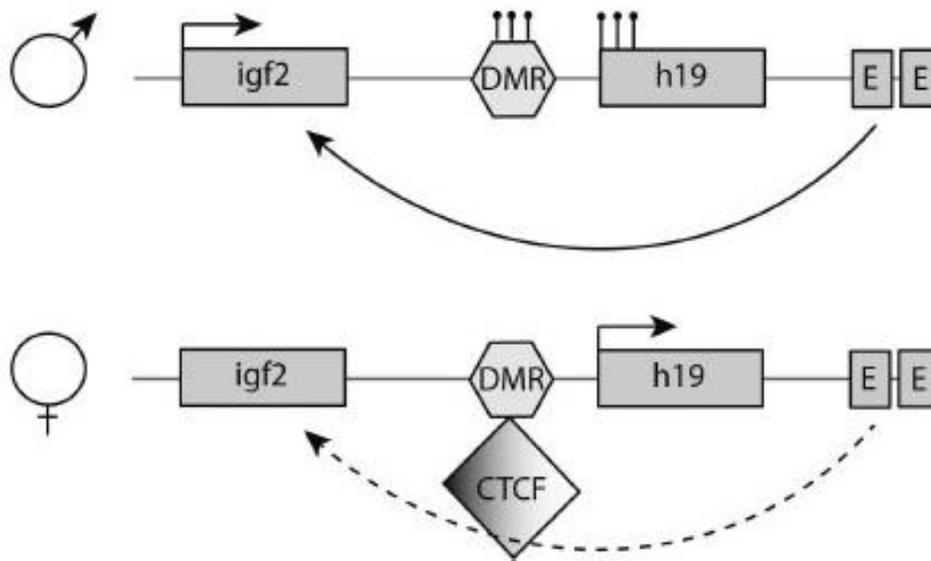


Figura 2. Mecanismo de regulación de los genes *Igf-II* y H19. Potenciadores (E). Tomado de Reig y Concha, 2012.

IGF-II

El factor dos de crecimiento similar a la insulina tipo II (IGF-II) es una proteína clave que regula el crecimiento, en particular durante el desarrollo fetal normal. La síntesis de IGF-II resulta de la expresión de *Igf-II* un gen de impronta ubicado en la región del cromosoma 11p15.5 (Sélénou *et al.*, 2022). *Igf-II* (ENSG00000167244) se compone de 10 exones y cinco promotores, mientras que su homólogo de ratón se encuentra en el cromosoma 7 y se compone de ocho exones y cuatro promotores. El IGF-II es un factor de crecimiento con una complejidad estructural y reguladora asociada con una acción pleiotrópica específica de tejido y dependiente de la etapa de desarrollo (Figura 3). Los genes de impronta expresados paternalmente generalmente se asocian con un papel pro-proliferativo durante el desarrollo. Esto es particularmente cierto para el gen *Igf-II*, que codifica un factor clave para el crecimiento fetoplacentario (Ishida *et al.*, 2007; Sélénou *et al.*, 2022). De hecho, el IGF-II es altamente mitógeno y, junto con el IGF-I, promueve la proliferación de varios tipos de células durante el período fetal, desempeñando así un papel importante en el crecimiento y desarrollo de los órganos (Figura 3). En ratones, el gen *Igf-II* juega un papel crucial durante el período embrionario. En la placenta existen niveles extremadamente altos de expresión de *Igf-II* en los tejidos placentarios durante la gestación. Algunos estudios han demostrado que los ratones sin *Igf-II* muestran restricción del crecimiento

intrauterino e hipoplasia placentaria. Además, la inactivación específica de *Igf-II-P0* conduce a la restricción del crecimiento intrauterino a través de la restricción placentaria. Estos modelos de ratón también presentan cambios en los intercambios feto-materno, incluido, en particular, el suministro de nutrientes maternos al feto (Sélénou *et al.*, 2022).

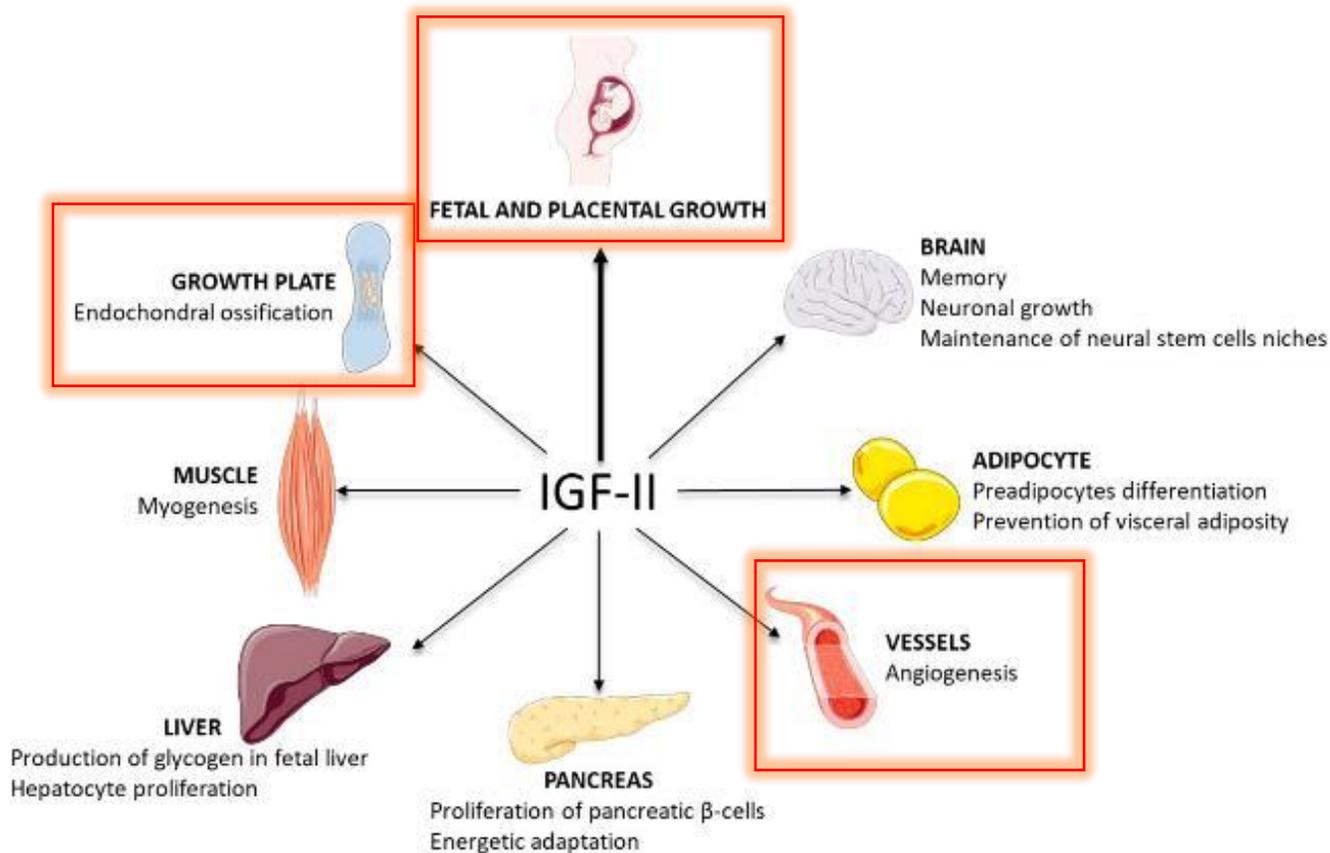


Figura 3. Diagrama que resume las funciones fisiológicas de IGF-II descritas en modelos humanos y de ratón. Tomado y modificado de Sélénou *et al.*, 2022.

Justificación

La contaminación ambiental se ha incrementado, por lo cual nos encontramos expuestos a una gran cantidad de contaminantes, uno de estos es el vanadio que es un metal liberado al ambiente de forma natural y mayormente por procesos antropogénicos, principalmente por la actividad industrial, esto ha incrementado los niveles de vanadio en la atmosfera y se encuentra presente en las partículas de menos de 10 μm de diámetro, lo que provoca que sean respiradas por las poblaciones de ciudad grandes.

Gran parte de la población se encuentra expuesta a este contaminante, se conoce que este metal es capaz de causar daño en las células del testículo y ocasionar daños al feto. En el presente trabajo se estudió el efecto que puede inducir el óxido de Vanadio en su estado de oxidación IV (V_2O_4), siendo esta la forma exclusiva en la que se acumula en el cuerpo de forma natural.

Hipótesis

El Vanadio es un metal que cruza las barreras hematotesticular y placentaria, además de inducir alteraciones en las diferentes células del testículo y en el desarrollo embrionario y fetal. Por lo que si se reproducen hembras sanas con machos tratados de forma subcrónica con diferentes concentraciones de Óxido de Vanadio IV (V_2O_4), se espera que las crías resultantes de esta cruce presenten malformaciones anatómicas y esqueléticas durante su desarrollo embrionario y fetal.

Objetivos

Objetivo general.

Evaluar los efectos embriotóxico, fetotóxico y teratogénico de **tetraóxido de vanadio (V_2O_4)** 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.

Método

Reactivos químicos

Óxido de Vanadio IV (V_2O_4 ; Marca: Sigma-Aldrich, pureza 99%, CAS 12036-21-4), Etanol (C_2H_6O ; Marca: Hycel, CAS 64-17-5), Formaldehído (HCHO; Marca: Wöhler, CAS 50-00-0), Hidróxido de potasio (KOH; Marca: Karal, CAS 1310-58-3), Ácido acético, Glacial (CH_3COOH ; Marca: J.T. Baker, CAS 64-19-7), Azul de Alcían 8Gx ($C_{56}H_{68}Cl_4CuN_{16}S_4$; Marca: Sigma-Aldrich, CAS 33864-98-2), Rojo de Alizarina ($C_{14}H_7O_7SNa$; Marca: CIVEQ, CAS 130-22-3), Glicerina ($HOCH_2CH(OH)CH_2OH$; Marca: J.T. Baker, CAS 56-81-5), Timol ($C_{10}H_{14}O$; Marca: Sigma-Aldrich, CAS 89-83-8).

Animales

Se utilizaron ratones sexualmente maduros de la cepa CD-1, de 8-12 semanas de edad, hembras (peso mínimo de 30g) y machos (peso mínimo de 30g), proporcionados por el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, los cuales fueron mantenidos en cajas de fibra de vidrio con fotoperiodos constantes de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, a temperatura estándar (21° C), con una humedad de 40 a 50%. Los animales tuvieron libre acceso al agua y alimento (Rodent diet Tek Lad Global Diets, 18% de proteína), fueron marcados y pesados para llevar el seguimiento de su peso durante el tratamiento.

Tratamientos

Para realizar los tratamientos se utilizaron cinco grupos compuestos por cinco ratones macho cada uno. El compuesto se administró vía aérea, para esto los ratones fueron colocados durante una hora en una caja hermética cerrada, con ayuda de un nebulizador se saturó el ambiente con una solución de tetraóxido de vanadio (V_2O_4) en diferentes concentraciones alta ($\frac{3}{4}$ LD₅₀), media ($\frac{1}{2}$ LD₅₀) y baja ($\frac{1}{4}$ LD₅₀), utilizando como referencia la LD₅₀: 150 mg/kg (Aragón y Altamirano-Lozano, 2001) (Tabla 2). Los tratamientos se llevaron a cabo durante un lapso de 15 días, realizando el tratamiento cada 48 horas.

Tabla 2. Diseño experimental grupos control negativo, control positivo y las tres concentraciones de los grupos con tratamiento de V ₂ O ₄		
Grupos	Tratamientos (mg/g peso de ratón)	Número de ratones (N)
Control negativo (C-)	0.0	5
Control positivo (C+) Mitomicina C (MMC)	0.08	5
V₂O₄		
LD ₅₀ (150 mg/kg)		
(1/4 LD ₅₀ = 37.5 mg/kg)	1.5	5
(1/2 LD ₅₀ = 75.0 mg/kg)	3.0	5
(3/4 LD ₅₀ = 112.5 mg/kg)	4.5	5

Cruzas

Se realizaron frotis vaginales a las hembras cada tercer día, para el monitoreo del ciclo estral, para realizar este procedimiento se sujetaron a las hembras en posición ventral, con una pipeta Pasteur se tomaron 0.3 ml de solución fisiológica, posteriormente se introdujo levemente en el orificio vaginal y se realizaron tres lavados, se colocó una gota en un portaobjetos, posteriormente se analizaron los frotis en el microscópico (Nikón Eclipse E200) en contraste de fases y se determinó la etapa del ciclo estral de cada hembra. Una vez terminado el tratamiento de los machos se realizó la cruce, seleccionando hembras en etapas de proestro y estro (Figura 4).

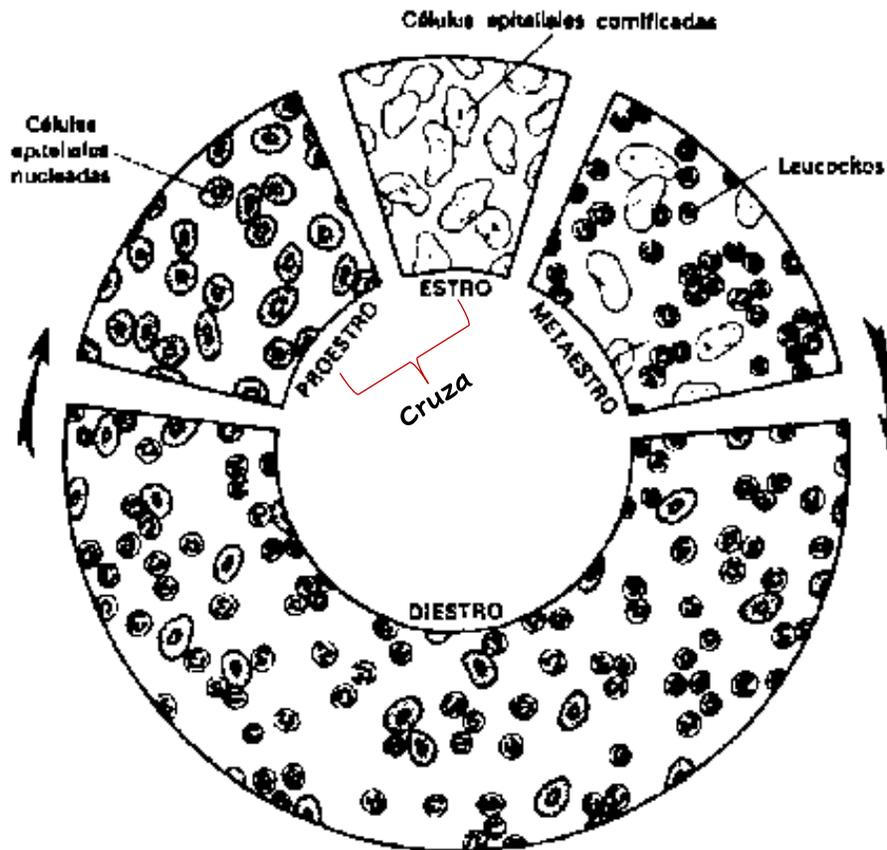


Figura 4. Tipos celulares característicos de cada etapa del ciclo estral de ratón, tomado y modificado de Gutiérrez *et al.*, 2009.

