



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“Evaluación de aberraciones cromosómicas en hígado
de fetos obtenidos de ratones hembra tratadas con talio
durante la organogénesis”**

TESIS

Que presenta:

Eduardo Lezama Sánchez

Que para obtener el título de:

BIÓLOGO

Directora

Dra. Lucila Álvarez Barrera

Asesores

Dr. Juan José Rodríguez Mercado

Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava



Ciudad de México a 06 de octubre del 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.



Este trabajo fue realizado en la Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental, ubicado en el laboratorio 5 del primer piso de la UMIEZ en el Campus II de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Contó con la dirección de la Dra. Lucila Álvarez Barrera y la asesoría del Dr. Juan José Rodríguez Mercado y el Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava. Se desarrolló con ayuda del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación Tecnológica, PAPIIT-UNAM, clave IA201123.



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



OFICIO DE FECHA DE EXAMEN

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

Le comunico que al alumno: **LEZAMA SANCHEZ EDUARDO** con número de cuenta **313139255** de la carrera **BIOLOGÍA** se le ha fijado el día **6 de Octubre de 2023** a las **13:00 hrs.**, para presentar la réplica oral de su examen profesional, que tendrá lugar en esta facultad, ante el siguiente jurado:

CARGO	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE DR.	RODRIGUEZ MERCADO JUAN JOSE	
VOCAL DRA.	ALVAREZ BARRERA LUCILA	
SECRETARIO DR.	MATEOS NAVA RODRIGO ANIBAL	
SUPLENTE DRA.	VIEYRA VALDEZ ELIZABETH	
SUPLENTE MTRO.	ALCANTARA MEJIA VICTOR ALAN	

El título del trabajo escrito que se presenta es:

Evaluación de aberraciones cromosómicas en hígado de fetos obtenidos de ratones hembra tratadas con talio durante la organogénesis

En la modalidad de: **TESIS**

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 CDMX, a 29 de Agosto de 2023

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

Agradecimientos:

A la **Dra. Lucila Álvarez Barrera** por ser mi primer acercamiento al laboratorio y a la UNIGEN, por todos los conocimientos, consejos y apoyo brindando a lo largo de mi estancia en esta unidad además de su paciencia y esfuerzo para la realización de este trabajo.

Al **Dr. Juan José Rodríguez Mercado** por sus consejos, sugerencias, conocimientos y apoyo brindado durante todo mi trabajo en el laboratorio y para este escrito.

Al **Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava** por compartir su conocimiento y por siempre estar dispuesto a resolver cualquier duda o aconsejarme, además por su amistad y hacer más llevadero el laboratorio.

Al **Mtro. Víctor Alan Alcántara Mejía** que además de apoyar para la realización de este trabajo, me ha enseñado desde que llegue al laboratorio, me permitía ver las técnicas que realizaba y eventualmente a hacerlas con él, además de brindarme su amistad, ser una gran persona conmigo y un ejemplo de que lo que sea que quiera se puede lograr con esfuerzo y trabajo duro.

A la **Dra. Elizabeth Vieyra Valdez** por el tiempo, esfuerzo y sugerencias para la realización de este trabajo.

A al **Dr. Román**, la **Dra. Adriana**, la **Dra. Eli** y al personal del biotério de la FES-Zaragoza por ser una parte fundamental para la realización de este trabajo, dar las facilidades requeridas, de la mejor manera posible y siempre con trato amistoso.

A **Angélica Ocampo**, **Esaú Frías**, **Alexa Cruz** y **Alfredo Caballero**, quienes junto con Víctor, me enseñaron las bases para trabajar en un laboratorio, además de hacer siempre agradable estar ahí y ser mis primeros amigos en el laboratorio.

A todos los amigos que tuve a lo largo de la carrera y en el laboratorio, especialmente a Benji, Hanz, Luis, Fernando, Carmen, Lu, Fanny, Regina, Carlos, Consu, Ángel, Bryan, Keyla, Aleksander, Aby, Alberto, Yareni, que hicieron, a su manera, que la carrera fuera más fácil, divertida y llena de nuevas experiencias, con quienes pase infinidad de momentos de todo tipo que siempre tendré conmigo.

A **Montse** por ser una gran amiga que siempre estuvo conmigo en cualquier circunstancia, por todo el apoyo, los consejos, los momentos tan divertidos y las aventuras vividas. Ahora si ya somos biólogos los dos.

A los equipos de futbol de trabajadores, profesores, alumnos y exalumnos que hicieron que pudiera seguir practicando uno de los deportes que más me gustan, esperar las mañanas y tardes de viernes para jugar en un ambiente de diversión y amistad.

Dedicatoria

A mi mamá, **Edna**, que siempre me has dado todo tu amor y apoyo incondicional, has dado todo por mí, me has acompañado en este largo camino y siempre has hecho más de lo que estaba en tus maños para que saliéramos adelante. Gran parte de este logro, de lo que soy y lo que seré es gracias a ti y a mi papá.

A mi papá, **Eduardo**, que dedicaste toda tu vida y todo tu esfuerzo para que nuestra familia estuviera bien, que nos has dado todo lo que necesitamos y más, no solo material, sino también un gran padre, siempre has sido un ejemplo para mí de lo que debe ser un hombre, a ser responsable, ordenado, comprometido y sobre todo amoroso. No podría haber llegado a este punto sin ti ni sin mi mamá, los dos son una parte muy grande de mí.

A mi hermana, **Leslie**, que a pesar de ser tan diferentes hemos crecido juntos, me has ayudado cuando te necesito, has demostrado que eres una persona muy capaz y puedes hacer lo que tú quieras y que cuento contigo en lo que sea.

A mis abuelitas, **Eva †**, **Ernestina** y a mi tía **Evis**, que me cuidaron, me consintieron y siempre quisieron que llegara a este punto, querían verme graduado, son un importante motor para mí y las admiro por ser mujeres grandes mujeres que luchan por su familia y los sacan adelante con su trabajo y amor.

A mis tíos, **Edgar** y **Sergio**, que además de quererme, me han apoyado incondicionalmente, son una guía para mí y me han impulsado a seguir. Otra parte importante de este logro es gracias a ustedes.

A mis tíos, **Héctor** y **Beto**, que a pesar de no estar físicamente cerca han estado al pendiente de mí y de mi progreso personal y académico, esperando este título mucho tiempo.

A mi madrina **Vero**, mis tías **Carmelita** y **Caty**, mi tío **Jaime**, que desde chiquito han estado al pendiente de mí, me han querido y consentido, deseando siempre lo mejor para mí, alentándome a estudiar lo que me gusta y confiando en que lograría lo que quiera.

A mis tíos, **Ana**, **Toño** y **Alicia**, que al integrarse a nuestra familia han cuidado a mi hermana y a mí, nos han apoyado, aconsejado y se han ganado el cariño.

A mis primos, **Ximenita**, **María**, **Camila**, **Zaira**, **David**, **Jesús**, **Nefta**, **Ximena** y **Caleb**, que aunque algunos me han visto crecer, a otros los he visto crecer siempre es divertido estar con ustedes y hacer lo que sea para divertirnos, sé que cuento con ustedes y cuentan conmigo para lo que sea.

A **Wendy** y **Leidy**, que me nos han brindado su amistad a mi familia y a mí, nos han apoyado siempre que lo necesitamos, nos han abierto muchas puertas y dado muchas oportunidades para crecer tanto laboral como personalmente, son un ejemplo de mujeres trabajadoras, comprometidas y con ganas de superarse, este compromiso también es con ustedes.

A los grandes maestros que he tenido durante todo mi desarrollo académico, a los profesores **Araceli** y **Filemón**, me enseñaron las bases y despertaron en mí el interés por las ciencias, además de saberlo cultivar. A **Bruno Figueroa †** y **Araceli Flores** que con su compromiso hacia sus alumnos y a su firmeza supieron guiarme, con sus pláticas me motivaron, hicieron que me esforzara y darme cuenta de las cosas que puedo lograr. A **Rosa María Peñaloza**, que hizo que mi interés por la biología y la genética creciera, por aconsejarme y guiarme para aprender. Gracias por ayudarme a crecer académica y personalmente, por su compromiso, vocación, por compartir su conocimiento y sus consejos.

"No solo no hubiéramos sido nada sin ustedes, sino con toda la gente que estuvo a nuestro alrededor desde el comienzo, algunos, siguen hasta hoy, GRACIAS...TOTALES!!!"

-Gustavo Cerati.

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Talio	3
1.2 Fuentes de Emisión y Regulación	4
1.3 Usos del Talio	5
1.4 Vías de Exposición y Distribución del Talio en el Humano	6
1.5 Toxicidad del Talio	8
1.6 Efectos del Talio en el Desarrollo Prenatal	9
1.7 Relación Entre la Exposición Materna a Metales y Efectos Sobre el ADN de Recién Nacidos	10
1.8 Efectos del Talio Sobre el Desarrollo Embrionario en Modelos Biológicos	11
1.9 Efectos Genotóxicos del Talio en Modelos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	12
1.10 Ratón como Modelo de Prueba	13
1.11 Hígado Fetal	14
1.12 Ensayo de Aberraciones Cromosómicas en Hígado Fetal de Ratón	14
2. JUSTIFICACIÓN	17
3. HIPÓTESIS DE TRABAJO	17
4. OBJETIVOS	17
5. MATERIAL Y MÉTODOS	18
5.1 Animales	18
5.2 Compuestos Químicos	18
5.3 Diseño Experimental	19
5.4 Obtención de Hembras Preñadas	19
5.5 Obtención de Fetos	19
5.6 Obtención de Células de Hígado Fetal	20
5.7 Evaluación Citogenética	20
5.8 Análisis Estadístico	21
6. RESULTADOS	21
6.1 Evaluaciones Citogenéticas	21
6.1.1 IM	21
6.1.2 ACE	23
9. DISCUSIÓN	28
10. CONCLUSIONES	31
11. REFERENCIAS	32
12. Anexo. Constancias y premio de participación en eventos académicos.	39

RESUMEN

El crecimiento de las actividades industriales y la urbanización han ocasionado el incremento de la concentración de metales en el ambiente. Debido a que no son biodegradables tienden a acumularse e integrarse a la cadena trófica, finalmente llegar a los seres humanos y causar daños en su salud.

La exposición de mujeres embarazadas a diferentes compuestos metálicos se ha relacionado con efectos en la gestación o el nacimiento, por ejemplo, en estudios realizados en China se encontró presencia de varios metales en sangre materna y del cordón umbilical, entre ellos el talio (Tl), concentraciones elevadas de este metal en ambas muestras se asociaron con reducción del peso al nacer, mientras que en orina materna incrementa el riesgo de parto prematuro y reducción del peso de la placenta.

En modelos biológicos se ha demostrado que el Tl atraviesa la barrera placentaria. En ratones hembra preñadas, el tratamiento con acetato de talio(I), CH_3COOTl , produce en los fetos descendientes defectos de postura y variaciones morfológicas externas. Otros estudios evidencian que el mismo compuesto aplicado a ratones adultos de ambos sexos reduce el índice mitótico (IM) y aumenta el porcentaje de células con aberraciones cromosómicas (AC) en médula ósea; mismo efecto que produce en cultivos de linfocitos humanos de sangre periférica.

Con base en los antecedentes mencionados y debido a que no se cuentan con reportes de los efectos que causa el Tl en tejidos fetales, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto citotóxico y genotóxico del CH_3COOTl en células hepáticas de fetos obtenidos de hembras preñadas tratadas durante la organogénesis con 5.28 y 6.16 mg/Kg de este compuesto (equivalente a $1/6$ y $1/7$ de la dosis letal media, dl_{50} , para ratón). Los resultados muestran que el tratamiento con ambas dosis de CH_3COOTl durante la organogénesis produce aumento en el número de células con aberraciones cromosómicas estructurales (ACE), principalmente rompimientos cromatídicos y deleciones, así como, disminución del IM en células de hígado fetal, con lo que se demuestra que el CH_3COOTl es citotóxico y genotóxico para los descendientes de hembras expuestas.

1. INTRODUCCIÓN

Los metales, incluido el Tl, son elementos que se encuentran normalmente en la naturaleza en cantidades que por lo general no son perjudiciales para los seres vivos, sin embargo en los últimos años la industrialización y la urbanización han incrementado su concentración en el ambiente (Londoño-Franco *et al.*, 2016; Covarrubias y Peña, 2017). Debido a que no son biodegradables se acumulan en el agua y suelo, forman compuestos solubles que son transportados e incorporados a la cadena trófica, de esta forma quedan disponibles para plantas, animales y seres humanos que al ingresar al organismo inducen daños en su salud (Nava-Ruíz y Méndez-Armenta, 2011; Reyes *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2020).

Se estima que hasta el año 2000 se liberaron en todo el mundo entre 2000 y 5000 t de Tl por procesos industriales y a partir del 2004 su producción anual ronda las 10 t (Peter y Viraraghavan, 2005; Liu *et al.*, 2019). La creciente demanda de este metal en la industria ha ocasionado que en diversas partes del mundo se considere como un elemento prioritario para el cual se deben regular sus emisiones ya que se ha relacionado la exposición a éste con efectos en la salud, en particular con problemas del desarrollo entre ellos parto prematuro y bajo peso al nacer (Zhong *et al.*, 2022).

1.1 Talio

El nombre talio proviene del griego “*thallos*” que significa brote o ramita verde, fue descubierto por el químico William Crookes, es un metal dúctil, maleable, brillante y de color gris azulado, inodoro e insípido, con estructura cristalina hexagonal, punto de fusión de 303.5 °C, de ebullición de 1475 °C, densidad de 11.85 g/cm³. Pertenece al bloque *p*, grupo 13 de la tabla periódica de los elementos, su número atómico es 81, peso atómico de 204.38, radio atómico 208 pm e iónico de 164 –184 pm para el ion Tl⁺ y 89 –112 pm para Tl³⁺ y configuración electrónica [Xe] 4f¹⁴5d¹⁰6s²6p¹ (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2013; Migaszewski *et al.*, 2021).

El Tl puro es escaso en la naturaleza, por lo que generalmente forma diversos minerales (Moeschlin, 1980). A diferencia del resto de los metales de este grupo, aluminio, galio e indio (Al, Ga, In, respectivamente), el Tl es más estable en forma

de catión talioso (Tl^+) que comúnmente se encuentran en la naturaleza como sulfatos, acetatos o carbonatos, que son más solubles y por ende tienen mayor toxicidad, por el contrario el catión tálico (Tl^{3+}) rara vez existe de forma natural porque sus compuestos son menos estables e incluyen sulfuros, yoduros o cloruros que presentan menor solubilidad y su toxicidad se ve reducida (Galván-Arzate y Santamaría, 1998; Pourahmad *et al.*, 2010; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013). Los iones de Tl^{3+} pasan lentamente a Tl^+ , por lo que independientemente de su estado de oxidación ambos pueden encontrarse en condiciones biológicas y representan un riesgo para la salud (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Sánchez-Chapul *et al.*, 2023).

1.2 Fuentes de Emisión y Regulación

El Tl en la corteza terrestre se encuentra en concentración media de 0.1 a 1.7 mg/Kg por lo que ocupa el lugar 60 en abundancia (Kazantzis, 2000; Peter y Viraraghavan, 2005). Hay dos principales fuentes de liberación al ambiente. La primera, la forma natural, que incluye cenizas volcánicas, depósitos de minerales metálicos superficiales y formaciones rocosas mineralizadas expuestas o de baja profundidad, que por intemperismo liberan sus componentes al ambiente (Galván-Arzate y Santamaría, 1998; Peter y Viraraghavan, 2005).

Debido a que el radio iónico del Tl^+ es similar al de potasio, rubidio y cesio (K^+ , Rb^+ y Cs^+ , respectivamente) se favorece su aparición en minerales de K^+ más comunes, entre ellos feldespatos, biotita, moscovita, silvita, nódulos de granito, esquisto, manganeso y en otros minerales muy raros como la crookosita ($(Cu,Tl,Ag)_2Se$), hutchinsonita ($(Tl,Ag)_2S \cdot PbS \cdot 2As_2S_3$), lorandita ($Tl_2S \cdot AsS_3$) y vrbaita ($Tl_2S_3(As,Sb)_2S_3$) que contienen entre 16 y 60 % de Tl^+ (Mulkey y Oehme, 1993; Galván-Arzate y Santamaría, 1998; Rader *et al.*, 2018).

La segunda fuente y la más abundante es la antropogénica, que incluye emisiones a la atmósfera por la industria cementera, electrónica, óptica y quema de carbón, desechos sólidos y líquidos, aguas residuales producto de la extracción y procesamiento de minerales, principalmente de sulfuros y carbón, asimismo, la fundición de metales donde frecuentemente aparece entre los residuos de

recuperación de oro, cobre, plomo, zinc y uranio, quema de desechos o refinación de petróleo (Peter y Viraraghavan, 2005; Migaszewski *et al.*, 2021).

Ambas fuentes de liberación, han llevado a que los niveles de TI en el ambiente aumenten, por ejemplo, en aire no contaminado las cantidades son $< 1 \text{ ng/m}^3$, mientras que en áreas industriales y ciudades pueden llegar a 58 mg/m^3 , en localidades cercanas a fábricas de cemento, minas o refinerías las concentraciones de este metal se elevan considerablemente de 1 a $2400 \text{ } \mu\text{g/L}$ en cuerpos de agua y de 0.1 a 21 mg/Kg en suelo (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

En México no se tienen datos de regulación de TI en agua, diversos países consideran los lineamientos de la US EPA para determinar el límite permisible en agua potable que es $2 \text{ } \mu\text{g/L}$ (US EPA, 2018). Por otro lado la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 establece que los límites máximos permisibles de este elemento en suelos de uso agrícola/industrial/comercial es de 5.28 mg/Kg mientras que de uso industrial 67 mg/Kg , por encima de los valores establecidos en normas internacionales, de 1 mg/Kg (US EPA, 2009). Al respecto, en muestras de suelo provenientes de lugares minero-metalúrgicos de diferentes estados del país se encontró que en San Luis Potosí las concentraciones de TI en suelo oscilan entre 6 a 199.7 mg/Kg , en el Estado de México, Michoacán y Zacatecas son 78.8, 45.6 y 12.6 mg/Kg , respectivamente (Herrera y Aguilar-Carrillo, 2017).

1.3 Usos del Talio

El TI ha tenido gran variedad de usos, desde 1883 y hasta los primeros años del siglo XX, sus sales se utilizaron para el tratamiento de la sífilis, agente depilatorio (1897), en personas con tuberculosis, fue empleado para aliviar sudores nocturnos (1898) y la tiña del cuero cabelludo (1919), posteriormente alrededor de 1920 su principal aplicación fue como pesticida, rodenticida e insecticida, en muchos países en desarrollo, este último sigue siendo su uso más común (Delvalls *et al.*, 1999; Kazantzis, 2000; Peter y Viraraghavan, 2005; Repetto y del Peso, 2012; Sánchez-Chapul *et al.*, 2023).

El Tl tiene muchas aplicaciones en la industria, se utiliza en la fabricación de aleaciones antifricción junto con otros metales como el estaño (Sn), antimonio (Sb) y plomo (Pb), está presente en aleaciones de bajo punto de congelación con mercurio (Hg), en vidrios de bajo punto de fusión mezclado con azufre (S), selenio (Se) y arsénico (As), celdas fotovoltaicas, superconductores, semiconductores, termómetros de baja temperatura, bisutería, lentes ópticas de alto índice de refracción, sistemas ópticos, dispositivos electrónicos, fibra óptica, pigmentos, pirotecnia e incluso en tintas para tatuajes (Galván-Arzate y Santamaría, 1998; Peter y Viraraghavan, 2005; US EPA, 2009; Repetto y del Peso, 2012; Karbowska, 2016; Karbowska *et al.*, 2020).

En medicina se utiliza en la toma de imágenes por resonancia magnética nuclear en el diagnóstico de enfermedades cardiovasculares y detección del cáncer, sin embargo, la principal industria consumidora de Tl es la electrónica a la que se destina del 60 al 70 % del total de la producción de Tl que, actualmente es entre 10 a 15 toneladas anuales (Kazantzis 2000; ATSRD, 2016; Sánchez-Chapul *et al.*, 2023).

1.4 Vías de Exposición y Distribución del Talio en el Humano

Existen diferentes vías por las cuales la población en general y las mujeres embarazadas se encuentran expuestas al Tl, el contacto con materiales o superficies que lo contengan (dérmica), respirar aire contaminado (inhalación) y la ingesta de alimentos, que es la principal ruta de exposición (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2017).

Por ejemplo, los mariscos pueden contener entre 349 a 2930 µg/Kg de peso húmedo, la trucha de arroyo más de 3000 µg/Kg, la carne roja contiene de 50 a 70 µg/Kg, mientras que en plantas comestibles de 30 a 300 µg/Kg de peso seco (IPCS, 1996; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

La concentración de Tl en alimentos se incrementa cuando provienen de áreas contaminadas, como es el caso de los campos de cultivo de la provincia de Guizhou en China, donde podemos encontrar vegetales; la col china con 2110 µg/Kg, col o

repollo con 261000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, chile, zanahoria, maíz y arroz con 3860, 21700, 1450 y 1990 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ en peso seco, respectivamente. (Jiang *et al.*, 2020). Independientemente de las condiciones en las que se producen los alimentos que consumimos, la realidad es que este metal se encuentra presente en gran parte de ellos y forman parte de nuestra dieta habitual (Jiang *et al.*, 2020).

En promedio la concentración media de Tl en alimentos se estima en 100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso seco y se considera que una persona consume hasta 5 μg al día (Sherlock y Smart, 1986; IPCS, 1996), a esto se debe sumar que el tabaquismo también es considerado una fuente de exposición por lo que cada cigarrillo aporta de 1.1 a 2.4 ng adicional a lo consumido por la dieta (Pappas *et al.*, 2006) y debido a que no se considera un elemento esencial cualquier cantidad de este metal en el cuerpo es anormal (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013).

Una vez que ingresa al organismo se absorbe por completo rápidamente, se une a la proteína transferrina y es distribuido a todo el cuerpo mediante la circulación sistémica. En humanos se conocen tres etapas principales en la distribución del Tl en el cuerpo. La primera va desde la exposición hasta las 4 h posteriores, que es cuando se distribuye a través de la sangre a órganos y tejidos periféricos, después de las 4 h hasta las 48 h, su distribución es lenta, llega al cerebro y a otros órganos diana como el hígado, riñones, músculo, gónadas, hueso y médula ósea. En este lapso la concentración en la sangre se reduce porque pasa del torrente sanguíneo a los órganos mencionados. La última fase es la de eliminación que inicia a las 24 h y puede extenderse hasta los 30 días, el Tl tiene baja tasa de eliminación y se da principalmente por las heces y la orina, aunque se ha determinado que es eliminado en las uñas y el cabello, sin embargo, una parte del acumulado puede regresar gradualmente al torrente sanguíneo, **Figura 1** (Repetto y del Peso, 2012; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Rodríguez-Mercado *et al.*, 2019; Kemnic y Coleman, 2018).