En el momento de las cruces, las hembras se colocaron con los machos en una proporción 2:1 o 3:1, a la mañana siguiente se revisó la presencia de tapón vaginal, el cual se tomó como evidencia de cópula y se consideró como día 0 de gestación.

Obtención de los fetos

En el día 16 de gestación las hembras fueron sacrificadas en cámara de CO₂ y se obtuvieron los fetos por cesárea, se registró el número total de fetos, el peso, el número de crías vivas y muertas y el número total de reabsorciones (Tempranas y tardías), explicar cómo se identificaron. Los fetos se colocaron en frascos con etanol al 70% para su fijación y el posterior análisis morfológico.

Evaluación de anomalías morfológicas

Los fetos previamente fijados fueron analizados bajo el estereoscopio (Leica EZ4W), se evaluaron las características morfológicas externas, como la cabeza, lengua, paladar, párpados, implantación de las orejas, cola, extremidades anteriores y posteriores, se realizó la medición de la longitud fetal y se llevó a cabo el sexado, determinado a partir de la distancia del gonópodo al ano, el cual es menor en hembras en comparación con los machos (Harkness y Wagner, 1989).

Técnica de tinción hueso-cartílago (rojo de alizarina-azul de Alciano)

Una vez realizada la evaluación de los fetos se fijaron en formaldehído al 37%, durante 2 días, se retiró la piel y las vísceras abdominales de los fetos, posteriormente se colocaron en una solución de azul de Alciano 0.15% (p/v) preparada con Etanol - Ac. Acético (80:20) durante 48 horas, después se realizaron lavados con etanol al 70% cada dos horas durante un día para retirar el exceso de colorante, se colocaron en KOH al 4% hasta que fueran visibles de forma clara los huesos, posteriormente se colocaron en una solución de rojo de alizarina 0.1% (p/v) en KOH 0.5% durante 12-24 horas, a continuación, se colocaron en lavados de KOH-Glicerina para retirar el exceso de colorante, finalmente se colocaron en glicerina pura y se agregó timol para su conservación.

Evaluación de anomalías esqueléticas

Los fetos previamente teñidos (tinción hueso-cartílago) fueron analizados bajo el estereoscopio (Leica EZ4W5301) y se registraron las anomalías esqueléticas como ausencias, retrasos en la osificación (caracterizado por la presencia de los huesos con una tinción azul, indicativo de presencia de tejido cartilaginoso, en lugar de tejido óseo) y poca osificación (caracterizado por la presencia de centros de osificación con menor tamaño). Se evaluaron las características esqueléticas como, huesos craneales (frontal, nasal, parietal, occipital, cigomático, temporal, hioides, maxilar, incisivo y mandibular), huesos de las extremidades superiores (escápula, húmero, cúbito, radio, clavícula, carpos, metacarpos y falanges), huesos de las extremidades inferiores (ilion, isquion, pubis, fémur, tibia, peroné, tarsos, metatarsos y falanges), además se evaluaron las costillas, esternones, cartílagos intercostales, apófisis xifoides y vértebras.

Análisis estadístico

Los datos de longitud, peso y número de reabsorciones, se presentan como media \pm desviación estándar, los cuales fueron analizados con la prueba *t* de Student. Los datos tales como el porcentaje de fetos vivos y muertos, porcentaje de machos y hembras, número de fetos anormales, alteraciones morfológicas y esqueléticas, se utilizó la prueba *Z* para proporciones. Se consideró diferencia estadística cuando $p < 0.05$, se aplicó coeficiente de correlación de Pearson, para establecer relación dosis-efecto.

Resultados

Toxicidad embrionaria y fetal

Para la evaluación de la embriotoxicidad y fetotoxicidad se llevó a cabo el conteo del número total de fetos vivos, fetos muertos, reabsorciones tempranas, reabsorciones tardías, longitud cefalocaudal y el peso de la camada, además se realizó el sexado de los fetos obtenidos.

En los descendientes de los ratones tratados con 1.5 mg/g se observó la disminución en la longitud fetal, mientras que en los fetos del grupo al que se le administraron 4.5 mg/g este parámetro aumento en comparación con el grupo control negativo (Tabla 3).

Los fetos del grupo tratado con Mitomicina C 0.08 mg/g (Control Positivo) presentaron un descenso en el porcentaje de fetos vivos y por consecuencia un aumento en el porcentaje de fetos muertos, además de presentar una disminución en la longitud fetal y el peso fetal con respecto al grupo control negativo (Tabla 3).

Tabla 3. Efectos embriotóxicos del tetraóxido de vanadio V₂O₄ en descendencia de ratones macho CD-1 tratados vía aérea

	Control Negativo	Control Positivo	V ₂ O ₄ [mg/g]		
			[1.5]	[3]	[4.5]
<i>n</i>	62	64	62	84	68
Fetos vivos (%)	91.93	79.68*	82.25	90.47	82.35
Fetos muertos (%)	8.07	20.31*	17.75	9.53	17.65
Machos (%)	47.22	46.88	48.39	46.42	51.47
Hembras (%)	52.78	53.13	51.61	51.19	47.05
Longitud fetal M ± DE (cm)	1.99 ± 0.13	1.89 ± 0.09 ^a	1.95 ± 0.09 ^a	1.96 ± 0.11	2.06 ± 0.22 ^a
Peso fetal M ± DE (g)	0.84 ± 0.09	0.76 ± 0.11 ^a	0.87 ± 0.03	0.82 ± 0.08	0.92 ± 0.16
Reabsorciones	4.00	0.00	4.00	0.00	1.00

n = Número de fetos analizados. M±DE = media ± desviación estándar.

* p<0.05 Z para proporciones vs Control negativo

^a p<0.05 t de student vs Control negativo

Anormalidades morfológicas

Para la evaluación de las anomalías morfológicas externas se llevó a cabo la revisión morfológica de todos los fetos obtenidos. En la Tabla 4, se presentan los datos del análisis morfológico, donde se observa que los fetos del grupo tratado con 1.5 mg/g presentaron un incremento en el porcentaje de fetos con hematomas (Figura 6B), malformaciones en párpados (**ausencia parcial o total del párpado, principalmente**) y cuello corto, con respecto al grupo control negativo, mientras que los fetos del grupo tratado con 3 mg/g presentaron un aumento con respecto al grupo control, en el porcentaje de fetos con hematomas, orejas mal desarrolladas (Figura 7C) y malformaciones en párpados. Finalmente, los fetos del grupo tratado con 4.5 mg/g únicamente presentaron un incremento en el porcentaje de fetos con hematomas y malformaciones en párpados (Figura 7B).

Al administrar Mitomicina C, vía ip (Control Positivo) se encontró un incremento significativo en el porcentaje de fetos con orejas mal desarrolladas, cuello corto, malformaciones en columna (principalmente surco en columna) y párpados mal desarrollados, con respecto al grupo control negativo (Tabla 4).

Tabla 4. Anormalidades morfológicas en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a un tratamiento subcrónico vía aérea con tretaóxido de vanadio (V_2O_4).

	Control Negativo	Control Positivo	V_2O_4 [mg/g]		
			[1.5]	[3]	[4.5]
<i>n</i>	62	64	62	84	68
Hematomas	38.71	40.62	70.96*	57.14*	55.88*
Orejas mal desarrolladas	3.22	39.06*	4.83	15.47*	8.82
Cuello corto	1.61	17.18*	12.90*	3.57	2.94
Malformaciones en cabeza	1.61	1.56	8.06	3.57	2.94
Malformaciones en columna	0.00	21.87*	3.22	3.57	0.00
Malformaciones en párpados	0.00	15.62*	6.45*	8.33*	13.23*
Fetos con poco desarrollo	0.00	0.00	0.00	0.00	2.94

n = Número de fetos analizados. Los datos de anormalidades morfológicas se presentan en porcentaje (%).

* $p < 0.05$ Z para proporciones vs Control negativo

En la Figura 5, se muestra una representación gráfica del porcentaje de fetos con anormalidades morfológicas, correspondiente a la Tabla 4, donde se observa que los descendientes de los tres grupos tratados con V_2O_4 muestran un incremento en el porcentaje de fetos con hematomas y malformaciones en párpados, mientras que el grupo tratado con 1.5 mg/g también presentó un incremento en el porcentaje de fetos con cuello corto y por su parte el grupo tratado con 3 mg/g presentó un aumento en el porcentaje de fetos con orejas mal desarrolladas.

Anormalidades morfológicas inducidas por V₂O₄

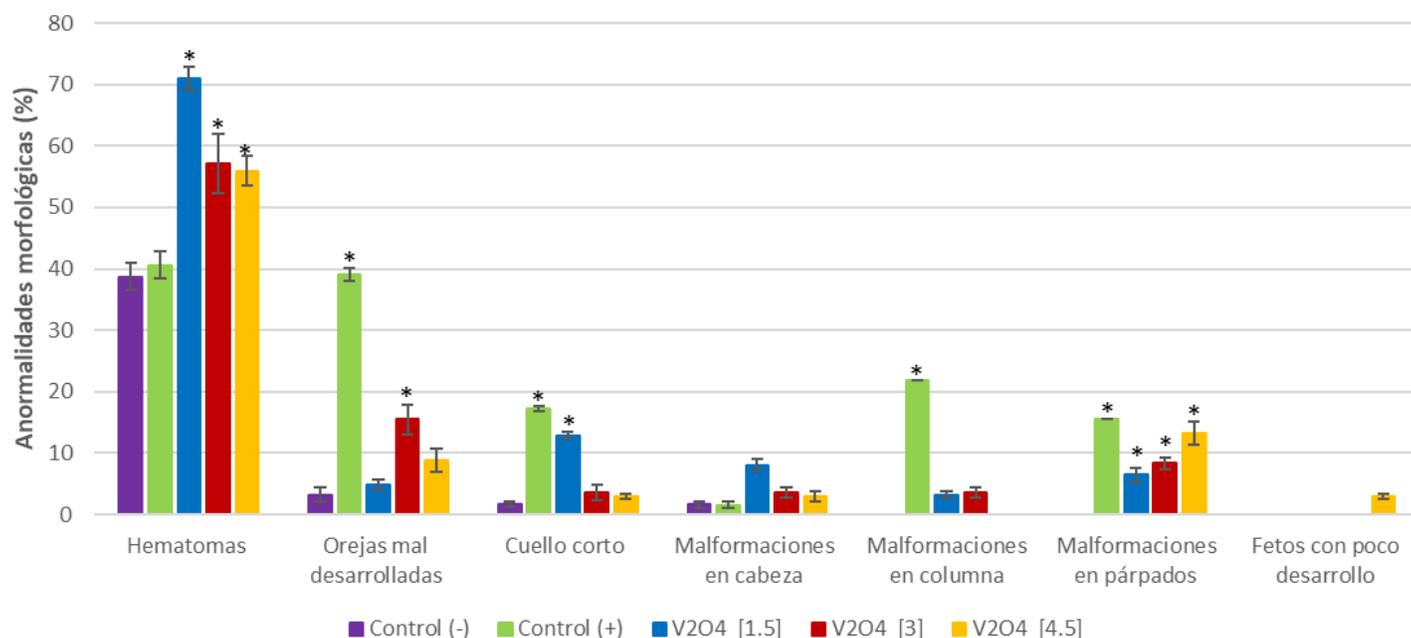


Figura 5. Anormalidades morfológicas (%) en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a un tratamiento subcrónico vía aérea con tetróxido de vanadio (V₂O₄)
 *p<0.05, Z para proporciones vs Control negativo

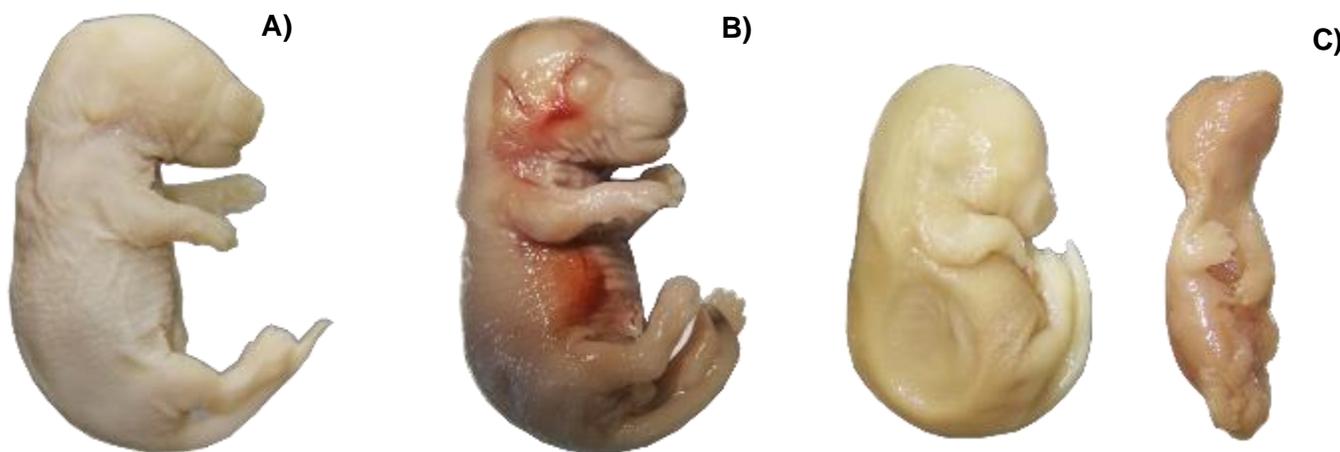


Figura 6. A) Feto normal, grupo Control Negativo; B) Feto con Hematomas en cuerpo y cabeza, grupo V₂O₄ [1.5]; C) Fetos con desarrollo incompleto, grupo V₂O₄ [4.5]. Estereomicroscopio Leica EZ4W (8x). Microfotografías. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, UMIEZ.

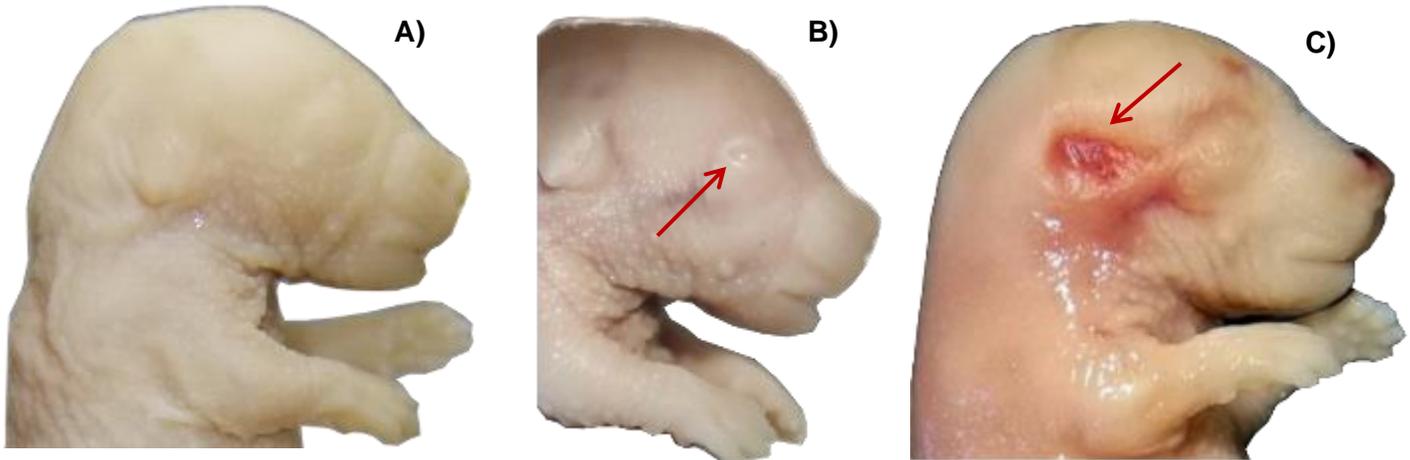


Figura 7. A) Feto normal, grupo Control Negativo; B) Feto con párpado ausente, grupo V_2O_4 [4.5]; C) Feto con Oreja mal desarrollada, grupo V_2O_4 [3]. Estereomicroscopio Leica EZ4W (12x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIEZ.