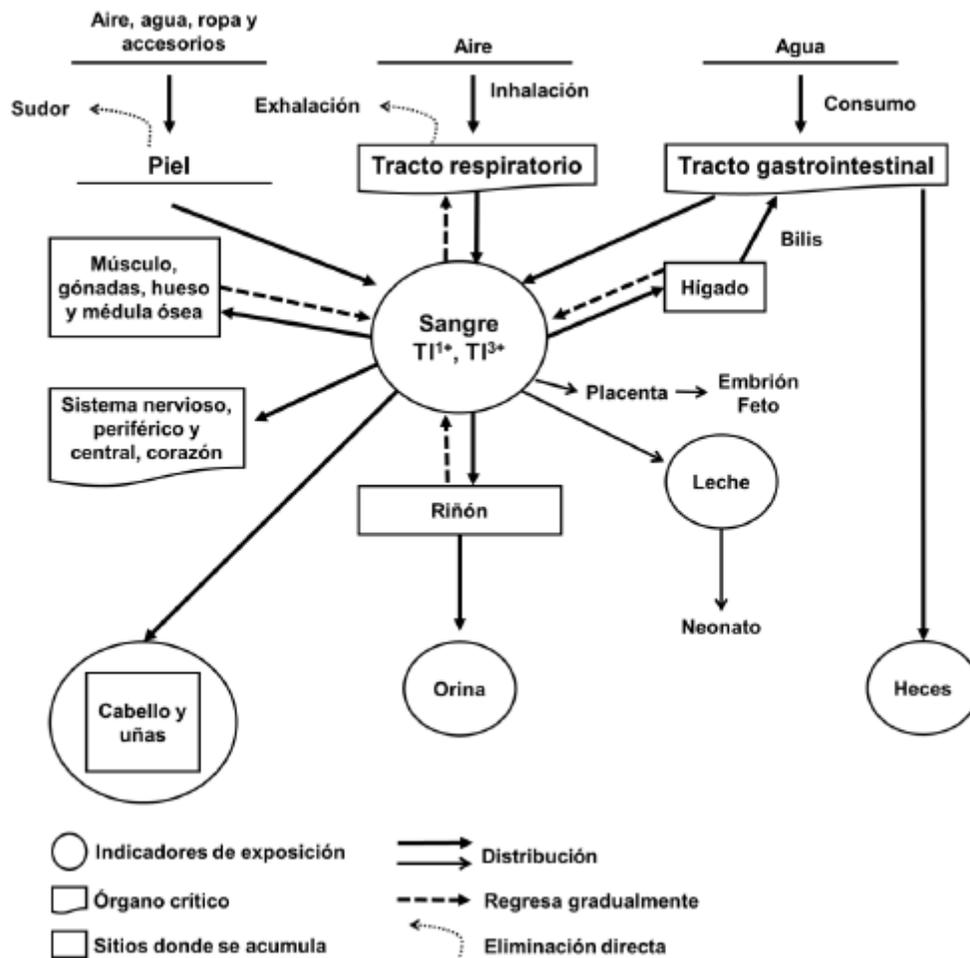


Figura 1. Distribución del TI en el cuerpo humano. Tomado y modificado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013.

1.5 Toxicidad del Talio

Una de las características por las que el TI ha adquirido relevancia e interés es por sus reconocidos efectos sobre la salud. En la intoxicación laboral aguda puede presentarse fiebre, problemas gastrointestinales, delirio, convulsiones y coma. Cuando la exposición es crónica o subcrónica pueden aparecer trastornos gastrointestinales leves, polineuritis, encefalopatía, taquicardia, erupciones cutáneas, marcas en las uñas (líneas de Mees), daños degenerativos en el corazón, hígado y riñones, efectos en el sistema nervioso, alucinaciones y demencia, además se presenta caída del cabello o alopecia que es el signo más característico de toxicidad por este metal en humanos (Saddique y Peterson, 1983; Repetto y del Peso, 2012; Morales-Zarco *et al.*, 2021).

Un trabajo bibliográfico que recolectó información sobre la exposición al TI en el embarazo reportó que los principales síntomas que se presentan al ocurrir el envenenamiento con este metal son hipersensibilidad al dolor, dolor abdominal, variaciones en la presión sanguínea, taquicardia, debilidad muscular, diaforesis, letargo, alopecia y líneas de Mees, mientras que en dosis más altas se llegó a presentar insuficiencia respiratoria e incluso coma (Hoffman y Hoffman, 2000).

1.6 Efectos del Talio en el Desarrollo Prenatal

Durante el embarazo se producen una serie de cambios anatómicos, fisiológicos y metabólicos maternos para cubrir las necesidades del embrión o feto (Tan *et al.*, 2013; Khayat *et al.*, 2017; Diniz *et al.*, 2023). Estos inician desde la gestación temprana y modificar significativamente las propiedades farmacocinéticas como la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de cualquier sustancia química que ingrese al organismo (Costantine, 2014).

Ahora sabemos que los embriones y fetos de todos los mamíferos dependen de la madre por lo que el entorno en el que vive es de gran importancia para que la gestación se lleve a cabo exitosamente (Altamirano-Lozano *et al.*, 2014), el estado físico, enfermedades infecciosas, cambios hormonales, metabólicos, del sistema inmune, deficiencias o excesos nutrimentales, la exposición a agentes físicos o químicos juegan un papel muy importante en el progreso del embarazo y el desarrollo prenatal (Altamirano-Lozano *et al.*, 2013; Varshavsky *et al.*, 2020). De tal forma que afectan directamente al neonato y provocar padecimientos gestacionales o inducir defectos de nacimiento (Varshavsky *et al.*, 2020; Diniz *et al.*, 2023).

Se ha demostrado que en humanos y animales las etapas del desarrollo, como la prenatal, se consideran ventanas críticas de mayor susceptibilidad (Pachkowski *et al.*, 2011). Donde estímulos ambientales o exposiciones a productos químicos promueven modificaciones en el genoma embrionario y afectan su integridad (Vinson y Hales, 2002; Khayat *et al.*, 2017). Estos cambios en la vida temprana inducen resultados inmediatos, permanecer latentes, manifestarse hasta la vida adulta e incluso transmitirse a otras generaciones (Pachkowski *et al.*, 2011; Diniz *et al.*, 2023).

Es por esto que se han realizado investigaciones enfocadas en evaluar los efectos de compuestos químicos que puedan significar algún riesgo sobre el desarrollo prenatal, como los realizados en Wuhan, China, donde se reportó que las mujeres que presentaron concentraciones mayores a 0.2 ng/g en sangre o 0.004 ng/g en el cordón umbilical tuvieron hijos con bajo peso al nacer (Hu *et al.*, 2015), mientras que mayores a 0.28 µg/L en orina materna tuvieron mayor riesgo de presentar parto prematuro (Jiang *et al.*, 2018).

1.7 Relación Entre la Exposición Materna a Metales y Efectos Sobre el ADN de Recién Nacidos

Los metales pueden causar daño a diferentes niveles, el plomo puede afectar la fertilidad (Covarrubias y Peña, 2017), el TI se ha relacionado con el desarrollo del Síndrome de Ovario Poliquístico (Abudawood *et al.*, 2023), inducir parto prematuro (Jiang *et al.*, 2018), bajo peso al nacer (Hu *et al.*, 2015) y de la placenta (Zhou *et al.*, 2021).

Por otro lado, se ha encontrado relación de hipermetilación de la molécula de ADN en células de sangre de cordón umbilical de recién nacidos de mujeres residentes del Área Metropolitana de la Ciudad de México, con la presencia de arsénico (As), selenio (Se) y metales como mercurio (Hg), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), plomo (Pb), cobre (Cu) y zinc (Zn) en orina materna (Montes-Castro *et al.*, 2019). También se ha relacionado el aumento de material particulado (PM_{2.5}) en el aire, que pueden contener metales, con incremento en la frecuencia de células micronucleadas del cordón umbilical y en los linfocitos de mujeres embarazadas residentes de esta zona (Sordo *et al.*, 2019).

Se reportó que la exposición ambiental al TI durante el primer trimestre del embarazo reduce significativamente el número de copias de ADN mitocondrial (Wu *et al.*, 2019) y produce acortamiento de los telómeros en los cromosomas de los leucocitos del cordón umbilical de los recién nacidos (Wu *et al.*, 2021). Estos trabajos fueron realizados en Wuhan, China, en los cuales se midió la concentración de TI en orina materna en los tres trimestres del embarazo y durante el parto.

Lo anterior muestra que la exposición a contaminantes ambientales, incluidos compuestos metálicos, pueden dañar el material genético de la madre y sus hijos en gestación y a su vez causar cambios en la expresión génica convirtiéndose en factor de riesgo para desarrollar enfermedades en la vida postnatal y adulta (Montes-Castro *et al.*, 2019).

1.8 Efectos del Talio Sobre el Desarrollo Embrionario en Modelos Biológicos

En modelos biológicos se ha comprobado que el TI pasa a través de la barrera placentaria (Sabbioni *et al.*, 1982; Ziskoven *et al.*, 1983). Olsen y Jonsen en 1982 reportaron que 0.05 M de sulfato de TI marcado radioactivamente ($^{204}\text{TI}_2\text{SO}_4$) equivalente a 50 μCi administrado a ratones hembras preñadas en el día 15 de gestación fue capaz de llegar al feto en 15 min después de la aplicación y la concentración máxima en tejido fetal se registró entre las 2 y las 4 h posteriores.

El TI se puede acumular en la placenta, atravesarla y causar efectos en los fetos, como lo reporto Gibson y Becker en 1970 quienes observaron que la administración de sulfato de TI vía intraperitoneal (ip) a ratas preñadas, durante la embriogénesis, provocó menor peso al nacer, hidronefrosis, necrosis en riñón y ausencia de cuerpos vertebrales.

En otros trabajos, la administración de 16 mg/Kg peso corporal (pc) de CH_3COOTI vía ip a ratas de 1 día de edad, causó diarrea, alopecia, reducción de talla y atrofia muscular progresiva (Barroso-Moguel *et al.*, 1996), mientras que la dosis de 32 mg/Kg pc indujo alteraciones bioquímicas y morfológicas en tejidos cartilagosos y óseos, además de retraso en la osificación en extremidades superiores (Barroso-Moguel *et al.*, 1992).

Álvarez-Barrera *et al.*, en 2019 reportaron que la administración de 4.6, 9.2 y 18.5 mg/Kg pc de CH_3COOTI administrado vía ip a ratones preñadas de la cepa CD-1 en el día 7 de gestación provocó variación en la posición de las extremidades, en la postura del tronco y cola, retraso en la osificación, alteraciones esqueléticas como esternibras asimétricas y deformación de huesos de las extremidades. Por otro lado, en la tesis realizada por Santiago-Toledo en 2021, la administración ip de 5.28

mg/Kg del mismo compuesto en el día 7 de gestación indujo variaciones morfológicas, defectos en la postura del tronco y cola, anormalidades en posición de las extremidades, retraso en la osificación, disminución del peso fetal, presencia de canal en la espalda y fontanelas abiertas, entre otras variaciones externas.

1.9 Efectos Genotóxicos del Talio en Modelos *in vitro* e *in vivo*

En modelo de linfocitos humanos de sangre periférica el tratamiento *in vitro* con 0.5, 1, 10, 50 o 100 µg/mL de CH₃COOTI modifica la proliferación celular, mediante la reducción del IM conforme aumenta la concentración. Induce genotoxicidad observado como daño cromosómico, en las concentraciones bajas e intermedias, los rompimientos, fragmentos acéntricos y minutas fueron las aberraciones más frecuentes. Es importante mencionar que en este estudio debido a la reducción del IM, en la concentración más alta no fue posible el análisis de AC (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2013).

En otro trabajo utilizando linfocitos humanos tratados con diferentes concentraciones de sulfato de talio(I) (Tl₂SO₄) o tricloruro de talio(III) (TlCl₃), se encontró que el IM disminuye con ambos compuestos. También se incrementó frecuencia de ACE, ACN y las asociaciones de satélites, conforme aumenta la concentración, excluyendo las más altas ya que no hubo metafases disponibles para realizar dicho análisis (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2017).

En ratones hembra se reportó que la administración de 4.62, 9.25, 18.5 y 37 mg/Kg de pc de CH₃COOTI reduce significativamente el IM en todos los grupos e incrementa el porcentaje de células con AC en las dosis más altas (Buendía-Valverde, 2013). En ratones macho los tratamientos con 4.62, 9.25 o 18.5 mg/Kg del mismo compuesto, disminuye el IM y aumenta las células con AC (Nava-Valencia, 2018). En ninguno de los dos trabajos se encontró efecto dependiente de la dosis.

Por los antecedentes mencionados, resulta de importante conocer los efectos cito- y genotóxicos que pueda inducir la exposición continua al TI en la descendencia de ratones hembra tratadas con TI durante la organogénesis.

1.10 Ratón como Modelo de Prueba

Los recursos para comprender el funcionamiento del hígado fetal humano y los efectos de la exposición de este órgano a sustancias, como metales, son limitados por aspectos éticos. Sin embargo, los modelos animales, incluyendo los roedores, proporcionan una opción para la investigación ya que ofrece disponibilidad de este tejido para su uso en diversos estudios porque permiten manipular un amplio espectro de condiciones y enfocarse en etapas específicas, por ejemplo, el desarrollo prenatal, la organogénesis hepática y el desarrollo en general (Hyatt *et al.*, 2008; Moscovitz y Aleksunes, 2013).

El ratón es un modelo biológico ampliamente utilizado en la investigación, recomendado en pruebas de genotoxicidad ya que tiene características propias como ciclo de vida corto, alta capacidad de reproducción, facilidad en la crianza, transporte y manipulación, requiere poco espacio y bajo costo de mantenimiento (Fuentes *et al.*, 2010; Parekh y Crooks, 2013; Vargas *et al.*, 2018). Además, tienen susceptibilidad a algunas enfermedades que afectan a los humanos, existe amplia disponibilidad de cepas genéticamente homogéneas y con diseños genéticos específicos (Parekh y Crooks, 2013).

Es ampliamente recomendado en ensayos de embriotoxicidad y reproducción, su comportamiento se ve influenciado por feromonas, la actividad reproductiva de esta cepa se lleva a cabo en la noche (periodo de oscuridad) y su patrón reproductivo es caracterizado por ser una especie poliéstrica. La duración del ciclo estral es de 4 – 5 días, con celo de 12 h y son capaces de entrar en estro 14–28 h después del parto. El periodo de gestación del ratón dura entre 19 – 21 días y tienen de 8 – 10 crías por camada, en promedio, los ratones al nacer pesan alrededor de 1–2 gramos y tienen los ojos y el conducto auditivo cerrados (Fuentes *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2018).

Todas las características anteriores favorecen el uso del ratón cepa CD-1 como modelo biológico en la investigación. Las características que destacan es que su sistema inmunológico y su genoma se tiene bien estudiado, es similar al de los

humanos ya que compartimos más del 95 % del genoma, lo cual lo hace apropiado para infinidad de pruebas (Vargas *et al.*, 2018).

Es recomendable realizar pruebas en modelos *in vivo* debido a que algunos agentes no muestran mutagenicidad en ensayos *in vitro* sin embargo son positivos en modelos *in vivo*, esta diferencia se debe a que se incluyen factores del metabolismo, absorción, distribución, y excreción, así mismo el ratón es uno de los organismos preferidos para realizar pruebas de genotoxicidad como el ensayo de AC (FDA, 2012).

1.11 Hígado Fetal

El desarrollo y la maduración exitosa del hígado fetal representan una serie de eventos biológicos, moleculares y estructurales coordinados y son cruciales para la supervivencia intrauterina, neonatal y la salud postnatal del organismo (Peng *et al.*, 2013). Por otro lado, el metabolismo en el hígado fetal es relativamente inmaduro con respecto al tejido adulto ya que la expresión de muchas enzimas metabólicas se ve ampliamente reducida (Peng *et al.*, 2012; Moscovitz y Aleksunes, 2013).

La principal función del hígado fetal es la hematopoyesis, alrededor del día 9.5 al 16 de gestación, en ratón, y del 60 al 195, en humanos, es el principal órgano formador de sangre, posteriormente la producción hepática disminuye gradualmente y se desplaza a la médula ósea (Hyatt *et al.*, 2008; Moscovitz y Aleksunes, 2013).

1.12 Ensayo de Aberraciones Cromosómicas en Hígado Fetal de Ratón

El número, el tamaño y la estructura de los cromosomas son característicos y propios de cada especie, pero pueden surgir variaciones a las que se le conoce como aberraciones, por lo que cualquier cambio en la estructura o número de cromosomas puede considerarse una aberración cromosómica (Pierce, 2010).

El daño en los cromosomas se puede generar por diversas causas, ya sea naturalmente o inducido por agentes químicos, físicos o biológicos. En el caso de las ACN, su principal origen es por daño en el centrómero o en la maquinaria del

huso mitótico que conduce a la no disyunción de cromosomas homólogos o de cromátidas hermanas (Natarajan, 2002; Obe *et al.*, 2002).

Por otra parte, las ACE se deben a lesiones en la doble hélice del ADN, ya sea por daño directo en ambas cadenas o por daño en la cadena sencilla que se transforma en daño de doble cadena. Los principales mecanismos por los que se originan las ACE son: a) no reparación del daño, b) por reparación incorrecta en procesos como recombinación homóloga o por unión de extremos no homólogos (Natarajan, 2002; Obe *et al.*, 2002, Danford, 2012).

De cualquier manera, para poder identificar si hay o no alguna variación cromosómica primero se debe conocer el número y morfología normal de los cromosomas. A diferencia de los humanos que tenemos 23 pares de cromosomas, los ratones cuentan con 20 pares de los cuales 19 son autosómicos y 1 sexual, todos los cromosomas son acrocéntricos y en metafase pueden observarse en forma de V invertida ya que las cromátidas se contraen y se separan (Akerson y Davisson, 2000), tal y como se muestra en la **Figura 2**.

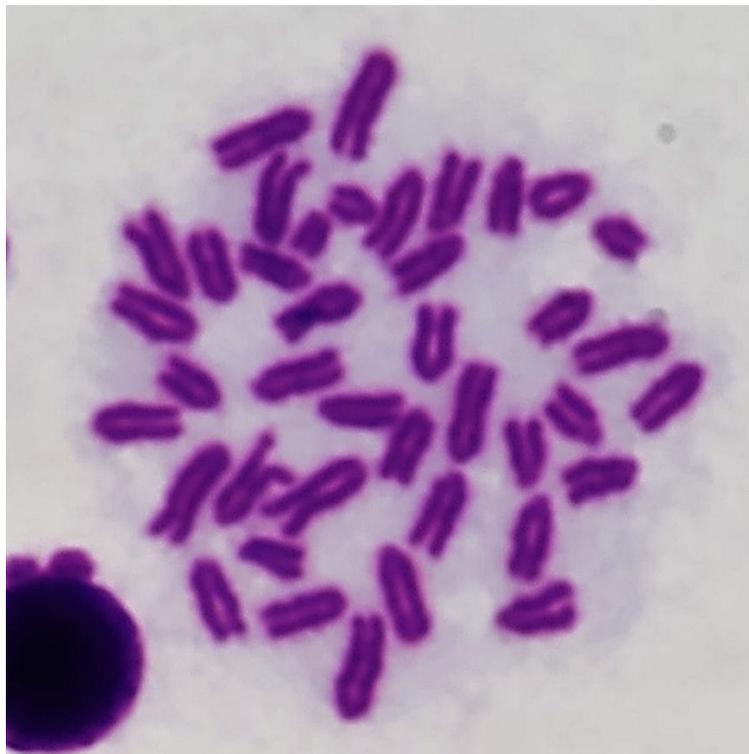


Figura 2. Microfotografía de cromosomas metafásicos de feto de ratón (18 días de gestación, $2n = 40$), tomada con objetivo de 100x. Autoría propia. UNIGEN

Dentro del conjunto de pruebas de genotoxicidad existen algunas recomendadas para evaluar el daño en células de mamífero tanto *in vivo* como *in vitro*, una de estas es el ensayo de AC en células metafásicas, ya que es altamente sensible, de gran confianza para detectar un amplio espectro de cambios en la integridad de los cromosomas y al igual que la prueba de micronúcleos se consideran apropiadas para detectar agentes clastógenos (FDA, 2012; OECD, 2016). Históricamente el ensayo de AC se realiza en médula ósea de roedores, no obstante se puede realizar en cualquier tipo celular nucleado, siempre y cuando se encuentre en división (OECD, 2016).

A pesar de que el hígado adulto no es un tejido apropiado para realizar esta prueba por no encontrarse en división constante, los tejidos fetales si se pueden utilizar debido a que tienen alta tasa de proliferación celular, es por esto por lo que el hígado fetal se encuentra dentro de los tejidos apropiados para evaluar ACE (US EPA, 1986; FDA, 2012; OECD, 2016).

Durante el desarrollo fetal del ratón, el hígado es el principal formador de células sanguíneas, la eritropoyesis hepática se lleva a cabo del día 9.5 al 16 de gestación, sin embargo, las células madre linfoides y hematopoyéticas adultas deben pasar por el hígado fetal antes de llegar a su destino, este órgano es un blanco de los xenobióticos, como los metales, que podrían incrementar el riesgo de que dichas células madre sean dañadas, afectar el linaje celular e incluso en la vida adulta (Cole *et al.*, 1981, Parekh y Crooks, 2013).

2. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años el aumento en la industrialización ha liberado al ambiente grandes cantidades de metales, incluido el TI, lo que ocasiona que la población en general, las mujeres embarazadas y sus hijos en gestación estén expuestos a ellos. Estudios epidemiológicos muestran que la exposición materna al TI puede tener consecuencias, por ejemplo, parto prematuro y bajo peso al nacer.

En la Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental se ha estudiado los efectos del TI en modelos biológicos, ratones adultos de la cepa CD-1 tratados con CH₃COOTI mostraron alteraciones citogenéticas, mientras que en hembras preñadas indujo cambios en la morfología externa y variación en la osificación de sus fetos.