Análisis esquelético

Cabeza

En la tabla 5, se presenta el porcentaje de fetos que presentaban anomalías en los huesos craneales, donde se observa que los descendientes del grupo tratado con 1.5 mg/g presentaron un aumento significativo, con respecto al grupo control negativo, en el porcentaje de fetos con anomalías en la osificación de los huesos frontal (Figura 9B), nasal, maxilar, incisivo, cigomático, parietal, occipital y mandibular (Figura 8B). Por otra parte, los descendientes del grupo tratado con 3 mg/g únicamente presentaron un aumento significativo en el porcentaje de fetos con anomalías en la osificación del hueso occipital, correspondiente principalmente al retraso en los centros de osificación superiores (Figura 10B) y a la ausencia total de estos (Figura 10C). Mientras que los descendientes del grupo tratado con 4.5 mg/g solo mostraron un incremento en el porcentaje de fetos con anomalías en la osificación de los huesos nasal y occipital con respecto al grupo control negativo. Ninguno de los grupos evaluados mostró alteraciones en el hueso temporal.

Al administrar Mitomicina C, vía ip (Control Positivo) se encontró un incremento en el porcentaje de fetos con anomalías en la osificación de los huesos nasal, maxilar, parietal, occipital y mandibular con respecto al grupo control negativo (Tabla 5).

Tabla 5. Anormalidades esqueléticas craneales en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a un tratamiento subcrónico vía aérea con tretaóxido de vanadio (V_2O_4).

	Control Negativo	Control Positivo	V_2O_4 [mg/g]		
			[1.5]	[3]	[4.5]
<i>n</i>	62	64	62	84	68
Fetos con anormalidades (%)					
Frontal	19.35	12.90	58.06*	0.00	0.00
Nasal	3.22	38.70*	58.06*	0.00	16.17*
Maxilar	0.00	9.67*	20.96*	0.00	0.00
Incisivo	9.67	1.61	17.74*	0.00	4.41
Cigomático	8.06	9.67	70.96*	0.00	0.00
Parietal	17.74	64.51*	80.64*	1.19	5.88
Hioides	0.00	0.00	4.83	0.00	0.00
Occipital	29.03	100.00*	88.70*	70.23*	47.05*
Mandibular	0.00	16.12*	8.06*	0.00	0.00

n = Número de fetos analizados

* $p < 0.05$, Z para proporciones vs Control negativo

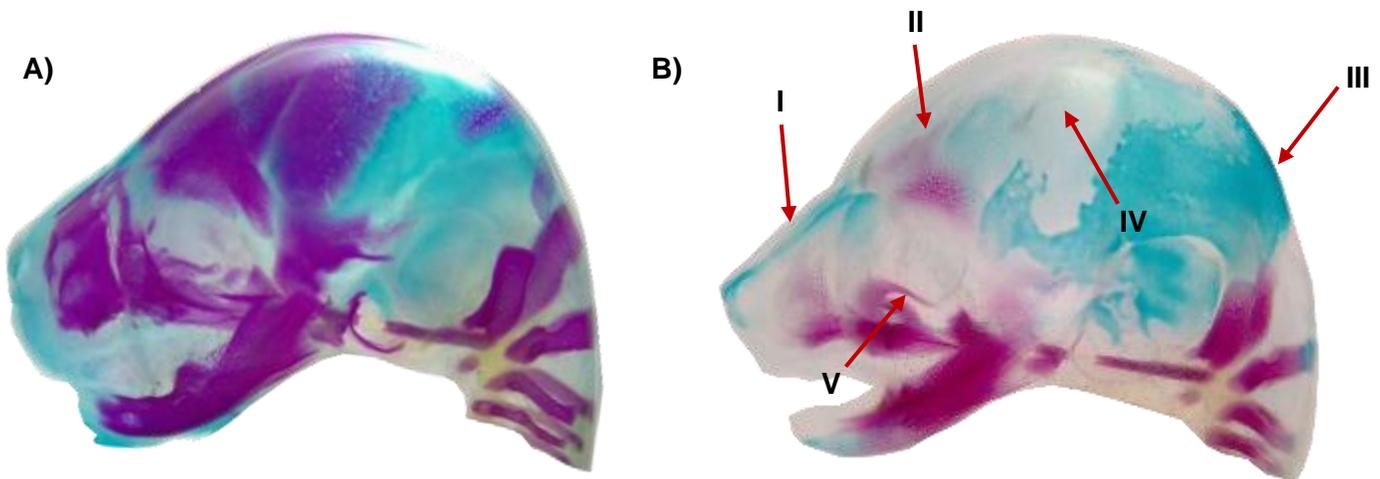


Figura 8. Huesos y centros de osificación (CO) del cráneo. A) Cráneo de feto del Grupo Control Negativo, muestra una osificación completa de todos los huesos craneales; B) Cráneo de feto del grupo tratado con V_2O_4 [1.5 mg/g], I. Retraso en la osificación del hueso nasal; II. Retraso en la osificación del hueso frontal; III. Ausencia de CO supraoccipitales; IV. Ausencia del hueso parietal; V. Retraso en la osificación del hueso cigomático. Estereomicroscopio Leica EZ4W (12x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIEZ.

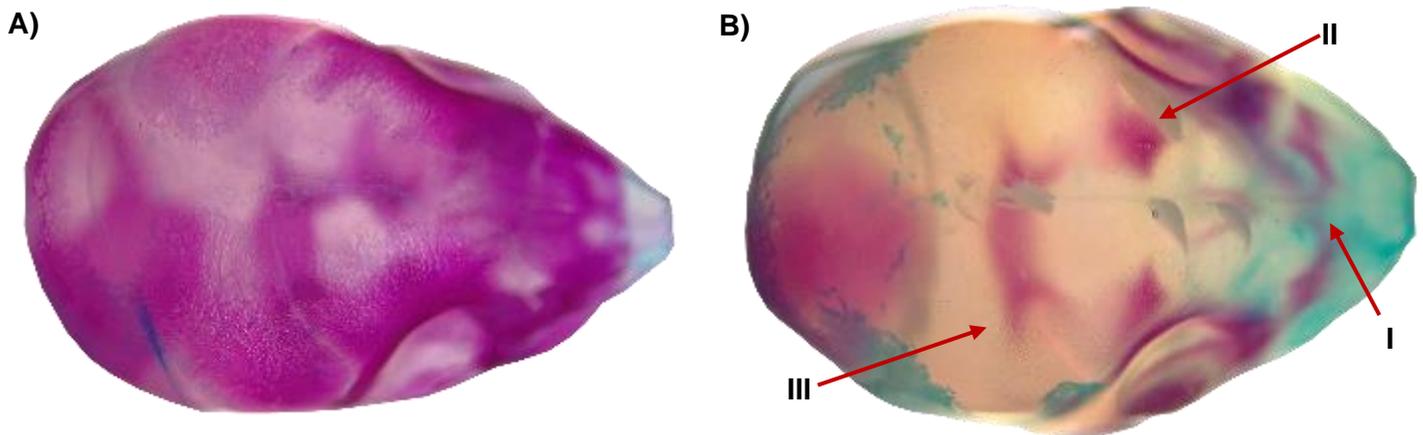


Figura 9. Huesos y centros de osificación (CO) del cráneo (superior). A) Cráneo de feto del Grupo Control Negativo, muestra una osificación completa de todos los huesos craneales; B) Cráneo de feto del grupo tratado con V_2O_4 [1.5 mg/g], I. Retraso en la osificación del hueso nasal; II. Retraso en la osificación del hueso frontal; III. Ausencia del hueso parietal. Estereomicroscopio Leica EZ4W (12x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIEZ.

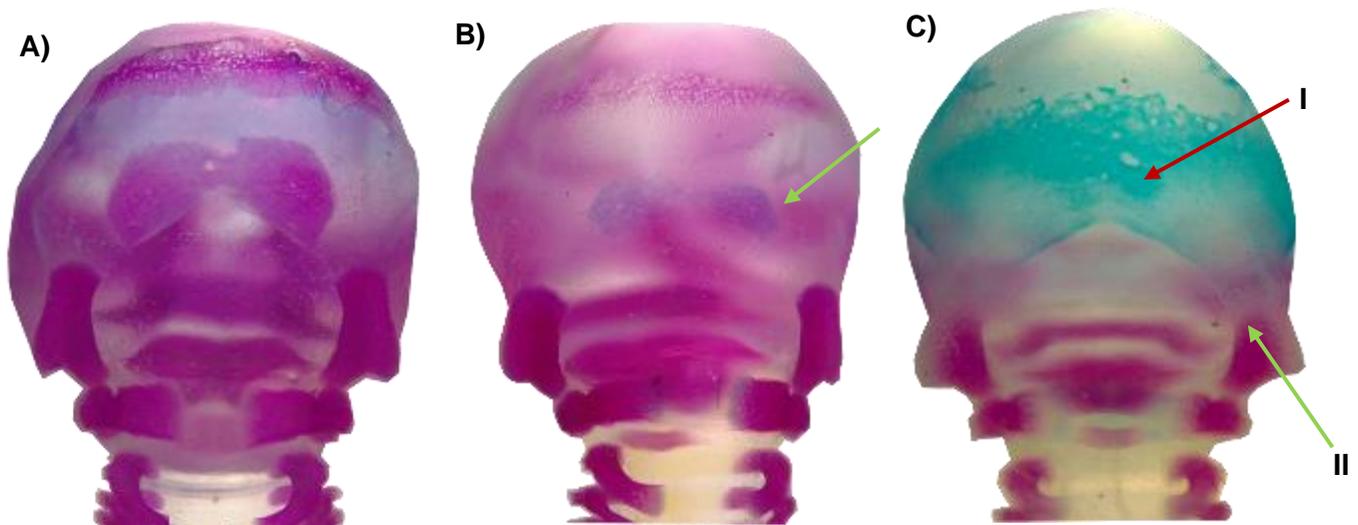


Figura 10. Centros de osificación (CO) del hueso occipital (cráneo posterior). A) Cráneo de feto del Grupo Control Negativo, muestra una osificación completa de los CO del hueso occipital; B) Cráneo de feto del grupo tratado con V_2O_4 [3 mg/g], Presenta retraso en los CO supraoccipitales; C) Cráneo de feto del grupo tratado con V_2O_4 [1.5 mg/g], I. Ausencia de CO supraoccipitales, II. Osificación incompleta en los CO laterales del hueso occipital. Estereomicroscopio Leica EZ4W (12x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIEZ.

Esqueleto Axial

En la tabla 6, se presenta el porcentaje de fetos con anomalías en los huesos del esqueleto axial, donde se muestra que los tres grupos tratados con V_2O_4 (1.5, 3 y 4.5 mg/g) presentaron un incremento en el porcentaje de fetos con anomalías en costillas, las cuales corresponden principalmente a costillas supernumerarias (Figura 13B), por otra parte los grupos tratados con 1.5 mg/g y 3 mg/g presentaron un incremento en el porcentaje de fetos con anomalías en los centros de osificación de las esternibras I a V (Figura 11B), mientras que los descendientes del grupo tratado con 4.5 únicamente presentaron un incremento significativo en anomalías de los centros de osificación de las esternibras II y V, mientras que los fetos de los tres grupos tuvieron un incremento significativo en las anomalías de los centros de osificación de la Apófisis Xifoides (Figura 11B) todo esto con respecto al grupo control negativo. Respecto a las anomalías en las vértebras en comparación al control negativo, los fetos del grupo tratado con 1.5 mg/g presentaron un aumento en el porcentaje de anomalías en la osificación de las vértebras lumbares y sacras, mientras que los fetos del grupo tratado con 3 mg/g únicamente presentaron un incremento en las anomalías en la osificación de las vértebras lumbares. Finalmente, los fetos del grupo tratado con 4.5 mg/g mostraron un aumento en el porcentaje de anomalías en la osificación de las vértebras lumbares, sacras y cervicales, estas últimas se deben a la presencia de un primordio de costilla en la vértebra cervical C7 (Figura 12). Finalmente, las anomalías en los cartílagos intercostales encontradas fueron un incremento en el número de estos, donde únicamente los fetos del grupo tratado con 1.5 mg/g presentaron un aumento significativo con respecto al grupo control negativo.

Los fetos del grupo tratado con Mitomicina C, vía ip (Control Positivo), presentaron un incremento significativo en el porcentaje de anomalías en costillas, esternibras I a V, apófisis xifoides, vértebras cervicales, vértebras torácicas, vértebras lumbares y vértebras sacras, con respecto al grupo control negativo (Tabla 6).

Tabla 6. Anormalidades del esqueleto axial en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a un tratamiento subcrónico vía aérea con tretaóxido de vanadio (V₂O₄).

	Control Negativo	Control Positivo	V ₂ O ₄ [mg/g]		
			[1.5]	[3]	[4.5]
<i>n</i>	62	64	62	84	68
Fetos con anormalidades (%)					
Costillas	19.35	29.03*	29.03*	42.85*	27.94*
Esternebras:					
I	0.00	27.41*	48.38*	3.22	32.25*
II	1.61	45.16*	66.12*	25.80*	35.48*
III	1.61	40.32*	61.29*	4.83	32.25*
IV	1.61	50.00*	59.67*	4.83	32.25*
V	12.9	85.40*	93.54*	77.41*	51.61*
Cartilagos intercostales	1.61	3.22	19.35*	4.76	2.94
A. Xifoideas	6.45	67.74*	64.51*	14.28*	32.35*
V. Cervicales	0.00	8.06*	0.00	5.95	11.76*
V. Tóricas	0.00	6.45*	0.00	0.00	0.00
V. Lumbares	19.35	30.64*	33.87*	42.85*	26.47*
V. Sacras	0.00	16.12*	35.48*	1.19	14.7*
V. Coccigeas	0.00	0.00	0.00	1.19	0.00

n = Número de fetos analizados

* *p*<0.05, Z para proporciones vs Control negativo

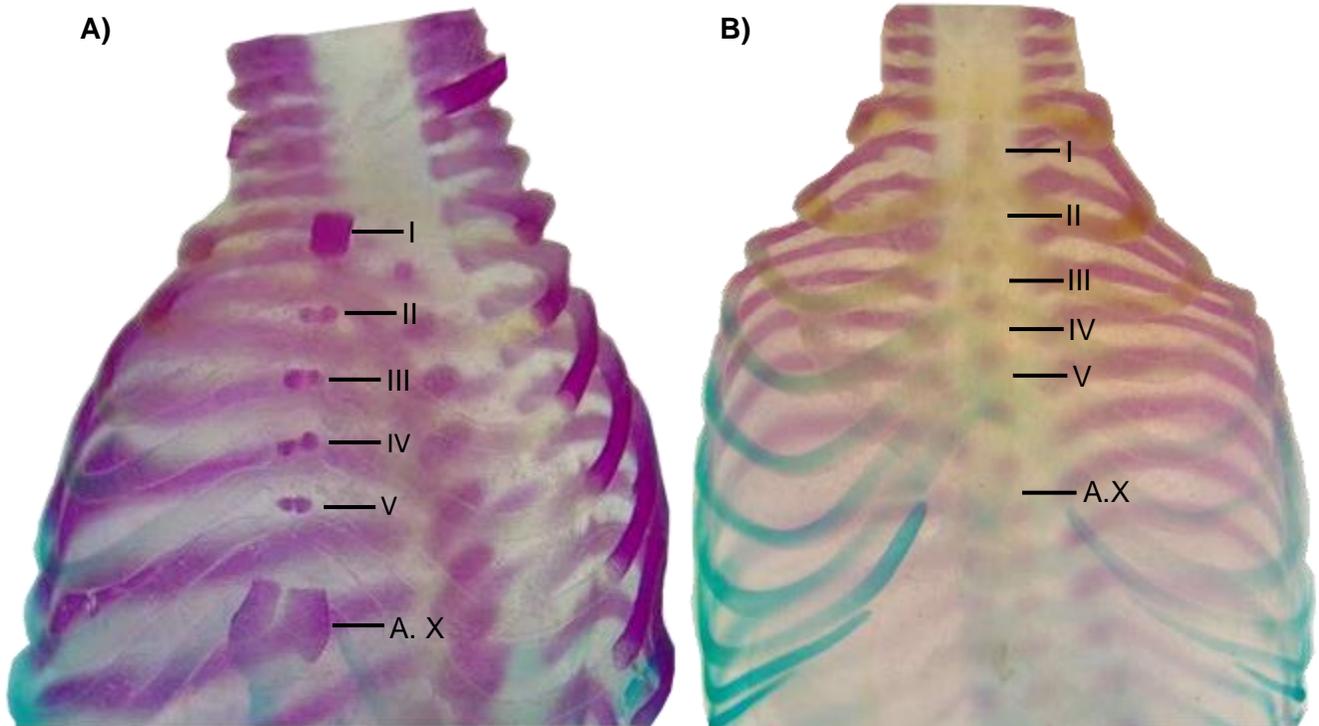


Figura 11. Centros de osificación (CO) del esternón, compuesto por Esternebras I-V y Apósis Xifoides (A.X). A) Feto del grupo Control Negativo, muestra osificación completa de los CO de la A.X y las Esternebras; B) Feto del grupo tratado con V_2O_4 [1.5 mg/g], Presenta ausencia de los CO de la A.X y las Esternebras. Estereomicroscopio Leica EZ4W (8x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIEZ.



Figura 12. Feto del grupo tratado con V_2O_4 [4.5 mg/g], Presenta primordio de costilla en la vértebra cervical 7 (C7) Estereomicroscopio Leica EZ4W (12x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIEZ.

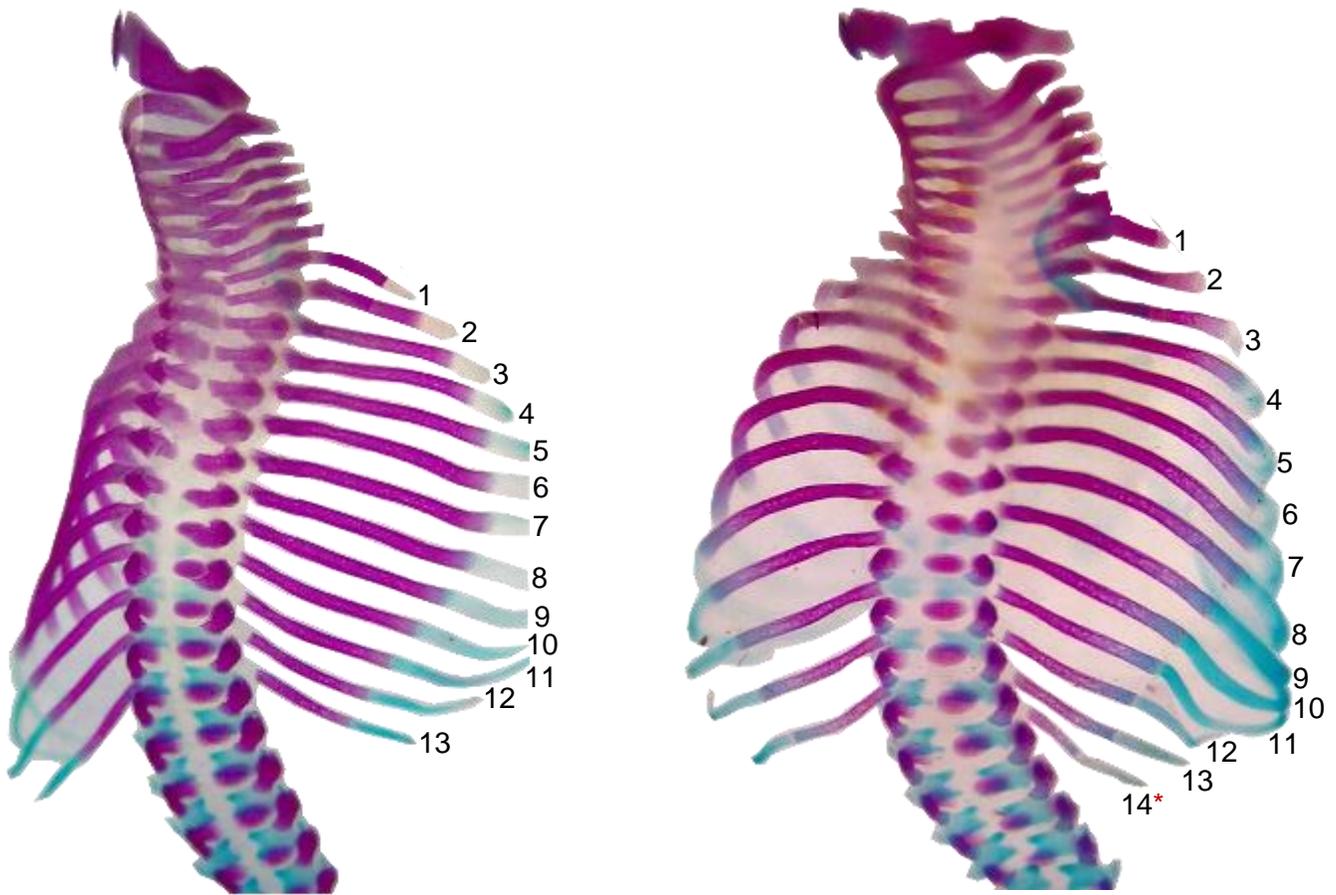


Figura 13. Costillas y columna vertebral. A) Feto del grupo Control Negativo, muestra una osificación completa de todos los huesos y se compone por 13 pares de costillas. B) Feto del grupo tratado con V_2O_4 [3 mg/g], presenta costillas supernumerarias de lado derecho, compuesto por 14 costillas*. Estereomicroscopio Leica EZ4W (8x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIEZ.

Extremidades Superiores

En la tabla 7, se presenta el porcentaje de fetos con anomalías en los huesos de las extremidades superiores, donde se observa que los fetos del grupo tratado con 1.5 mg/g presentaron un incremento en el porcentaje de anomalías en los huesos cúbito y radio (Figura 14B). Además, los descendientes de los tres grupos tratados con V_2O_4 (1.5, 3 y 4.5 mg/g) presentaron un aumento en el porcentaje de anomalías en la osificación de los metacarpos (Figura 14B), todo esto con respecto al grupo control negativo.

Los fetos del grupo tratado con mitomicina C, vía ip (Control Positivo), presentaron un incremento significativo con respecto al grupo control negativo, en el porcentaje de anomalías en escápula, húmero, cúbito, radio, metacarpos y falanges, así como en el número de centros de osificación en los metacarpos (Tabla 7).

Con respecto a la longitud de los huesos no se encontraron anomalías en los fetos obtenidos de los tratamientos con V_2O_4 con respecto al grupo control negativo.

Tabla 7. Anormalidades esqueléticas de extremidades superiores en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a un tratamiento subcrónico vía aérea con tetroóxido de vanadio (V₂O₄).

	Control Negativo	Control Positivo	V ₂ O ₄ [mg/g]		
			[1.5]	[3]	[4.5]
<i>n</i>	62	64	62	84	68
Fetos con anormalidades (%)					
Escápula	0.00	19.35*	0.00	0.00	0.00
L	3.60 ± 0.21	3.42 ± 0.32	3.60 ± 0.19	3.60 ± 0.18	3.80 ± 0.22
Húmero	0.00	14.51*	1.61	0.00	0.00
L	3.37 ± 0.20	3.26 ± 0.20	3.34 ± 0.14	3.36 ± 0.16	3.51 ± 0.18
Cúbito	0.00	17.74*	53.22*	0.00	0.00
L	3.48 ± 0.23	3.41 ± 0.31	3.60 ± 0.14	3.58 ± 0.19	3.81 ± 0.26
Radio	0.00	17.74*	53.22*	0.00	0.00
L	2.60 ± 0.26	2.52 ± 0.26	2.65 ± 0.16	2.72 ± 0.16	2.87 ± 0.21
Clavícula	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Carpos	0.00	1.61	0.00	0.00	0.00
Metacarpos	1.61	19.35*	75.80*	25.00*	17.64*
No. de Huesos	2.98 ± 0.49	2.29 ± 0.69 ^a	3.00 ± 0.00	2.91 ± 0.38	3.15 ± 0.72
Falanges	0.00	24.19*	0.00	1.19	0.00
L	1.34 ± 0.26	1.39 ± 0.23	1.51 ± 0.14	1.63 ± 0.13	1.68 ± 0.11
Mano L	2.46 ± 0.23	2.43 ± 0.14	2.47 ± 0.18	2.55 ± 0.14	2.61 ± 0.12

n = Número de fetos analizados

(L) Longitud de hueso, los valores de longitud se presentan como X±DE, Media ± Desviación Estándar.

* p<0.05, Z para proporciones vs Control negativo

^a p<0.05, *t* de Student vs Control negativo

A)



B)

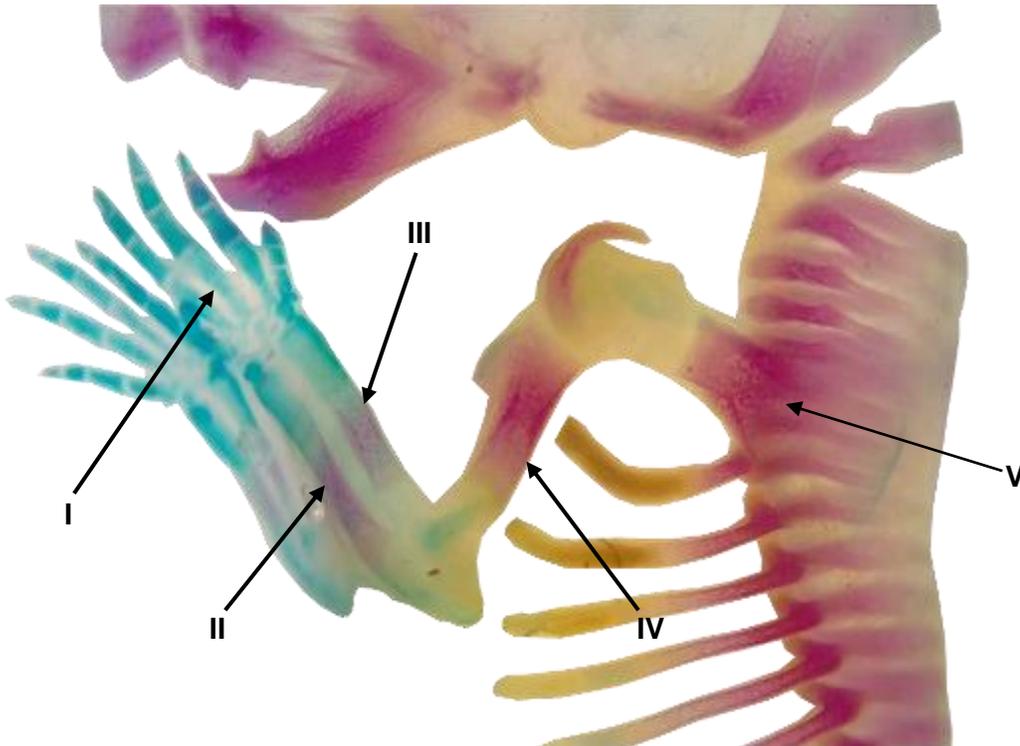


Figura 14. Huesos y centros de osificación (CO) de las extremidades superiores. A) Extremidad inferior de feto del Grupo Control Negativo, muestra una osificación completa de todos los huesos; B) Extremidad inferior de feto del grupo tratado con V₂O₄ [1.5 mg/g]; I. Ausencia de CO en los metacarpos; II. Poca osificación del cúbito; III. Poca osificación del radio; IV. Osificación incompleta del húmero; V. Osificación incompleta de escápula; Adicionalmente se puede observar una osificación incompleta en las vértebras y algunos huesos craneales. Estereomicroscopio Leica EZ4W (8x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIÉZ.

Extremidades Inferiores

En la tabla 8, se presenta el porcentaje de fetos con anomalías en los huesos de las extremidades inferiores, donde se observa que los fetos del grupo tratado con 1.5 mg/g presentaron un aumento significativo con respecto al grupo control negativo, en el porcentaje de anomalías en los huesos de la cadera (ilion, isquion y pubis), así como en fémur, tibia, peroné y metatarsos (Figura 15B), siendo este grupo el que presentó mayor alteración en la osificación de las extremidades inferiores. Por otra parte, los descendientes de los grupos tratados con 3 mg/g y 4.5 mg/g únicamente presentaron un incremento en el porcentaje de anomalías en la osificación de los metacarpos.

Al administrar Mitomicina C, vía ip (Control Positivo) se encontró un incremento significativo con respecto al grupo control negativo en el porcentaje de fetos con anomalías en la osificación de los huesos fémur, tibia, peroné, así como en los centros de osificación de los metatarsos y en los huesos de la cadera (ilion, isquion y pubis), así como en el número de centros de osificación en los metatarsos (Tabla 8).

Respecto a la longitud de los huesos de las extremidades posteriores no se encontraron anomalías en los tratamientos con V_2O_4 con respecto al grupo control negativo.

Tabla 8. Anormalidades esqueléticas de extremidades inferiores en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a un tratamiento subcrónico vía aérea con tetroóxido de vanadio (V₂O₄).