Con base en lo anterior resulta importante estudiar los efectos de la exposición continua a TI en ratones durante la organogénesis, por lo que la finalidad del presente trabajo es evaluar si el CH₃COOTI administrado vía ip a ratones preñados del día 6–16 de gestación aumenta la frecuencia de células con AC en células hepáticas de los fetos descendientes de estas hembras.

3. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El TI produce diversos efectos tóxicos en cultivos celulares y en modelos *in vivo* se ha observado que induce citotoxicidad y genotoxicidad, por lo que se espera inducción de daño cromosómico transplacentario en células hepáticas de fetos obtenidos de ratones hembra preñadas y tratadas con CH₃COOTI durante la organogénesis.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto citotóxico y genotóxico del CH₃COOTI en células hepáticas de fetos obtenidos de hembras preñadas tratadas durante la organogénesis.

4.2 Objetivos Particulares

- Evaluar el IM de células de hígado de los fetos obtenidos de ratones hembra de la cepa CD-1 tratadas vía ip con 5.28 y 6.16 mg/Kg de CH₃COOTI en los días 6, 8, 10, 12, 14 y 16 de gestación.
- Evaluar la frecuencia de ACE en células de hígado de los fetos obtenidos de los ratones hembra tratadas con CH₃COOTI durante la organogénesis.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Animales

Se emplearon 15 ratones hembra de la cepa CD-1 de alrededor de 3 meses de edad con peso de 30 a 35 gramos facilitados por el biotério de la FES Zaragoza, UNAM. Los animales se alojaron en jaulas de plástico con fondo de aserrín y tapa de alambre, con agua y alimento, marca LabDiet 500l Rodent Diet, *ad libitum*, con periodos de luz – oscuridad de 12 h, temperatura de 22.5 ± 1 °C y 48 % de humedad. El manejo de los animales se realizó de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. El proyecto fue revisado y aprobado por el Comité de Ética de la FES-Zaragoza (FESZ-CE/21-118-01).

5.2 Compuestos Químicos

El acetato de talio(I) (CH₃COOTI; CAS 563-68-8; pureza ≥ 97 %), la colchicina (C₂₂H₂₅NO₆; CAS 64-86-8; pureza ≥ 95 %) y el suero fetal bovino (SKU F4135) fueron surtido por Sigma-Aldrich, México. Los reactivos adquiridos de Baker Analyzed, México, fueron el ácido acético glacial (CH₃COOH; CAS 9507-18; pureza ≥ 99 %) y el cloruro de potasio (KCl; CAS 7447-40-7; pureza ≥ 99 %), por parte de J.T. Baker, México, fue el metanol (CH₃OH; CAS 67-56-1; pureza ≥ 99.9 %). El medio de cultivo RPMI 1640 sin rojo fenol proveniente de la compañía Gibco BRL, Invitrogen, en tanto que el colorante Giemsa (CAT 6306) y el agua inyectable (CAS 75592), fueron de los laboratorios Hyclon y Pisa México, respectivamente.

5.3 Diseño Experimental

Los animales se separaron al azar en tres grupos conformados por 5 hembras, distribuidos de la siguiente manera:

- Grupo 1: Testigo negativo tratado con agua inyectable.
- Grupo 2: Tratado con 5.28 mg/Kg de CH₃COOTI. Equivalente a $\frac{1}{7}$ de la dl₅₀ ip para ratón.
- Grupo 3: Tratado con 6.16 mg/Kg de CH₃COOTI. Equivalente a $\frac{1}{6}$ de la dl₅₀ ip para ratón.

El agua inyectable y el compuesto de TI se administraron vía ip en los días 6, 8, 10, 12, 14 y 16 de gestación a las 8:00 h de la mañana (6 aplicaciones en total para cada grupo), se aplicó un volumen de 0.1 mL por cada 10 gramos de pc.

Las dosis empleadas en este trabajo se seleccionaron con base a la dl₅₀ de CH₃COOTI reportada para ratón administrado por vía ip.

Las hembras se pesaron y examinaron externamente todos los días durante el tiempo de tratamiento para detectar signos de posible toxicidad.

5.4 Obtención de Hembras Preñadas

Para realizar el apareamiento de los animales se colocaron dos ratones hembra con un ratón macho. La presencia de tapón vaginal se consideró como día cero de gestación.

5.5 Obtención de Fetos

Se realizó la eutanasia de las hembras preñadas en el día 18 de gestación. Se obtuvieron los cuernos uterinos para posteriormente extraer los fetos, los cuales se mantuvieron en una cama de hielo. De cada camada, se seleccionaron 4 fetos al azar, dos del cuerno derecho y dos del cuerno izquierdo, se les extirpo el hígado para el ensayo de AC, el resto de la camada se fijó en alcohol etílico al 70 %. En total se utilizaron 20 fetos por cada grupo tratado.

5.6 Obtención de Células de Hígado Fetal

El hígado fetal se extirpó bajo el microscopio estereoscópico, se obtuvieron los cuatro lóbulos hepáticos procurando su integridad, se lavaron con medio de cultivo RPMI 1640. El tejido se disgregó usando micropipeta en 1 mL de medio de cultivo en vaso de precipitados de 10 mL, el contenido se vertió en un tubo Falcon de 15 mL. En el mismo tubo se añadió 1 mL de medio de cultivo RPMI suplementado con suero fetal bovino (SFB) y colchicina, se mantuvo en incubación por 90 min en baño de agua a 37 °C. La concentración final de colchicina fue 0.025 %, 10% del SFB, en un volumen final de 2 mL.

Terminado el tiempo de incubación las muestras se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 min, se retiró el sobrenadante, se añadieron 2 mL de solución hipotónica (KCl al 0.56 %) y se mantuvo por 15 min en baño de agua a 37 °C.

Posteriormente las muestras se centrifugaron a 1500 rpm, se retiró el sobrenadante y el botón celular se fijó en dos ocasiones con 5 mL de metanol-ácido acético frío (en proporción 3:1), dejando reposar al menos 10 min entre cada cambio. El fijador se agregó gota a gota en constante agitación, se centrifugó, se retiró el sobrenadante y se obtuvo el botón celular.

Finalmente, el botón celular se resuspendió en 0.5 mL de fijador y se goteó en cuatro portaobjetos limpios previamente desengrasados y codificados para su evaluación a doble ciego, las preparaciones se secaron al aire por al menos 12 h para su posterior tinción con Giemsa al 10 %. La metodología descrita para realizar las preparaciones de AC en hígado fetal se realizó con base en El-Makawy *et al.*, 2008, con modificaciones.

5.7 Evaluación Citogenética

Para evaluar el IM se prepararon cuatro laminillas por hígado de feto, en cada una se contabilizaron 1000 células, en total 4000 células por cada hígado de cada feto, 80000 células por cada grupo. Las preparaciones citogenéticas se revisaron en microscopio óptico con objetivo de 40x, en campos al azar, distinguiendo las células

en interfase de las que se encuentren en metafase, para calcular el IM se empleó la siguiente fórmula:

$$IM = \frac{\text{Número células en metafase}}{\text{Número total de células}} \times 100$$

Para determinar la frecuencia de ACE, se revisaron 60 metafases de buena calidad por cada feto. Se contabilizó el número de cromosomas en la metafase, de 40 ± 2 cromosomas se evaluó la estructura de cada cromosoma registrando cualquier tipo de anomalía (Venitt y Parry, 1984; Akerson y Davisson, 2000).

5.8 Análisis Estadístico

Para el IM se utilizó la prueba de Z para proporciones, mientras que para comparar el porcentaje de células con ACE se empleó la prueba de ANOVA y *post hoc* C de Dunnett.

6. RESULTADOS

6.1 Evaluaciones Citogenéticas

6.1.1 IM

Los resultados de la evaluación del IM en células hepáticas de fetos obtenidos de ratones hembras tratadas con TI durante la organogénesis se muestran en la **Tabla 1** y en la **Figura 3**. Se trabajó con tres grupos de cinco hembras, de los cuales uno fue el testigo negativo tratado con agua inyectable, a otro grupo se le administró 5.28 mg/Kg de CH₃COOTI y el tercero fue tratado con 6.16 mg/Kg del mismo compuesto. Para calcular el IM se contaron 4000 células por cada feto y se utilizaron 20 fetos por cada grupo, por lo que en total se registraron 80000 células para cada grupo de tratamiento.

Los tratamientos fueron comparados con el grupo testigo, el cual presentó el valor de IM de 1.87, mientras que los grupos tratados con 5.28 y 6.16 mg/Kg de CH₃COOTI presentaron valores de 1.49 y 1.43 %, respectivamente (**Figura 3**). También se consideró importante calcular la inhibición del IM (IIM) para identificar las células que no entran en división o dejaron de dividirse, en este sentido y

considerando que el grupo testigo tiene 0 % de inhibición, los grupos tratados con talio presentaron 19.92 y 23.13 %, respectivamente. Esto evidencia que el tratamiento con ambas dosis de CH₃COOTI redujo de forma significativa el IM y por ende incremento la IIM.

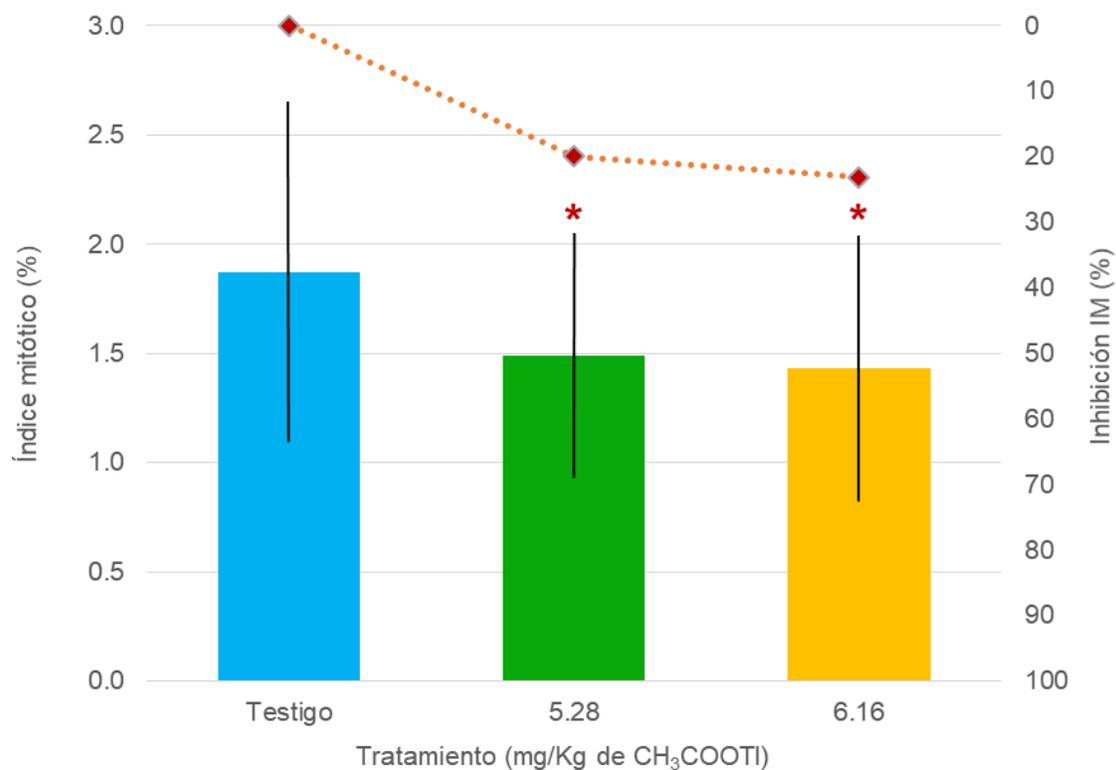


Figura 3. IM e IIM de las células hepáticas de fetos obtenidos de ratones hembra tratadas durante la organogénesis con CH₃COOTI. Prueba Z de proporciones, comparados con el grupo testigo, * $p < 0.05$.