	Control Negativo	Control Positivo	V ₂ O ₄ [mg/g]		
			[1.5]	[3]	[4.5]
<i>n</i>	62	64	62	84	68
Fetos con anormalidades (%)					
Ilión	1.61	10.29*	30.64*	0.00	0.00
Isquión	1.61	11.76*	41.93*	0.00	0.00
Pubis	1.61	11.76*	45.16*	0.00	0.00
Femúr	0.00	11.76*	33.87*	0.00	0.00
L	3.01 ± 0.25	2.88 ± 0.29	3.07 ± 0.16	3.09 ± 0.14	3.23 ± 0.25
Tibia	0.00	11.76*	48.38*	0.00	0.00
L	2.82 ± 0.34	2.64 ± 0.23	2.85 ± 0.22	2.8 ± 0.15	2.93 ± 0.21
Peroné	1.61	11.76*	69.35*	0.00	0.00
L	2.52 ± 0.25	2.50 ± 0.31	2.67 ± 0.17	2.68 ± 0.15	2.80 ± 0.23
Tarsos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Metatarsos	0.00	44.11*	75.80*	25.00*	23.52*
No. de Huesos	2.98 ± 0.49	2.70 ± 0.85 ^a	3.00 ± 0.00	2.91 ± 0.38	3.15 ± 0.72
Falanges	1.61	2.94	0.00	1.19	0.00
L	1.68 ± 0.23	1.57 ± 0.18	1.71 ± 0.13	1.77 ± 0.15	1.89 ± 0.15
Pie L	4.20 ± 0.22	3.94 ± 0.34	3.99 ± 0.26	3.97 ± 0.24	4.25 ± 0.29

n = Número de fetos analizados

(L) Longitud de hueso, los valores de longitud se presentan como M±DE, Media ± Desviación Estándar.

* p<0.05, Z para proporciones vs Control negativo

^a p<0.05, *t* de Student vs Control negativo

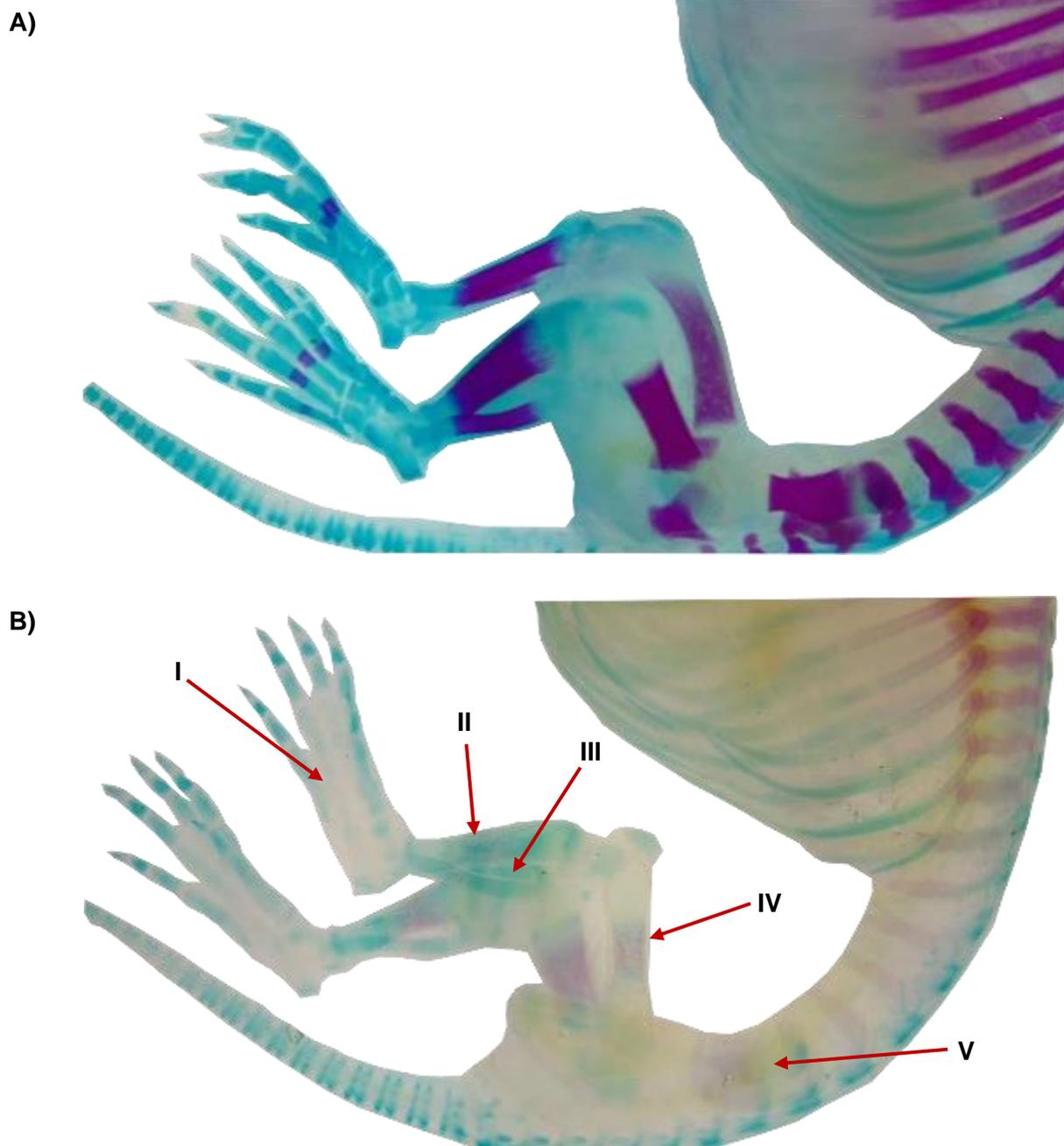


Figura 15. Huesos y centros de osificación (CO) de las extremidades inferiores. A) Extremidad inferior de feto del Grupo Control Negativo, muestra una osificación completa de todos los huesos; B) Extremidad inferior de feto del grupo tratado con V_2O_4 [1.5 mg/g]; I. Ausencia de CO en los metatarsos; II. Retraso en la osificación de la tibia; III. Retraso en la osificación del peroné; IV. Retraso en la osificación del hueso fémur; V. Retraso en la osificación de los huesos de la cadera (ilion, isquion y pubis). Estereomicroscopio Leica EZ4W (8x). Microfotografías. Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, UMIEZ.

Análisis de correlación

El análisis de correlación con coeficiente de Pearson mostró una relación negativa alta, en la mayoría de las regiones corporales, entre el porcentaje de anomalías esqueléticas y la concentración de V_2O_4 a la que fueron expuestos los machos progenitores, únicamente las anomalías en el número de costillas, no presentaron correlación (Tabla 9).

Tabla 9. Análisis de correlación con coeficiente de Pearson (r) entre Anomalías esqueléticas (por región corporal) y Concentración (V_2O_4).

Regiones corporales	r	Correlación	Magnitud
Cabeza	-0.99	Negativa	Alta
Extremidades Superiores	-0.87	Negativa	Alta
Extremidades Inferiores	-0.85	Negativa	Alta
Esternebras	-0.94	Negativa	Alta
Vértebras	-0.54	Negativa	Alta
Cartílagos intercostales	-0.91	Negativa	Alta
Costillas	-0.06	Negativa	Inexistente

Discusión

Los estudios en humanos, modelos animales e *in vitro* sugieren que los metales pesados pueden ejercer efectos adversos sobre la salud reproductiva de los hombres. Los metales pesados pueden afectar aparato reproductor masculino, alterando el eje hipotalámico-pituitario-gonadal o afectando directamente la espermatogénesis, disminuyendo la calidad del semen (Leopardi *et al.*, 2005; Mendiola *et al.*, 2011). Se ha demostrado que los metales tóxicos como el **vanadio** pueden acumularse en los testículos y/o epidídimo, alterando la función reproductiva y endocrina (Danielsson *et al.*, 1984; Clarkson *et al.*, 1985; Thompson y Bannigan, 2008; Castellini *et al.*, 2009).

Como ocurre con muchos agentes metálicos, los efectos del vanadio sobre la reproducción dependen de varios factores, como la forma química del compuesto, estado o número de oxidación del vanadio en el compuesto, vía de exposición, duración, y dosis (Domingo, 1996). En muchos estudios *in vitro*, las células de Leydig y las células germinales se han identificado como los principales objetivos de la citotoxicidad (Laskey y Phelps, 1991). Además, los metales son capaces de afectar la unión entre las células de Sertoli (Barrera Hematotesticular). Los mecanismos propuestos de toxicidad por metales incluyen **estrés oxidativo, inflamación y/o apoptosis** (Bortner y Cidlowski, 2004).

Uno de los principales mecanismos de daño se puede dar a través del estrés oxidativo, puesto que, se sabe que el vanadio produce especies reactivas de oxígeno (ROS), provocando peroxidación lipídica estructural y alteración de la actividad antioxidante de algunas enzimas, principalmente superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) (Byczkowski y Kulkarni, 1998; Aragón *et al.*, 2005; Marouane *et al.*, 2011). Los espermatozoides son sensibles al estrés oxidativo debido al alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados en su membrana celular, estas células también tienen bajos niveles de enzimas citoplasmáticas para atrapar las ROS, lo que provoca peroxidación lipídica (Altamirano-Lozano *et al.*, 2014).

Algunos autores han investigado los efectos de los compuestos de vanadio sobre las células reproductivas, reportando una amplia variedad de daños sobre estas. Por ejemplo, Aragón *et al.* (2005). Realizó un estudio administrando tetraóxido de vanadio (V_2O_4) por vía oral a ratones machos CD-1 en dosis diarias de 9,4 y 18,8 mg/kg para 60 d, reportando que movilidad y viabilidad de los espermatozoides disminuyó, se presentaron cambios en la morfología de los espermatozoides. También se observaron células germinales degenerativas en el epitelio

seminífero y un mayor número de células apoptóticas. Jain *et al.* (2007) administraron por vía oral sulfato de vanadilo (VOSO_4) 100 mg/kg a ratas macho diariamente durante 60 días, cinco días antes del final del tratamiento, cada macho se colocó con dos hembras sin tratar, determinando que la tasa de fertilidad disminuyó junto con el número de crías por camada. En este estudio, los autores proponen que todos los hallazgos mencionados anteriormente podrían haber sido causados por el estrés oxidativo o por la falta de generación de energía para las enzimas metabólicas.

Como se ha discutido anteriormente las células reproductivas sufren daños en diversas estructuras, cuando los organismos son expuestos a metales como el vanadio y sus diversos compuestos, provocando por consecuencia alteraciones en la reproducción de aquellos organismos dañados.

Anormalidades morfológicas y esqueléticas

En este trabajo se ha encontrado que el V_2O_4 produce anomalías durante el desarrollo embrionario y fetal, principalmente en la osificación de los huesos y en la morfología de las crías descendientes de ratones macho CD-1 tratados mediante vía aérea, esto puede deberse a los daños generados en las células reproductivas de los machos progenitores por el tratamiento de V_2O_4 , ya que se han identificado **asociaciones significativas entre las características del estilo de vida paterno, la calidad del semen, el desarrollo embrionario, el crecimiento fetal y placentario y la salud de la descendencia** (Watkins *et al.*, 2020; Khoshkerdar *et al.*, 2021). Por lo cual se sabe que la mala calidad seminal tiene efectos sobre la salud materna y en la salud fetal debido probablemente al papel que desempeñan los genes de impronta paternos en el desarrollo embrionario y fetal.

El desarrollo embrionario normal requiere un genoma tanto materno como paterno. Se ha sugerido la existencia de genes cuya expresión depende de si se heredan de la madre o del padre. Esta regulación específica de la expresión génica se denomina "**impronta genómica**", y los genes involucrados son denominados "**genes impronta**" (Tabla 10).

Tabla 10. Lista de DMR de línea germinal identificados en el genoma del ratón.

Locus de impronta	Cromosoma	Localización de línea germinal DMR	Origen parental de la metilación	ICR?	Genes impronta asociados y ARN no codificante	Referencias (línea germinal DMR/ICR)
<i>Zdbf2</i>	1	10 kb aguas arriba <i>Zdbf2</i> Exon1	Paterno	ND		Kobayashi <i>et al.</i> (2009)
<i>Mcts2</i>	2	<i>Mcts2</i> Promotor / Exon1	Materno	ND	<i>H13</i>	Wood <i>et al.</i> (2007)
<i>Gnas</i>	2	Promotor <i>GnasXL/Nespas</i> y promotor <i>Gnas 1A</i> (dominio que contiene dos DMR de línea germinal)	Materno	ICR	<i>Gnasxl; Nesp; Nespas; Gnas exon1A</i>	Coombes <i>et al.</i> (2003), Liu <i>et al.</i> (2000), and Williamson <i>et al.</i> (2004, 2006)
<i>Peg10</i>	6	Promotor <i>Peg10/Sgce</i>	Materno	ND	<i>Sgce; Ppp1r9a; Pon1; Pon2; Pon3; Asb4, Calcr, Tpf12</i>	Ono <i>et al.</i> (2003)
<i>Mest (Peg1)</i>	6	Promotor de <i>Mest/exon1</i>	Materno	ND	<i>Klf14; Cpgg2; Cpgg2as; Mirn335</i>	Lucifero <i>et al.</i> (2004)
<i>Nap1L5</i>	6	Promotor <i>Nap1L5/exon1</i>	Materno	ND		Woods <i>et al.</i> (2007)
<i>Peg3</i>	7	Promotor <i>Peg3/exon1</i>	Materno	ND	<i>Zim1; Zim2; Zim3; Usp29; Zfp264</i>	Kim <i>et al.</i> (2003)
<i>Snrpn</i>	7	Promotor <i>snrpn/exon1</i>	Materno	ICR	<i>Atp10a; Ube3a; Snurf; Ndn; Magel2; Mkrn3; Pec2; Pec3; Peg12; Ube3a-as; Zfp127as; SnoRNas</i>	Shemer <i>et al.</i> (1997) and Bielinska <i>et al.</i> (2000)
<i>Inpp5f</i>	7	Promotor <i>Inpp5f-V2/exon1</i>	Materno	ND	<i>Inpp5f-V2; Inpp5f-V3</i>	Wood <i>et al.</i> (2007)
<i>Igf2</i>	7	2 kb aguas arriba de <i>H19 (H19DMR)</i>	Paterno	ICR	<i>H19; Ins2</i>	Tremblay <i>et al.</i> (1997) and Thorvaldsen <i>et al.</i> (1998)
<i>Kcnq1</i>	7	Promotor <i>Kcnq1-ot 1 (Kvdmr1)</i>	Materno	ICR	<i>Th; Ascl2; Tspan32; Cd81; Tssc4; Kcnq1-ot1; Cdkn1c; Slc22a18; Phlda2; Nap14; Osbp15;</i>	Fitzpatrick <i>et al.</i> (2002) and Yastsuki <i>et al.</i> (2002)
<i>Rasgrf1</i>	9	30 kb aguas arriba de <i>Rasgrf1</i> exon1	Paterno	ICR	<i>A19; Mir184</i>	Shibata <i>et al.</i> (1998) and Yoon <i>et al.</i> (2002)
<i>Plagl1 (Zac1)</i>	10	Promotor <i>Plagl1/exon1</i>	Materno	ND		Smith <i>et al.</i> (2002)
<i>Grb10</i>	11	<i>Grb10</i> CpG island2 - Promotor específico del cerebro	Materno	ICR	<i>Ddc; Cobl; Grb10as</i>	Arnaud <i>et al.</i> (2003) and Shiura <i>et al.</i> (2009)
<i>U2af1-rs1 (Zrsr1)</i>	11	Promotor <i>U2af1-rs1/exon1</i>	Materno	ND	<i>Commd1</i>	Wood <i>et al.</i> (2007)
<i>Dlk1</i>	12	13 kb aguas arriba de <i>Gtl2 (IG-DMR)</i>	Paterno	ICR	<i>Begain; Dio3; Rtl1; Gtl2; Rian; C/D SnoRNAs; Mirg; miRNAs</i>	Lin <i>et al.</i> (2003) and Takada <i>et al.</i> (2002)
<i>KcnK9</i>	15	Promotor <i>peg13</i>	Materno	ND	<i>Peg13</i>	Ruf <i>et al.</i> (2007)
<i>Slc38aA</i>	15	Promotor <i>slc38a4</i>	Materno	ND		Chotalia <i>et al.</i> (2009)
<i>Igf2r</i>	17	Promotor <i>Airn</i>	Materno	ICR	<i>Airn; Slc22a2; Slc22a3</i>	Okamura <i>et al.</i> (2000)
<i>Impact</i>	18	Promotor de <i>Impact/exon1</i>	Materno	ND		Stoger <i>et al.</i> (1993) and Wutz <i>et al.</i> (2001)

En el ratón se han identificado más de 100 genes impronta. Aproximadamente la mitad de los genes impronta se expresan a partir del alelo materno y la otra mitad a partir del **alelo paterno** (Arnaud, 2010). Los genes impronta se encuentran en todo el genoma muchos de ellos tienen funciones en la **regulación del crecimiento y desarrollo fetal y/o placentario** (Smith *et al.*, 2006; Arnaud, 2010). Como consecuencia, las perturbaciones en la expresión de genes impronta son una causa importante de varios síndromos de crecimiento (Hirasawa y Feil, 2010; Arnaud, 2010).