Tabla 1. IM e IMM de las células hepáticas de fetos obtenidos de ratones hembra tratadas durante la organogénesis con CH₃COOTI.

Hembra	Feto	IM en %		
		Testigo	5.28 mg/Kg CH ₃ COOTI	6.16 mg/Kg CH ₃ COOTI
1	1	2.30	1.70	2.28
	2	1.70	1.80	2.03
	3	3.43	1.98	0.93
	4	1.90	1.55	1.38
2	1	1.05	1.30	1.33
	2	2.35	1.35	2.20
	3	1.88	1.38	1.33
	4	3.03	1.38	1.08
3	1	1.80	0.93	1.85
	2	2.28	1.00	3.25
	3	1.25	1.03	1.23
	4	1.05	1.28	1.53
4	1	1.03	3.30	1.20
	2	0.68	2.18	0.78
	3	1.70	2.00	0.90
	4	1.30	1.55	1.03
5	1	3.15	1.18	1.00
	2	1.13	0.90	1.15
	3	1.73	1.10	0.98
	4	2.83	1.10	1.35
Total ± DE (IIM)		1.87 ± 0.78	1.49 ± 0.56 (19.92) *	1.43 ± 0.61 (23.13) *

Prueba Z de proporciones, comparados con el grupo testigo, * $p < 0.05$.

6.1.2 ACE

Los resultados de la prueba de ACE se muestran en la **Tabla 2** y en la **Figura 4**. Se revisaron 60 células en metafase por cada feto, 20 fetos por cada grupo, en total se analizaron 1200 metafases por grupo y se registró cada tipo de aberración cromosómica incluyendo y excluyendo las brechas o “gaps”. El grupo tratado con 5.28 mg/Kg de CH₃COOTI incrementó 2.5 y 2.1 veces el porcentaje de células con ACE con y sin gaps, respectivamente, mientras que el tratamiento con 6.16 mg/Kg del mismo compuesto aumentó 2.7 y 2.5 veces respecto al control.

Tabla 2. Frecuencia y porcentaje de células hepáticas fetales de fetos descendientes de ratones hembra tratadas durante la organogénesis con CH₃COOTI.

Tratamiento		ACE							Células con ACE (%)	Células con ACE s/G (%)	
Hembra	Feto	Cromatídicas			Cromosómicas	Gaps	Frecuencia células con ACE				
		D	R	F	R		Con G	Sin G			
Testigo	1	1	1	0	0	0	1	2	1	3.33	1.67
		2	7	0	1	0	0	5	5	13.33	13.33
		3	1	0	1	0	0	2	2	3.33	3.33
		4	0	0	2	0	2	4	2	6.67	3.33
	2	1	0	1	2	0	0	3	3	5.00	5.00
		2	2	0	0	0	0	2	2	3.33	3.33
		3	3	0	0	0	0	3	3	5.00	5.00
		4	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
	3	1	1	0	2	0	0	2	2	5.00	5.00
		2	0	0	0	1	0	1	1	1.67	1.67
		3	1	0	1	0	1	3	2	5.00	3.33
		4	2	1	0	1	2	6	4	10.00	6.67
	4	1	1	0	0	0	1	2	1	3.33	1.67
		2	1	0	0	0	1	2	1	3.33	1.67
		3	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
		4	0	1	1	0	0	2	2	3.33	3.33
	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
		2	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
		3	0	0	1	0	0	1	1	1.67	1.67
		4	0	1	1	0	4	4	2	10.00	3.33
TOTAL (± DE)		20	4	12	2	12	44	34	3.66 ± 0.86	2.83 ± 0.90	
5.28 mg/Kg CH ₃ COOTI	1	1	1	0	6	0	6	11	6	21.67	11.67
		2	3	3	1	0	9	14	7	26.67	11.67
		3	4	0	2	0	6	12	6	20.00	10.00
		4	3	0	4	0	6	12	7	21.67	11.67
	2	1	0	0	0	0	1	1	0	1.67	0.00
		2	2	1	0	0	1	4	3	6.67	5.00
		3	0	3	0	0	3	5	2	10.00	5.00
		4	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
	3	1	3	0	1	0	2	6	4	10.00	6.67
		2	2	1	2	0	0	5	5	8.33	8.33
		3	1	1	1	0	1	4	3	6.67	5.00
		4	2	3	1	0	0	6	6	10.00	10.00
	4	1	3	0	1	0	5	9	4	15.00	6.67
		2	2	1	0	0	0	3	3	5.00	5.00
		3	2	1	0	0	1	4	3	6.67	5.00
		4	1	1	0	0	0	2	2	3.33	3.33
	5	1	5	1	1	1	0	8	8	13.33	13.33
		2	1	0	1	0	1	3	2	5.00	3.33
		3	1	1	0	0	1	3	2	5.00	3.33
		4	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00
TOTAL (± DE)		36	17	21	1	43	112	73	9.33 ± 1.29 *	6.08 ± 1.19 *	
6.16 mg/Kg CH ₃ COOTI	1	1	2	0	2	0	0	4	4	6.67	6.67
		2	1	0	1	0	1	3	2	5.00	3.33
		3	1	0	1	0	0	2	2	3.33	3.33
		4	1	2	2	0	2	7	5	11.67	8.33
	2	1	1	4	3	2	7	15	9	28.33	16.67
		2	3	0	1	0	6	9	4	16.67	6.67
		3	3	0	1	1	2	7	5	11.67	8.33
		4	1	2	4	1	9	11	8	28.33	13.33
	3	1	3	0	0	0	0	3	3	5.00	5.00
		2	2	0	0	1	2	5	3	8.33	5.00
		3	3	0	0	0	1	4	3	6.67	5.00
		4	3	0	0	0	1	4	3	6.67	5.00
	4	1	1	0	0	0	4	5	1	8.33	1.67
		2	5	0	0	0	0	5	5	8.33	8.33
		3	3	0	0	0	0	3	3	5.00	5.00
		4	0	2	4	0	2	6	4	13.33	10.00
	5	1	4	1	0	0	1	5	4	10.00	8.33
		2	5	0	1	0	1	7	6	11.67	10.00
		3	5	2	1	0	2	9	7	16.67	13.33
		4	3	0	1	0	1	5	4	8.33	6.67
TOTAL (± DE)		50	13	22	5	42	119	85	9.92 ± 1.52 *	7.08 ± 1.35 *	

D: Delección, R: Rompimiento, F: Fragmentos, R: Rompimientos, G: Gaps. Prueba: ANOVA-*post hoc* C de Dunnett, comparados con su testigo, **p* < 0.05.

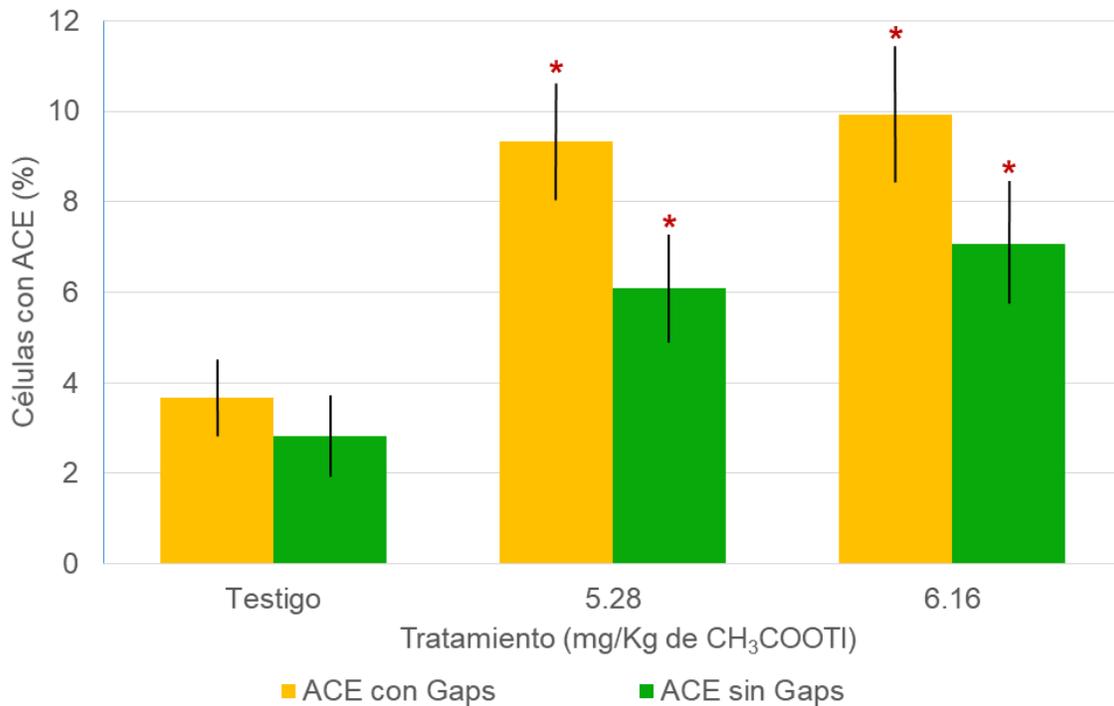
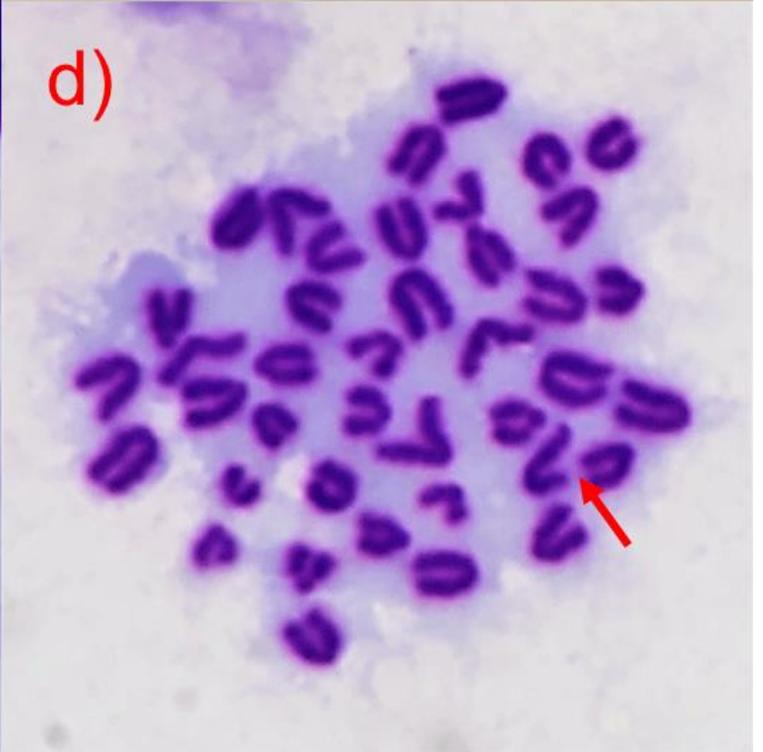
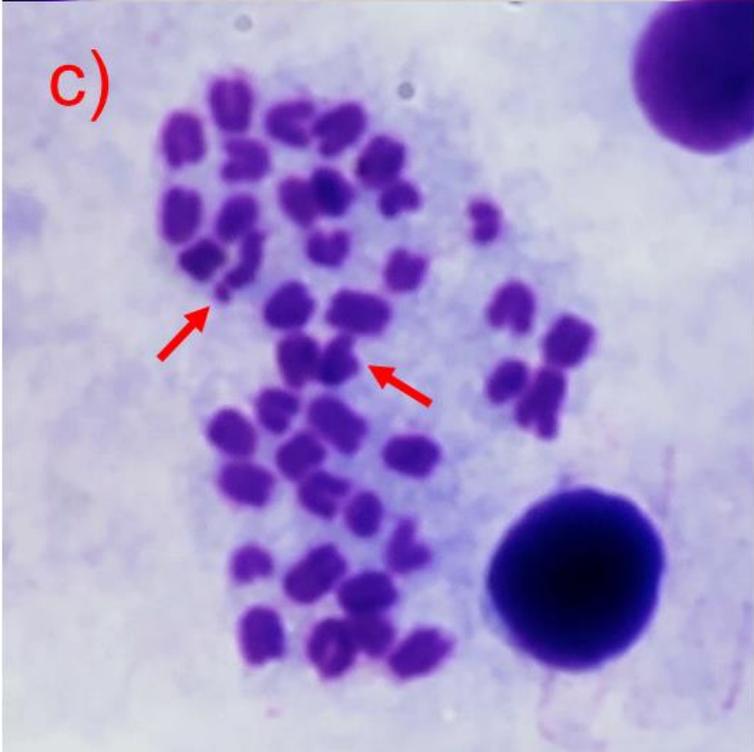
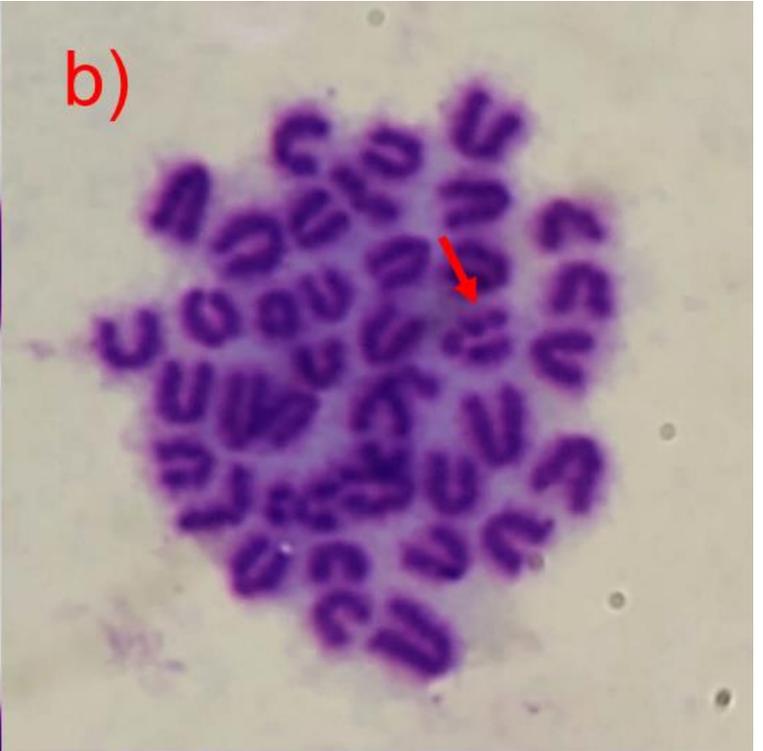