Un ejemplo bien estudiado es la expresión paterna del **gen del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-II)** que promueve el crecimiento de la placenta, esto se equilibra con el control materno de la expresión del receptor IGF-II que reduce la biodisponibilidad de IGF-II y, por lo tanto, regula el crecimiento, lo que demuestra una interacción crucial entre la madre y el padre en el desarrollo de la placenta (Constância *et al.*, 2002; Khoshkerdar *et al.*, 2021).

El IGF-II es de gran relevancia debido a que este desempeña una gran variedad de funciones (Figura 3), además de ser codificado por un gen impronta de origen paterno en ratón (*Igf-II*) (Tabla 10), por lo cual, alguna alteración en la expresión de este gen podría ser uno de los principales mecanismos de acción por el cual se pueden explicar las anomalías encontradas en este estudio.

Anormalidades morfológicas

En este estudio los tratamientos con V_2O_4 presentaron aumento de porcentaje de fetos con anomalías morfológicas, ya que los tres grupos (1.5, 3 y 4.5 mg/g) presentaron este incremento de anomalías en una o más estructuras evaluadas. Esta serie de anomalías morfológicas son indicio de un desarrollo embrionario anormal, tal vez derivado de una anormal expresión y acción de IGF-II, ya que se ha establecido que el factor de crecimiento similar a la insulina II (IGF-II), es importante para el crecimiento embrionario normal, está codificado por el gen *Igf-ii* de impronta, expresado sólo a partir del alelo paterno en la mayoría de los tejidos (DeChiara *et al.*, 1991; Eggenschwiler *et al.*, 1997). El gen del factor de crecimiento similar a la insulina II (*IGF-II*) se expresa de forma paterna en el feto y la placenta (DeChiara, *et al.*, 1991; Constância *et al.*, 2002). Eggenschwiler *et al.* (1997) estudiaron los efectos de la sobreexpresión de *Igf-II* en ratones mutantes. El exceso de IGF-II provocó sobrecrecimiento somático, visceromegalia, placentomegalia, onfalocele y defectos cardíacos y suprarrenales. Además, los embriones de ratones mutantes dobles presentan defectos esqueléticos y paladar hendido, evidenciando daños en múltiples estructuras por una alteración en la expresión de este gen.

Un caso particular de anomalías morfológicas encontradas en este estudio es la presencia de hematomas, ya que los tres grupos tratados con V_2O_4 (1.5, 3 y 4.5 mg/g) mostraron un porcentaje elevado de fetos con presencia de hematomas en cuerpo y cabeza (mayor al 50%), siendo todos estadísticamente significativos con respecto al grupo control negativo. Un posible mecanismo por el cual puede ocurrir esto, es por una incorrecta expresión de *Igf-II*, ya que IGF-II tiene función en el proceso de Angiogénesis (Figura 3). Algunos estudios han revelado el papel del IGF-II en la angiogénesis. Debido a que *Igf-II* promueve la diferenciación mesodérmica y luego endotelial de células madre embrionarias de ratón. En las células HUVEC, el IGF-II activa la “germinación”, lo que provoca la activación de las células endoteliales y la vasodilatación.

IGF-II e IGF-1R son esenciales para el mantenimiento de las **células tip**, un tipo particular de célula endotelial responsable de guiar la angiogénesis de *nov*o. La unión de IGF-II a IGF1-R activa la vía de señalización PI3K/Akt, activando los programas de migración celular necesarios para la angiogénesis. Las proteínas de unión a IGF, como IGFBP-3 e IGFBP-4, modulan la biodisponibilidad de IGF-II, que regula el efecto de IGF-II en la angiogénesis por brotes. El IGF-II también participa en la angiogénesis a través de su papel en el mantenimiento de los niveles del **factor α** inducido por hipoxia (HIF- α), lo que lleva a la expresión del gen del **factor de crecimiento del endotelio vascular** (VEGF) (Pieciewicz *et al.*, 2012; Dallinga, *et al.*, 2018; Dallinga, *et al.*, 2020; Sélénou *et al.*, 2022). Gracias a esto se sabe que IGF-II desempeña un papel muy importante en el proceso de la angiogénesis y probablemente una expresión incorrecta de este factor de crecimiento podría inducir los hematomas observados en los fetos descendientes de machos tratados con V_2O_4 .

Anormalidades esqueléticas

Este estudio también demostró los efectos sobre la osificación durante el desarrollo embrionario y fetal de las crías de machos tratados con V_2O_4 , encontrando anomalías en la osificación, como retraso, poca osificación y ausencia de la osificación, en todos los grupos, principalmente en la región del esqueleto axial, donde los tres grupos presentaron mayor cantidad de huesos con anomalías, por su parte en la región craneal el grupo que presentó un mayor número de anomalías fue el grupo tratado con 1.5 mg/g, el cual presentó un aumento de anomalías en todos los huesos, excepto en el hueso Hioides. Sin embargo, los tres grupos tratados con V_2O_4 presentaron un aumento en el porcentaje de fetos con anomalías en la osificación del hueso occipital. Las extremidades superiores e inferiores también presentaron anomalías, pero en menor cantidad, siendo de igual forma el grupo tratado con 1,5 mg/g el grupo con más anomalías registradas, sin embargo, la osificación de los metacarpos y metatarsos también se vio afectada en los tres grupos tratados con V_2O_4 , lo anterior demuestra una serie de anomalías encontradas en la osificación de los huesos de una o más regiones del esqueleto de fetos descendientes de ratones macho tratados con V_2O_4 .

La presencia de estas anomalías también puede explicarse a través de la expresión de *Igf-II*, ya que se ha reportado la participación de IGF-II en la osificación (Figura 3). Varios estudios en ratones han demostrado que *Igf-II* participa en la osificación endocondral dentro de la placa

de crecimiento, que rige el crecimiento óseo. La *Igf-II* autocrina en la placa de crecimiento activa las vías de señalización PI3K/Akt y TGF- β , lo que conduce a la expresión de factores proliferativos que estimulan la proliferación de condrocitos, **factores proosteogénicos**, como BMP-9 y fosfatasa alcalina, que median la osificación, y constituyentes del cartílago, como los **proteoglicanos** (Hamamura *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2010; Uchimura *et al.*, 2017; Sélénou *et al.*, 2022). Debido a todas estas funciones una expresión incorrecta de *Igf-II* podría provocar retrasos y anomalías en la osificación, tal vez mediante los daños generados en el ADN de las células espermáticas de los ratones macho tratados con V_2O_4 , ya que IGF-II como se mencionó anteriormente es un “*gen impronta*” de origen paterno, por lo cual el daño en el ADN de las células germinales podría comprometer la integridad y por tanto la expresión de *Igf-II* en las crías descendientes de machos tratados con V_2O_4 .

Además de los posibles efectos mencionados anteriormente relacionados con la integridad genómica de los espermatozoides, también es de suma importancia mencionar la **complejidad epigenética** de los espermatozoides maduros de mamíferos. Tanto en hombres como en ratones, los espermatozoides contienen una cantidad pequeña, pero significativa, de histonas, que se encuentran en genes clave de pluripotencia y desarrollo, como **Oct4** (Hammoud *et al.*, 2011; Khoshkardar *et al.*, 2021), lo que sugiere que pueden influir en la expresión génica temprana del cigoto y en la determinación del linaje del trofoblasto. Por otra parte, los niveles perturbados de metilación del ADN espermático se han relacionado con tasas reducidas de desarrollo embrionario (Aston *et al.*, 2015; Khoshkardar *et al.*, 2021).

De lo mencionado anteriormente es destacable el factor 4 de transcripción de unión al octámero (**OCT4**), el cual forma parte de un grupo de factores de transcripción, denominados factores de pluripotencia que controlan el desarrollo embrionario tanto in vivo como en cultivo mediante la regulación de una gran batería de genes diana (Nichols y Smith, 2012; Tiana *et al.*, 2022). La pluripotencialidad, es la capacidad de una célula para dar lugar a derivados de todas las capas germinales embrionarias, se produce en células madre embrionarias (**ES**) cultivadas y durante un breve período durante el desarrollo del embrión de mamífero rol en el cual el factor OCT4 tiene gran relevancia (Tiana *et al.*, 2022).

Es muy importante considerar el papel de estos factores de pluripotencia en el desarrollo de los embriones, ya que a través de este mecanismo es posible explicar la presencia de anomalías esqueléticas en el patrón vertebral, encontradas en el presente estudio, donde

los tres grupos tratados con V₂O₄ (1.5, 3 y 4.5 mg/g) mostraron un aumento en el porcentaje de fetos con costillas supernumerarias y un consecuente aumento en el porcentaje de anomalías en vértebras lumbares por la transformación homeótica de la vértebra lumbar L1 debido a la presencia de una costilla extra. Además, el grupo tratado con 4.5 mg/g presentó un aumento en el porcentaje de fetos con anomalías en vértebras cervicales, principalmente debidas a la presencia de un primordio de costilla en la vértebra cervical C7.

Se ha estudiado la participación del factor OCT4 en la regulación de la expresión de los genes *Hox* y por ende su función como un regulador clave de la longitud del tronco en embriones de vertebrados, además de conferir las funciones adecuadas en la generación de los diferentes patrones vertebrales observados a lo largo del eje anteroposterior del cuerpo.

Aires *et al.* (2016) a través de embriones transgénicos que expresaban Oct4 bajo el control del potenciador Cdx2 (Cdx2-Oct4 trans genics), encontraron que los fetos transgénicos Cdx2-Oct4 tenían fenotipos anormales, mostraron un aumento variable en el número de segmentos torácicos y lumbares en sus esqueletos axiales, un número anormalmente grande de costillas (hasta unas 30 en el espécimen más afectado). El notable aumento en el número de costillas observado en los esqueletos Cdx2-Oct4 sugirió una activación retrasada de los genes *Hox* posteriores. Los análisis de expresión confirmaron que los genes *Hox* del grupo 10 se activaron a niveles más posteriores que en los embriones de tipo silvestre, esto indicó que la activación de los genes del grupo 10 de *Hox* se retrasó particularmente en el mesodermo paraxial de los transgénicos Cdx2-Oct4.

Tiana *et al.* (2022) también estudiaron el papel de Oct4 en la activación de los genes *Hox*, utilizando un modelo de ratón con pérdida de función Oct4 examinaron la respuesta de los 39 genes *Hox* a Oct4, encontraron que Oct4 regulaba significativamente a la baja 23 genes *Hox* cuando se expresaba hasta el día de gestación 7.5, y regulaba al alza 24 cuando se expresaba hasta el día de gestación 9.5. Sugieren que Oct4 regula globalmente los grupos *Hox* y forma parte del complejo aparato regulador que asegura la expresión adecuada del gen *Hox*. encontraron que en múltiples instancias y poblaciones celulares durante el desarrollo de vertebrados (gastrulación, extensión del tronco y la cresta neural) donde los factores de pluripotencia (y más específicamente factores similares a POU5 como OCT4) podrían estar regulando los genes *Hox*, concluyendo que **Oct4 afecta la expresión de *Hox*.**

Se sabe que la sobreexpresión de un gen *Hox* puede causar **transformaciones homeóticas** (Kessel y Gruss, 1991; Carapuco *et al.*, 2005; Rojas *et al.*, 2014; Ojeda *et al.*, 2014). Debido al papel en la regulación de Oct4 sobre los genes *Hox*, al producirse alteraciones en la integridad de este factor Oct4 se puede alterar la expresión de los genes *Hox*, lo que daría como resultado las anomalías en el número de costillas. También es importante mencionar que el establecimiento ordenado de las vértebras (cervicales, torácicas, lumbares, sacras y caudales), depende de la expresión de los genes *Hox*, quienes especifican la identidad posicional a lo largo del eje anteroposterior (Wolpert, 2009; Ojeda *et al.*, 2014).

Ojeda *et al.* (2014) evaluaron los efectos del ácido retinoico sobre el desarrollo del esqueleto axial en embriones de ratón *Mus Musculus*, reportando costillas supernumerarias y transformación de vértebras lumbares en torácicas, la cual asocian a que la expresión del gen *Hox10* fue desplazada posteriormente, agregándose un set adicional de costillas en lo que corresponde a la primera vértebra lumbar, este mismo fenómeno se presentó en los fetos descendientes de machos tratados con V_2O_4 , evaluados en este estudio.

Análisis de correlación

El análisis de correlación demostró una relación negativa alta entre las anomalías esqueléticas en los fetos, en la mayoría de las secciones corporales, y la concentración de V_2O_4 a la que fueron expuestos los machos progenitores. Esto nos indica que existe una relación dosis-efecto inversa o negativa, es decir, que a medida que la concentración de V_2O_4 aumenta, el efecto en la osificación de los fetos descendientes disminuye. Este fenómeno puede deberse a que el vanadio es un metal, y como tal, genera diferentes efectos sobre las células con las que interactúa (Díaz y Roldán, 2021). López-Diazguerrero *et al.*, (2013), establece una serie de procesos conservados durante los cuales una dosis baja o sub-letal de un agente o estímulo estresante es capaz de activar una respuesta adaptativa que incrementa la resistencia de una célula u organismo frente a un estrés más severo, en esto consiste el efecto de **hormesis**. Este efecto de hormesis podría explicar el comportamiento del V_2O_4 en este estudio, como se describió anteriormente a concentraciones bajas indujo una mayor cantidad de anomalías esqueléticas las cuales disminuyeron al aumentar la dosis, produciendo una relación dosis-efecto negativa.

Conclusiones

- El tetraóxido de vanadio (V_2O_4) en este estudio no indujo embrio-fetotoxicidad. Sin embargo, se observaron variaciones en los parámetros evaluados, por lo cual es posible que los tratamientos con V_2O_4 en machos progenitores generen efectos tóxicos sobre el desarrollo embrio-fetal pero no con las concentraciones utilizadas en este estudio.
- Los fetos descendientes de machos tratados con V_2O_4 presentaron un aumento de anomalías morfológicas, evidenciando los efectos de este compuesto sobre el desarrollo embrio-fetal, mediado por el progenitor masculino.
- Respecto a las anomalías esqueléticas, los tratamientos a machos progenitores con V_2O_4 tuvieron un efecto adverso en las crías descendientes sobre la osificación de diversos huesos.
- Las anomalías esqueléticas en los fetos son inversamente proporcionales a la concentración de V_2O_4 a la que fueron expuestos los machos progenitores, indicando así que existe una relación dosis-efecto negativa.

Referencias Bibliográficas

Aires R, Jurberg A, Leal F, Nóvoa A, Cohn MJ, y Mallo M. (2016). Oct4 Is a Key Regulator of Vertebrate Trunk Length Diversity. *Developmental Cell*, 38(3), 262–274.

Aitken RJ, Fisher H. (1994). Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioessays*. 16: 259-267.

Alessio L, Marinoni M, y Dell'Orto A. (1988). Biological monitoring of vanadium. En: Biological monitoring of toxic metals. (W.T.Clarkson, L.Friberg, F. Nordberg y R. Sanger, Eds.) Plenum Press, Nueva York, pp. 427-436.

Al-Saleh I, Shinwari N, Mashhour A, Mohamed G, Rabah A. (2011). Heavy metals (lead, cadmium and mercury) in maternal, cord blood and placenta of healthy women. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 214:79-101.

Altamirano B. (1994). Manual de manejo de animales de laboratorio. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México, pp. 97.

Altamirano-Lozano M, Álvarez-Barrera L, Basurto-Alcántara F, Valverde M, y Rojas E. (1996). Reprotoxic and genotoxic studies of vanadium pentoxide in male mice. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen*. 16:7–17.

Altamirano-Lozano MA, Álvarez-Barrera L, Mateos-Nava RA, Fortoul TI, y Rodríguez-Mercado JJ. (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.

Álvarez JG, Touchstone JC, Blasco L, Storey BT. (1987). Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. *Journal of Andrology*. 8:338-348.

Anderson SA, Purich DL. (1982). A reinvestigation of dynein ATPase kinetics and the inhibitory action of vanadate. *Journal of Biology Chemistry* 25; 257(12): 6656-6658.

Aragón AM, y Altamirano-Lozano MA. (2001). Sperm and testicular modifications induced by sub-chronic treatments with vanadium (IV) in CD-1 mice. *Reproductive Toxicology*. 15:145-151.

Aragón MA, Ayala ME, Fortoul TI, Bizarro P, y Altamirano-Lozano M. (2005). Vanadium induced ultrastructural changes and apoptosis in male germ cells. *Reproductive toxicology*. 127–134.

Arnaud P. (2010). Genomic imprinting in germ cells: imprints are under control. *REPRODUCTION*, 140(3), 411–423.

Baran EJ. (2000). Oxovanadium(IV) and oxovanadium(V) complexes relevant to biological systems. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 80, 1-10.

Baran EJ. (2017). Vanadio: ¿un nuevo elemento estratégico?, Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. tomo 69, pp 84114. Fecha de consulta, 09/07/2022. Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas físicas y Naturales.

Barceloux GD. (1999). Vanadium. *Clinical Toxicology*. 37: 265-278.

Baroch EF. (1983). Vanadium and vanadium alloys. En: Encyclopaedia of chemical technology. Wiley, Nueva York, pp. 673-710.

Benavides FJ, y Guénet JL. (2003). Manual de Genética de Roedores de Laboratorio. Universidad de Alcala de Henares y SECAL. 59-83.

Bhagavan S, Jandhyala G, Hom J. (1983). Physiological and Pharmaceutical properties of vanadium. *Life of Science*. 33: 1325-1340.

Bolon B. (2015). Pathology of the Developing Mouse: A Systematic Approach. CRC Press. EUA New York. 446.

Bortner CD, y Cidlowski JA. (2004). The role of apoptotic volume decrease and ionic homeostasis in the activation and repression of apoptosis. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*. 448: 313–318.

Byczkowski JZ, y Kulkarni AP. (1998). Oxidative stress and pro-oxidant biological effects of vanadium. In: *Vanadium in the environment*. Part 2 (Nriagu, J. O., ed.). New York: John

Wiley & Sons, pp. 235–264.

Callan AC, Hinwood AL, Ramalingam M, Boyce M, Heyworth J, McCafferty P, y Odland J. (2013). Maternal exposure to metals-concentrations and predictors of exposure. *Environmental Research*. 126:111-117.

Cande WZ, y Wolniak SM. (1978). Chromosome movement in lysed mitotic cells is inhibited by vanadate. *Journal of Cell Biology*. 79:573-580.

Carapuco M, Nóvoa A, Bobola N, y Mallo M. (2005). Hox genes specify vertebral types in the presomitic mesoderm, *Genes & Development*. 19(18):2116-2.

Carson BL, Ellis HV, y McCann JL. (1987). Toxicology and biological monitoring of metals in humans. Lewis Publishers, Nueva York, pp. 276-289.

Castellini C, Mourvaki E, Sartini B, *et al.* (2009). In vitro toxic effects of metal compounds on kinetic traits and ultrastructure of rabbit spermatozoa. *Reproductive Toxicology*. 27:46–54.

Chandra KA, Ghosh R, Chatterjee A, and Sarkar M. (2007a). Amelioration of vanadium-induced testicular toxicity and adrenocortical hyperactivity by Vitamin E acetate in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 306:189–200.

Chandra KA, Ghosh R, Chatterjee A, y Sarkar M. (2007b). Effects of vanadate on male rat reproductive tract histology, oxidative stress markers, and androgenic enzyme activities. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 101: 944–956.

Chen L, Jiang W, Huang J, He BC, Zuo GW, Zhang W, Luo Q, Shi Q, Zhang BQ, Wagner ER, *et al.* (2010). Insulin-like Growth Factor 2 (IGF-2) Potentiates BMP-9-Induced Osteogenic Differentiation and Bone Formation. *The Journal of Bone and Mineral Research*. (25), 2447–2459.

Clarkson TW, Nordberg GF, y Sager PR. (1985). Reproductive and developmental toxicity of metals. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 11(3), 145–154.

Colmes R, y Soloway PD. (2006). Regulation of imprinted DNA methylation. *Cytogenetic and Genome Research*. 113(1-4):122-9.

Constância M, Hemberger M, Hughes J, Dean W, 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(6892), 945–948.

Crans DC, Robin I, y Theisen LA. (1989). Interaction of trace levels of vanadium(IV) and vanadium(V) in biological systems. *Journal of the American Chemical Society*. 111, 7597-7607.

D'Cruz OJ, y Uckun FM. (2000). Vanadocene-mediated in vivo male germ cell apoptosis. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 166:186–195.

Dallinga MG, Habani YI, Kayser RP, Van Noorden CJ, Klaassen I, Schlingemann RO. (2020). IGF-Binding Proteins 3 and 4 Are Regulators of Sprouting Angiogenesis. *Molecular Biology Reports*. (47), 2561–2572.

Dallinga MG, Yetkin-Arik B, Kayser RP, Vogels IM, Nowak-Sliwinska P, Griffioen AW, van Noorden CJ, Klaassen I, Schlingemann RO. (2018). IGF2 and IGF1R Identified as Novel Tip Cell Genes in Primary Microvascular Endothelial Cell Monolayers. *Angiogenesis*. (21), 823–836.

Danielsson BR, Dencker L, Lindgren A, y Tjalve H. (1984). Accumulation of toxic metals in male reproduction organs. *Archives of Toxicology*. 7:177–180.

D'Cruz OJ, Ghosh P, Uckun MF. (1998). Spermaticidal activity of metallocene complex containing vanadium (IV) in humans. *Biology of Reproduction*. 58:1515-1526.

DeChiara TM, Robertson EJ, y Efstratiadis A. (1991). Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. *Cell*. 64, 849–859.

Díaz Mejía SA, y Roldán Reyes E. (2021). *Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de ratón por exposición aérea a vanadio*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio Institucional - UNAM.

Domingo JL. (1996). Vanadium: a review of the reproductive and developmental toxicity. *Reproductive Toxicology*. 10, 175-182.

EFSA. European Food Safety Authority. (2004). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic

Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission Related to the Tolerable Upper Intake Level of Vanadium. *EFSA J.* 33, 1-22.

Eggenschwiler J, Ludwig T, Fisher P, Leighton PA, Tilghman SM, y Efstratiadis A. (1997). Mouse mutant embryos overexpressing IGF-II exhibit phenotypic features of the Beckwith–Wiedemann and Simpson–Golabi–Behmel syndromes. *Genes & Development*, 11(23), 3128–3142.

Elinder CG, Gerhardsson L, y Oberdoerster G. (1988). Biological monitoring of toxic metals-overview. En: *Biological monitoring of toxic metals* (W.T. Clarkson, L. Friberg, F. Nordberg y R. Sanger, Eds.). Plenum Press, Nueva York, pp. 1-71.

Espinosa-Zurutuza M, González-Villalva A, Albarrán-Alonso JC, Colín-Barenque L, Bizarro-Nevarés P, Rojas-Lemus M, López-Valdéz N, y Fortoul TI. (2017). Oxidative stress as a mechanism involved in kidney damage after subchronic exposure to vanadium inhalation and oral sweetened beverages in a mouse model. *International Journal of Toxicology*. (37): 45-52.

Estrada Salas LS, y Roldán Reyes E. (2022). *Alteraciones cromosómicas en espermatogonias y médula ósea de ratón inducidas por V+4 inhalado*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio Institucional - UNAM.

French RJ, y Jones JH. (1993). Role of vanadium in nutrition: metabolism, essentiality and dietary considerations. *Life Sciences*. 52, 339-346.

Gibbons IR, Cosson MP, Evans JA, Gibbons BH, Houck B, Martinson KH, Sale WS, Tang WJ. (1978). Potent inhibition of dynein adenosine triphosphatase and of the motility of cilia and sperm flagella by vanadate. *Proceedings National Academic Science*. 75(5): 2220-4.

Guénet JL, y Bonhomme F. (2004). Origin of the Laboratory Mouse and Related Subspecies. *The laboratory Mouse*. Elsevier. 3-13. Francia.

Gutiérrez A, Gamez R, Pardo B, y Marrero G. (2009). Estrus cycle length in Sprague Dawley rats in uterus using *Roystonea regia* extract. *Revista Cubana de Farmacia*. La Habana. Cuba.

Gutiérrez-Castillo ME, Roubicek DA, Cebrián-García ME, De Vizcaya-Ruiz A, Sordo-Cedeño M, y Ostrosky-Wegman P. (2006). Effect of chemical composition on the induction DNA damage by airborne particulate matter. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 47, 199-211.

Hamamura K, Zhang P, Yokota H. (2008). IGF2-Driven PI3 Kinase and TGFbeta Signaling Pathways in Chondrogenesis. *Cell Biology International*. (32), 1238–1246.

Harkness JE, y Wagner JE. (1989). *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*. Lea & Febiger. USA. tercera edición. p 44.

Heinz A, Rubinson KA, y Grantham JJ. (1982). The transport and accumulation of oxovanadium compounds in human erythrocytes in vitro. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 100, 593-612.

Hemberger M. (2007) Epigenetic landscape required for placental development. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 64, 2422–2436.

Hirasawa R, y Feil R. (2010). Genomic imprinting and human diseases. *Essays in Biochemistry*. 48 69–84.

Imtiaz M, Rizwan M, Xiong S, Li H, Ashraf M, Shahzad S, y Tu S. (2015). Vanadium, recent advancements and research prospects: A review. *Environment international*. 80:79-88.

IPCS. International Programme on Chemical Safety. (1988). Vanadium. Environmental Health Criteria, World Health Organization, Ginebra, No. 81.

IPCS. International Programme on Chemical Safety. (2001). Vanadium pentoxide and other inorganic vanadium compounds, World Health Organization, Ginebra, No. 29.

Ishida M, Ohashi S, Kizaki Y, Naito J, Horiguchi K, Harigaya T. (2007). Expression Profiling of Mouse Placental Lactogen II and Its Correlative Genes Using a CDNA Microarray Analysis in the Developmental Mouse Placenta. *Journal of Reproduction and Development*. 53: 69–76.

Kamboj VP, y Kar AB. (1964). Anti-testicular effect of metallic and rare earth salts. *Journal of reproduction and fertility*. 7:21–28.

- Kirazov EP, Weiss DG. (1986). Effects of vanadate on assembly and disassembly of purified tubulin. *Cell Motility and Cytoskeleton*. 6:314-323.
- Lagerkvist G, Nordberg GF, y Vouk V. (1986). Vanadium. En: Handbook on the toxicology of metals. *Elsevier Science Publishing*, Amsterdam, Vol. II, pp. 638-663.
- Laskey JW, y Phelps PV. (1991). Effect of cadmium and other metal cations on in vitro Leydig cell testosterone production. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 108:296–306.
- Leopardi P, Villani P, Cordelli E, *et al.* (2005). Assessment of the in vivo genotoxicity of vanadate: analysis of micronuclei and DNA damage induced in mice by oral exposure. *Toxicology Letters*. 158: 39–49.
- Less GB, Ockwing NW, y Rasmussen PG. (2006). Vanadium complex of 2-(20 -pyridyl)-4,5-dicyanoimidazole showing spermicidal and cytotoxic properties. *Inorganic Chemistry*. 45:7105–7110.
- Llobet JM, Colomina MT, Sirvent JJ, *et al.* (1993). Reductive toxicity evaluation of vanadium in male mice. *Toxicology*. 80:199–206.
- López-Diazguerrero NE, González PVY, Hernández-Bautista RJ, *et al.* (2013). Hormesis: What doesn't kill you makes you stronger. *Gaceta Medica Mexicana*. 149(4):438-447.
- Marouane W, Soussi A, Murat JC, *et al.* (2011). The protective effect of Malva sylvestris on rat kidney damaged by vanadium. *Lipids in Health and Disease*. 23:10–65.
- Martínez-Cayuela M. (1998). Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. *Ars Pharmaceutica*. 39(1): 5-18.
- Mendiola J, Moreno JM, Roca M, *et al.* (2011). Relationships between heavy metal concentrations in three different body fluids and male reproductive parameters: a pilot study. *Environmental Health*. 10:6.
- Morgan MA, y El-Tawil SO. (2003). Effects of ammonium metavanadate on fertility and reproductive performance of adult male and female rats. *Pharmacological Research*. 47: 75-85.
- Mukherjee B, Patra B, Mahapatra S, Banerjee P, Tiwari A, y Chatterjee M. (2004).

Vanadium-an element of atypical biological significance. *Toxicology Letters*. 21, 135-143.

Mussali-Galante P, Rodríguez-Lara V, Hernández-Tellez B, *et al.* (2005). Inhaled vanadium pentoxide decreases α -tubulin of mouse testes at different exposure times. *Toxicology and Industrial Health*. 21:215–222.

Nechay BR. (1984). Mechanisms of action of vanadium. *Annual Review Pharmacology and Toxicology*. 24: 501-524.