Figura 4. Porcentaje de células hepáticas con ACE de fetos descendientes de ratones hembra tratadas durante la organogénesis con CH₃COOTI. ANOVA, *post hoc* C de Dunnett, comparados con su testigo, * $p < 0.05$.

En la **Figura 5**, se aprecian una metafase normal del grupo control y metafases con deleciones, rompimientos, fragmentos y gaps de tipo cromatídico y cromosómico de los grupos tratados con CH₃COOTI. Cabe mencionar que la tinción simple con Giemsa puede detectar AC inestables como intercambios asimétricos, dicéntricos, anillos y fragmentos, pero no puede detectar aberraciones estables como translocaciones o inversiones (Natarajan y Boei, 2003).



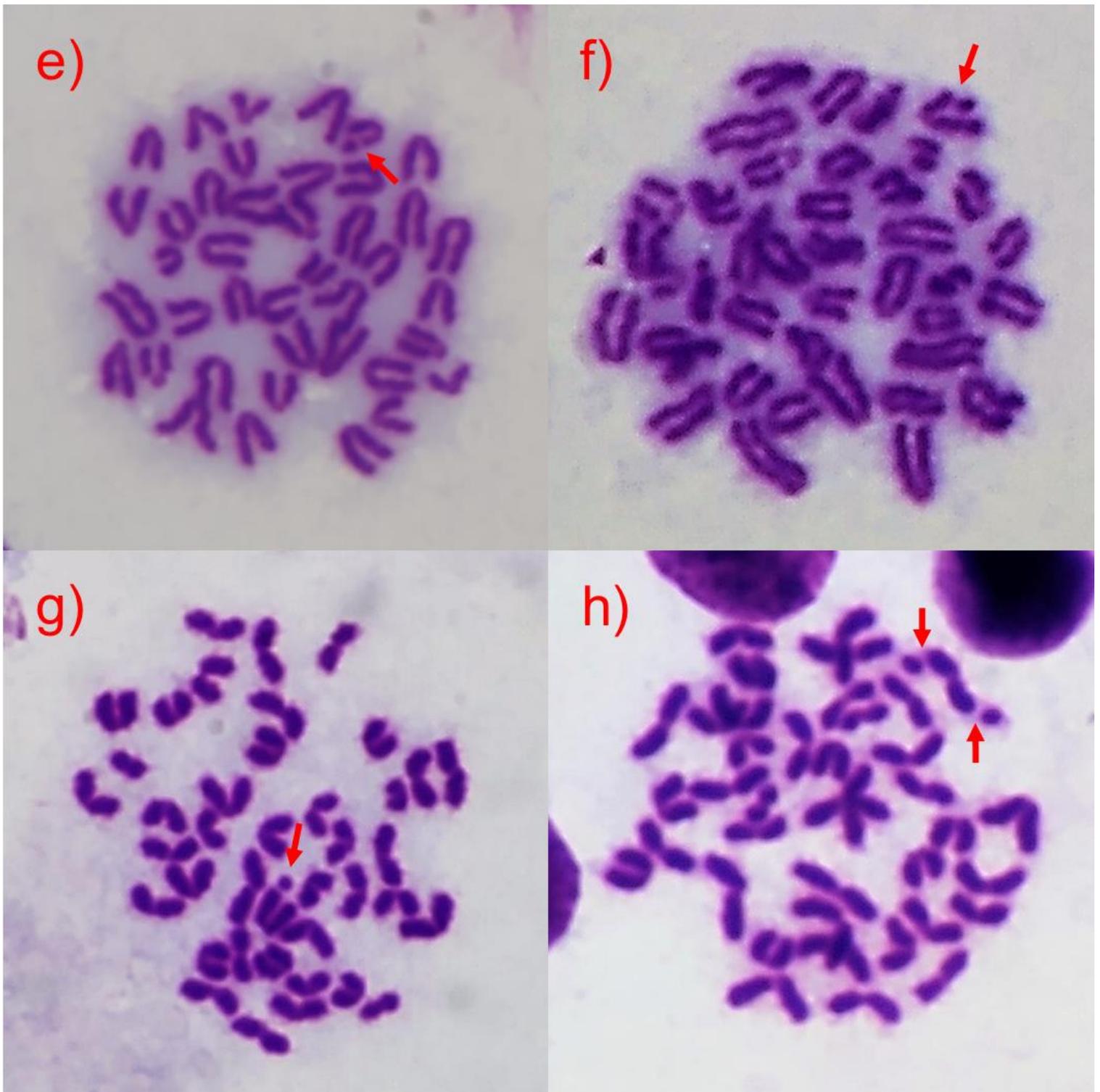


Figura 5. Microfotografías de células hepáticas en metafase de fetos de ratón, tomada con objetivo de 100x. En **a)** metafase del grupo testigo sin ACE. En **b)** gap cromatídico, **c)** deleción y gap cromatídico, **d)** deleción cromatídica, encontrados en metafases del grupo tratado con 5.28 mg/Kg de CH₃COOTI. En **e)** rompimiento cromatídico alineado, **f)** rompimiento cromatídico desalineado, **g)** fragmento y **h)** brecha cromosómica, en metafases del grupo tratado con 6.16 mg/Kg CH₃COOTI. Autoría propia, UNIGEN.

9. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo nos indican que el tratamiento con 5.28 y 6.16 mg/Kg de CH₃COOTI reduce el IM e incrementa el porcentaje de células con ACE en comparación con el grupo testigo, además, no hay diferencia estadística entre los grupos tratados con TI.

Se ha demostrado que el TI induce diversos efectos citotóxicos y genotóxicos en múltiples modelos *in vitro*, como los linfocitos humanos e *in vivo* en la medula ósea de ratones adultos (Buendía-Valverde, 2013; Rodríguez-Mercado *et al.*, 2013; Rodríguez-Mercado *et al.*, 2017; Nava-Valencia, 2018). Se sabe que el desarrollo prenatal es una etapa sensible, a pesar de contar con una barrera biológica, la placenta, muchos compuestos entre ellos el TI son capaces de atravesarla para llegar al feto (Ziskoven *et al.*, 1983; Pachkowski *et al.*, 2011). Las poblaciones de células madre que se encargan de la vida adulta se establecen durante el desarrollo fetal por lo que cualquier daño en el ADN ocurrido en esta etapa puede contribuir al desarrollo de neoplasias, anomalías en el desarrollo o alguna enfermedad en la vida adulta (Cole *et al.*, 1981; Vinson y Hales, 2002; Khayat *et al.*, 2017).

La vida prenatal constituye una de las etapas más críticas del desarrollo ya que se produce replicación masiva de ADN, necesaria para la formación de tejidos, el ciclo celular se vuelve más corto en células embrionarias en comparación con adultas, en consecuencia hay rápida proliferación celular, lo que aumenta la probabilidad de que las lesiones en el ADN escapen a los mecanismos de reparación y se fije el daño debido a que los agentes genotóxicos tienen mayor acceso a las cadenas de ADN durante los procesos de transcripción o replicación y así inducir mutagénesis o lesiones en material genético (Vinson y Hales, 2002; Pachkowski *et al.*, 2011).

Cuando la célula presenta daño en el ADN tiene tres alternativas: seguir con su funcionamiento a pesar de las lesiones, esto puede resultar en más daño, alteración de la replicación y transcripción del ADN e impactar en el metabolismo de la célula, puede intentar repararlo para recuperar las condiciones previas, si tiene éxito el desarrollo continua con normalidad, pero si no se repara adecuadamente se originan cambios permanentes en la secuencia, inestabilidad genómica, o activar la cascada apoptótica. Cualquiera de las opciones, a excepción de la correcta

reparación, podría llevar a la detención del ciclo celular o a la muerte de la célula por consiguiente el número de células disminuye (Vinson y Hales, 2002; Pachkowski *et al.*, 2011).