Nechay NR, Nanninga LB, y Nechay SE. (1986). Vanadyl (VI) and vanadate (V) binding to selected endogenous phosphate, carboxyl, and amino ligand; calculations of cellular vanadium species distribution. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 251, 128-138.

Nichols J, y Smith A. (2012). Pluripotency in the embryo and in culture. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. (4), a008128.

Ocampo-Aguilera NA, Rodríguez-Mercado JJ, y Álvarez Barrera L. (2018). Evaluación de los efectos del óxido de vanadio IV (V_2O_4), sobre el desarrollo embrionario y fetal de ratones de la cepa CD-1, aplicado durante la organogénesis. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio Institucional - UNAM.

Ojeda Moris G, López Tardón Y, Díaz Navarrete M, y Rojas Rauco M. (2014). Efecto de la Administración de Ácido Retinoico Sobre el Desarrollo del Esqueleto Axial en Embriones de Ratón *Mus musculus*. *International Journal of Morphology*, 32(4), 1449–1456.

Okuno M. (1980). Inhibition and relaxation of sea urchin sperm flagella by vanadate. *Journal of Cell Biology*. 85(3):712-25.

Piecewicz SM, Pandey A, Roy B, Xiang SH, Zetter BR, Sengupta S. (2012). Insulin-like Growth Factors Promote Vasculogenesis in Embryonic Stem Cells. *PLoS ONE*. (7), e32191.

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

Reig G, y Concha ML. (2012). Impronta Genómica y Desarrollo Embrionario. *International Journal of Morphology*, 30(4), 1453-1457.

Roberts G, Stout M, Sayers B, Fallacara D, Hejtmancik MM, Waidyanatha S, y Hooth, M. (2016). Toxicity studies of tetravalent and pentavalent vanadium compounds in Harlan Sprague Dawley rats and B6C3F1/N mice via drinking water exposure. *Toxicology Reports*. 3:531-538.

Rodríguez Lara V, y Mussali Galante P. (2005). Efecto del pentóxido de vanadio sobre la gamma-tubulina de células testiculares en un modelo murino de exposición por inhalación. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio Institucional - UNAM.

Rodríguez-Mercado J, y Altamirano-Lozano M. (2006). Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 22, (4): 173-189.

Rojas M, Signore IA, y Mejías R. (2014). Morphogens During Embryonic Development of Vertebrates. *International Journal of Morphology*. 32(1):319-26.

Roldán E, Aguilar EM, y Díaz SA. (2022). Efectos de la inhalación de vanadio sobre las espermatogonias y calidad seminal en el modelo de ratón *in vivo*. *Revista de toxicología*. 39: 19-25.

Russanov E, Zaporowska H, Ivancheva E, Kirkova M, y Konstantiniva S. (1994). Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in vanadate-treated rats. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 107(3): 415-421.

Salazar-Montes AM, Sandoval AS, y Armendariz-Boruda JS. (2011). *Biología Molecular*. McGrawHill. México. 322.

Sale SW, y Gibbons RI. (1979). Study of the mechanism of vanadate inhibition of the dynein cross-bridge cycle in sea urchin sperm flagella. *Journal of Cell Biology*. 82:291-300.

Sélénou C, Brioude F, Giabicani E, Sobrier ML, y Netchine I. (2022). IGF2: Development, Genetic and Epigenetic Abnormalities. *Cells*, 11(12), 1886.

Sferruzzi-Perri, AN, y Camm EJ. (2016). The programming power of the placenta. *Frontiers in Physiology*. 7, 33.

- Sha K. (2008) A mechanistic view of genomic imprinting. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 9:197-216.
- Sharma RP, Flora JS, Drown DB, y Oberg SG. (1987). Persistence of vanadium compounds in lungs after intracheal instillation in rats. *Toxicology and Industrial Health*. 3, 321-329.
- Sheriff SD. (1991). Effect of vanadium on rat liver and testicular glutathione (GSH) and lipid peroxide levels. *Reproductive toxicology*. 5: 513-515.
- Shimizu T, y Johnson KA. (1983). Presteady state kinetic analysis of vanadate-induced inhibition of the dynein ATPase. *Journal Biology Chemistry* 25; 258 (22):13833-40.
- Smith FM, Garfield AS, y Ward A. (2006) Regulation of growth and metabolism by imprinted genes. *Cytogenetic and Genome Research*. 113 279–291.
- Stokinger HE. (1981). The metals. En: Patty's industrial hygiene and toxicology (G.D. Clayton y F.E. Clayton, Eds.) 3ª ed., Wiley, Nueva York, Vol. II A, pp. 1493- 1583.
- Thompson J, y Bannigan J. (2008). Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproductive Toxicology*. 25: 304–315.
- Tiana M, Lopez-Jimenez, E, de Aja JS, Barral A, Victorino J, Badia-Careaga C, Rollan I, Rouco R, Santos E, Sanchez-Iranzo H, Acemel RD, Torroja C, Adan J, Andres-Leon E, Gomez-Skarmeta JL, Giovinazzo G, Sanchez-Cabo F, y Manzanares M. (2022). Pluripotency factors regulate the onset of *Hox* cluster activation in the early embryo. *Science Advances*, 8(28).
- Timbrell JA. (2009). Principles of Biochemical Toxicology. *Informa Healthcare*. New York EUA. 464.
- Uchimura T, Hollander JM, Nakamura DS, Liu Z, Rosen CJ, Georgakoudi I, Zeng L. (2017). An Essential Role for IGF2 in Cartilage Development and Glucose Metabolism during Postnatal Long Bone Growth. *Development*, 144, 3533–3546.
- Watkins AJ, Rubini E, Hosier ED, y Morgan HL. (2020). Paternal programming of offspring health. *Early Human Development*. 150, 105185.

Wolpert L. (2009). Principios del Desarrollo. 3ª ed. Madrid, Médica Panamericana.

Yang X-G, Yang X-D, Yuan L, Wang K, y Crans DC. (2004). The permeability and cytotoxicity of insulinmimetic vanadium compounds. *Pharmaceutical Research*. 21, 1026-1033.

Zhang Z, Huang C, Li J, Leonard SS, Lanciotti R, Butterwortg L, Shi X. (2001). Vanadate-Induced cell growth regulation and the role of reactive oxygen species. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 392(2): 311-320.

Perspectivas

- ❖ Un aspecto muy importante a desarrollar es realizar un tratamiento con V_2O_4 , el cual cubra al menos un ciclo espermatogénico (35 días).
- ❖ Realizar el análisis de Aberraciones Cromosómicas en los fetos descendientes de machos expuestos a V_2O_4 , utilizando muestras de hígado o sangre, esto podría ampliar el panorama en cuanto a los efectos sobre el material genético de los fetos.
- ❖ Llevar a cabo más estudios sobre los efectos del V_2O_4 sobre las células germinales masculinas, implementando otros ensayos como la prueba de FISH para evaluar anomalías en el ADN espermático en secuencias específicas, tales como la región que contiene al gen *Igf-II*, ubicado en el cromosoma 7 del ratón y en humano se ubica en la región del cromosoma 11p15.5.
- ❖ Evaluar la integridad del ADN espermático mediante el *ensayo cometa*.

Anexo I

Lista de Figuras

Figura 1.- Toxicocinética del Vanadio.

Figura 2.- Mecanismo de regulación de los genes *Igf-II* y H19

Figura 3.- Resumen de las funciones fisiológicas de IGF-II.

Figura 4.- Tipos celulares característicos del ciclo estral de ratón.

Figura 5.- Grafica de porcentaje de anomalías morfológicas inducidas por V_2O_4 .

Figura 6.- Microfotografías de fetos con anomalías morfológicas (Hematomas y Poco desarrollo)

Figura 7.- Microfotografías de fetos con anomalías morfológicas (Oreja y Párpado)

Figura 8.- Microfotografías Huesos y centros de osificación del cráneo.

Figura 9.- Microfotografías Huesos y centros de osificación del cráneo (superior).

Figura 10.- Microfotografías Centros de osificación del hueso occipital (cráneo posterior).

Figura 11.- Microfotografías Centros de osificación del esternón.

Figura 12.- Microfotografías Feto con primordio de costilla en la vértebra cervical 7 (C7).

Figura 13.- Microfotografías Costillas y columna vertebral.

Figura 14.- Microfotografías Huesos y centros de osificación de las extremidades superiores.

Figura 15.- Microfotografías Huesos y centros de osificación de las extremidades inferiores.

Lista de Tablas

Tabla 1.- Crecimiento en el útero del embrión/feto de ratón promedio.

Tabla 2.- Diseño experimental.

Tabla 3.- Efectos embriotóxicos del V_2O_4 en descendencia de ratones macho CD-1 tratados vía aérea.

Tabla 4.- Anormalidades morfológicas en descendencia de ratones macho CD-1 tratados vía aérea con V_2O_4 .

Tabla 5.- Anormalidades esqueléticas craneales inducidas por V_2O_4 .

Tabla 6.- Anormalidades del esqueleto axial inducidas por V_2O_4 .

Tabla 7.- Anormalidades esqueléticas de extremidades superiores inducidas por V_2O_4 .

Tabla 8.- Anormalidades esqueléticas de extremidades inferiores inducidas por V_2O_4 .

Tabla 9.- Análisis de correlación con coeficiente de Pearson entre anormalidades esqueléticas y dosis de V_2O_4 .

Tabla 10.- Lista de genes de impronta identificados en el genoma del ratón.

Lista de Abreviaturas

- % p/v.- Porcentaje peso-volumen.
- A. X.- Apófisis xifoides.
- ADN.- Ácido desoxirribonucleico.
- ARN.- Ácido ribonucleico.
- ATP.- Adenosín trifosfato.
- CO.- Centro de osificación.
- CO₂.- Dióxido de carbono.
- DMR.- Región diferencialmente metilada.
- ES.- Células madre embrionarias.
- IGF-I.- Factor de crecimiento similar a la insulina tipo I.
- IGF-II.- Factor de crecimiento similar a la insulina tipo II.
- ip.- Intraperitoneal
- KOH.- Hidróxido de potasio.
- LD₅₀.- Dosis letal media.
- MMC. Mitomicina C.
- PM₁₀.- Material particulado de 10 o menos μm de diámetro
- PM_{2.5}.- Material particulado de 2.5 o menos μm de diámetro
- ROS.- Especies reactivas de oxígeno
- SOD.- Superóxido dismutasa
- V.- Vanadio
- V₂O₄.- Tetraóxido de Vanadio.

Anexo II

PARTICIPACIÓN EN ACTIVIDADES ACADÉMICAS DE DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN ESTA INVESTIGACIÓN.

- 🏆 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 2020.
- 🏆 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 su participación con el trabajo libre: “Efecto teratogénico de óxidos de vanadio en crías descendientes de ratones macho CD-1 expuestos a tratamiento subcrónico vía aérea”, en el marco del **XVIII Congreso Latinoamericano de Genética**, los días 5 al 8 de octubre de 2021.
- 🏆 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 y Elia Roldán Reyes, en el marco de la **XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas de la Universidad de Guanajuato**, los días 24-26 de agosto de 2022.



**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





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

MCTA 11**EFFECTO TERATOGÉNICO DE ÓXIDOS DE VANADIO EN CRÍAS DESCENDIENTES DE RATONES MACHO CD-1 EXPUESTOS A TRATAMIENTO SUBCRÓNICO VÍA AÉREA**

Roldán Reyes E¹, A. Gutiérrez Arenas¹, C.A. Hernández Gallardo¹. Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, México. eliar@unam.mx

Dentro de los contaminantes atmosféricos, se encuentra el PM_{2.5}, que al ser inhalado ingresa fácilmente al organismo. El PM_{2.5} comprende 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 V₂O₅, producto principal de la quema de combustibles fósiles y actividades industriales. Se almacena como V₂O₅ en tejidos y órganos como hueso, riñón, pulmón y testículo. Se ha reportado que genera reprotoxicidad, mutagenicidad y genotoxicidad. El objetivo fue establecer el efecto teratogénico del V₂O₅ y V₂O₄ por la exposición subcrónica vía inhalatoria a diferentes concentraciones (V₂O₅: 0,02 M, 0,04 M, 0,08 M, 0,12 M/ V₂O₄: 0,0009 M, 0,0018 M, 0,0027 M) utilizando ratones macho de la cepa CD-1 (*teratogénesis mediada por el macho*). 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, número de reabsorciones, peso y longitud cefalocaudal, así como las anomalías morfológicas externas, huesos y cartilagos. Los fetos descendientes de machos CD-1 expuestos a V₂O₅ presentaron un aumento significativo ($p < 0,05$) de anomalías morfológicas externas como asimetrías, extremidades y cuello corto. Los fetos descendientes de machos CD-1 expuestos a V₂O₄ presentaron un aumento significativo ($p < 0,05$) de orejas mal desarrolladas y hematomas en el cuerpo. Con base en los resultados, se concluye que, la exposición subcrónica vía aérea, genera efectos teratogénicos asociados a la reprotoxicidad ocasionada por este compuesto en el progenitor masculino, además de inducir embrio y fetotoxicidad.

PAPIIT UNAM, IN-221919-3

MCTA 12**FAMILY HISTORICAL RELATIONSHIP OF GASTRIC CANCER AND ENDOSCOPIC RESULTS IN PATIENTS FROM A CITY IN NORTHEAST BRAZIL**

Só Junior J.X¹, M.C. Pereira Rodrigues¹, A.M. Silva Rocha¹, G.R. Costa Maciel¹, F. Ferreira Manari², M. Dantas Torres², M.A.A. Oliveira Serra², C.A.A.S.D. Santos². ¹Enfermagem, Graduação, Universidade Federal do Maranhão/CCSST, Brasil; ²Programa de Pós-graduação em Saúde e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão/CCSST, Brasil; ³Centro de Ciências Humanas, Sociais, Tecnológicas e Letras, Universidade Estadual da região Tocantina do Maranhão, Brasil. jurandirsjr@gmail.com

The *Helicobacter pylori* infection and family history of gastric cancer have been reported as important risk factors for the development of Gastric Cancer (GC) worldwide. Thus, we sought to investigate the family history of GC in patients with dyspeptic symptoms treated by a public endoscopy service, identifying the risk factors and most susceptible populations. A cross-sectional study was conducted with dyspeptic patients indicated for examination of upper gastrointestinal endoscopy, in a city in northeastern Brazil. The association between family history of GC and endoscopic exam results was verified using the Chi-square or Fisher tests, measuring its effect through the odds ratio in univariate and multivariate analyzes. It was observed that of the 751 investigated patients, 5.9% had CG in the family, 70.5% were female, 56.8% aged 45 years or older. Patients with family history of CG were more likely to have no endoscopic diagnosis of peptic ulcer ($p=0.05$; CR=2.33), as well as changes in the gastric mucosa ($p=0.05$; CR=1.06) and *H. pylori* infection ($p=0.04$; CR=1.79), even after adjustments in the analyzes. Thus, the endoscopic change of the gastric mucosa and infection by *H. pylori* showed an independent association with the family history of GC. In view of this, it is necessary to elaborate health care protocols aiming at better investigation and surveillance of GC family members, as well as educational health actions to guide about gastric cancer screening and prevention.

National Council for Scientific and Technological Development of Brazil (CNPq-Brazil)



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 CRIAS 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