El IM es un indicador que proporciona información importante acerca del efecto que puede generar el tratamiento con algún compuesto sobre la frecuencia de células en división en los modelos de prueba (Muehlbauer y Schuler, 2003). En este trabajo se observó que la administración de CH₃COOTI durante la organogénesis tiene efecto transplacentario, ya que reduce el IM de los fetos, lo que indica que el tratamiento con este compuesto modifica la proliferación de las células hepáticas fetales.

La toxicidad del TI también se ha demostrado en cultivos de linfocitos humanos, el tratamiento con concentraciones de 0.5 hasta 100 µg/mL de sulfato de talio o cloruro de talio durante 24 h tiene efecto dependiente de la concentración y en a partir de 10 µg/mL inhibe la proliferación celular en 50 %. Además se encontró que el TI⁺ es más toxico que el TI³⁺, ya que en el tratamiento con 100 µg/mL reduce por completo la proliferación (Rodríguez-Mercado *et al.*, 2017, 2019).

Las dosis usadas en el presente trabajo son ¹/₆ y ¹/₇ de la dl₅₀ para ratón, si bien la división celular continua se comprobó que el tratamiento con CH₃COOTI inhibe la proliferación en 19.92 y 23.13 % en células fetales, respectivamente.

Otro trabajo que demuestra que el TI detiene la progresión del ciclo celular es el realizado en células de glioma C6 tratadas con este metal, donde se observó aumento en la población celular en G₂/M, los autores sugirieron que el ciclo celular se está deteniendo en esta fase. También se reportó aumento en la expresión de p53, de inhibidores de CDK, y de peroxidación lipídica (Chia *et al.*, 2005).

Biológicamente se sabe que el ADN es la molécula encargada de portar la información genética, se replica y distribuye a la progenie celular de manera fiel, por lo que debe protegerse contra modificaciones accidentales que se inducen por exposición a agentes ambientales, físicos y químicos, por estrés oxidante intracelular o por errores en procesos biológicos como la replicación o la traducción, (Mladenov e Iliakis, 2011; Pachkowski *et al.*, 2011 Srinivas *et al.*, 2019).

Por lo que las células están dotadas de mecanismos capaces de responder a varios tipos de daño en el ADN resultado de exposiciones endógenas y exógenas, utilizando mecanismos específicos que lo identifica y reparan (Pachkowski *et al.*, 2011) pero las lesiones mal o no reparadas alteraran la secuencia provocando mutaciones u otro tipo de reordenamientos que a su vez conducirán a inestabilidad genómica y finalmente a la formación de AC (Natarajan y Boei, 2003; Mladenov e Iliakis, 2011).

Cada vez se estudian más los compuestos que pueden afectar el desarrollo prenatal de los seres vivos, son pocos los que cuentan con evidencia de afectar esta etapa y de dañar el ADN de forma transplacentaria, como en este trabajo. En uno de estos se administró trióxido de arsénico por inhalación durante 4 h, del día 6 al 14 de gestación, incrementó el número de fetos muertos por camada y retrasó la osificación con efecto dependiente de la concentración; sin embargo, al evaluar AC en el hígado de los fetos provenientes de las hembras tratadas únicamente la dosis más alta presento aumento (Nagymajtenyi *et al.*, 1985).

Se han realizado trabajos que evalúan el efecto de los metales sobre el ADN en tejidos fetales y adultos, uno de ellos reportó que la administración oral de cloruro de estaño (SnCl_2) a ratones antes de la preñez incrementó el número de células de médula ósea con AC en las madres, en sus descendientes indujo malformaciones fetales y esqueléticas, aumentó el número de células hepáticas fetales con AC en la dosis intermedia, mientras que en la dosis más alta presentó pérdida postimplantación completa, por lo que no se contó con fetos para realizar pruebas citogenéticas (El-Makawy *et al.*, 2008).

En otro trabajo se trataron ratones con tres dosis de acetato de aluminio ($\text{C}_6\text{H}_9\text{AlO}_6$), se observó que en células de médula ósea materna este compuesto aumentó el número de células con AC pero no cambio la frecuencia de micronúcleos (MN), en hígado fetal si incrementó el número de células con MN con efecto dependiente de la dosis, esto debido a que los tejidos fetales pueden ser más susceptibles a los efectos tóxicos generados por la exposición a metales (D'Souza *et al.*, 2014).

Estos trabajos demuestran que los efectos inducidos por un compuesto dependen de diversos factores como la sustancia misma, la vía, el tiempo y la dosis de exposición, el modelo de estudio, la etapa de la vida, el tejido y la técnica con la cual se evalúa el daño, de cualquier forma se puede apreciar que la exposición prenatal a metales generalmente tiene efectos en el desarrollo e incluso a nivel de ADN.

En la Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental (UNIGEN) de la FES Zaragoza se realizaron otros trabajos, además del presente, que evalúan los efectos del TI sobre el ADN en modelos *in vivo*, el más reciente reportó que la administración intraperitoneal de CH₃COOTI en las mismas concentraciones y en los mismos días de gestación, indujo incremento en el número de células con micronúcleos en muestras de sangre periférica en hembras y fetos, sin afectar la viabilidad celular y sin signos de toxicidad materna (Hernández-Córdova, 2023).

En este trabajo se observó que el hígado fetal es un órgano que puede ser dañado transplacentariamente por el TI⁺, esto concuerda con lo reportado por otros autores quienes observaron que órganos con alta tasa metabólica como el cerebro, los riñones y el hígado en adultos, son susceptibles a la toxicidad causada por compuestos de TI (Osorio-Rico *et al.*, 2017). Por ejemplo, el daño al cerebro de ratas por este metal se propone que es ocasionado por el aumento del estrés oxidante debido al incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno intracelulares, que a su vez induce lipoperoxidación, daño a las membranas y mitocondrias para así interferir en la producción de energía y finalmente detener el ciclo celular momentánea o permanente, e incluso causar la muerte de la célula (Galván-Arzate *et al.*, 2000; Osorio-Rico *et al.*, 2017).

10. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados de este trabajo, la administración de 5.28 o 6.16 mg/Kg de CH₃COOTI, a ratones hembra preñadas en los días 6, 8, 10, 12, 14 y 16 de gestación reduce el IM y aumenta el porcentaje de células con ACE en el hígado de los fetos descendientes, por lo que el CH₃COOTI induce citotoxicidad y genotoxicidad transplacentariamente en este modelo.

11. REFERENCIAS

- Abudawood, M., Alnuaim, L., Tabassum, H., Ghneim, H. K., Alfhili, M. A., Alanazi, S. T., Alenzi, N. D., Alsobaie, S. (2023). An insight into the impact of serum tellurium, thallium, osmium and antimony on the antioxidant/redox status of PCOS patients: A comprehensive study. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2596.
- Akerson, E. C., Davisson, M. T. (2000). Mitotic chromosome preparations from mouse cells for karyotyping. *Current Protocols in Human Genetics*, 25(1), 4-10.
- Altamirano-Lozano, M. A., Alvarez-Barrera, L., Mateos-Nava, R. A., Fortoul, T. I., Rodríguez-Mercado, J. J. (2014). Potential for genotoxic and reprotoxic effects of vanadium compounds due to occupational and environmental exposures: An article based on a presentation at the 8th International Symposium on Vanadium Chemistry, Biological Chemistry, and Toxicology, Washington DC, August 15–18, 2012. *Journal of immunotoxicology*, 11(1), 19-27.
- Álvarez-Barrera, L., Rodríguez-Mercado, J. J., Mateos-Nava, R. A., Vázquez-Martínez, Y., Altamirano-Lozano, M. A. (2019). Effect on the offspring of pregnant females CD-1 mice treated with a single thallium(I) application. *Reproductive Toxicology*, 90, 1-7.
- ATSRD. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2016). Thallium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Disponible en línea: https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts54.html. Última consulta 07 de mayo 2023.
- Barroso-Moguel, R., Méndez-Armenta, M., Villeda-Hernández, J., Ríos, C., Galván-Arzate, S. (1996). Experimental neuromyopathy induced by thallium in rats. *Journal of Applied Toxicology*, 16(5), 385-389.
- Barroso-Moguel, R., Villeda-Hernández, J., Méndez-Armenta, M., Ríos, C., Galván-Arzate, S. (1992). Osteochondral lesions in developing rats intoxicated with thallium twenty four hours after birth. *Archives of Medical Research*, 23(3), 129-133.
- Buendía-Valverde M. (2013). Evaluación in vivo del efecto genotóxico inducido por exposición al acetato de talio (CH₃COOTl) en ratón hembra CD-1 mediante la prueba de aberraciones cromosómicas. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chia, C. F., Chen, S. C., Chen, C. S., Shih, C. M., Lee, H. M., Wu, C. H. (2005). Thallium acetate induces C6 glioma cell apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1042(1), 523-530.
- Cole, R. J., Taylor, N., Cole, J., Arlett, C. F. (1981). Short-term tests for transplacentally active carcinogens: I. Micronucleus formation in fetal and maternal mouse erythroblasts. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 80(1), 141-157.
- Costantine, M. M. (2014). Physiologic and pharmacokinetic changes in pregnancy. *Frontiers in Pharmacology*, 5 (65). 1-5.
- Covarrubias, S. A., Peña, J. J. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 7-21.
- Danford, N. (2012). The interpretation and analysis of cytogenetic data. *Genetic Toxicology: Principles and Methods*, 817 (6). 93-120.

- Delvals, T. A., Saenz, V., Arias, A. M., Blasco, J. (1999). Thallium in the marine environment: first ecotoxicological assessments in the Guadalquivir estuary and its potential adverse effect on the doñana european natural reserve after the aznalcóllar mining spill (SW Spain). *Ciencias Marinas*, 25(2), 161-175.
- Diniz, W. J., Ward, A. K., McCarthy, K. L., Kassetas, C. J., Baumgaertner, F., Reynolds, L. P., Borowicz, P., Sedivec, K.K., Kirsch, J.D., Dorsman, S.T., Neville, T.L., Forcheiro, J.C., Scott, R., Caton, J.S., Dahlen, C. R. (2023). Periconceptual maternal nutrition affects fetal liver programming of energy-and lipid-related genes. *Animals*, 13(4), 600-615.
- D'Souza, S. P., Vijayalaxmi, K. K., Naik, P. (2014). Assessment of genotoxicity of aluminium acetate in bone marrow, male germ cells and fetal liver cells of Swiss albino mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 766, 16-22.
- El-Makawy, A. I., Girgis, S. M., Khalil, W. K. (2008). Developmental and genetic toxicity of stannous chloride in mouse dams and fetuses. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 657(2), 105-110.
- FDA. Food and Drug Administration. (2012). Guidance for industry: S2 (R1) genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. *Food and Drug Administration: Washington, DC, USA*.
- Fuentes Paredes, F. D. M., Mendoza Yanavilca, R. A., Rosales Fernández, A. L., Cisneros Tarmeño, R. A. (2010). Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.
- Galván-Arzate, S., Martínez, A., Medina, E., Santamaría, A., Ríos, C. (2000). Subchronic administration of sublethal doses of thallium to rats: effects on distribution and lipid peroxidation in brain regions. *Toxicology Letters*, 116(1-2), 37-43.
- Galván-Arzate, S., Santamaría, A. (1998). Thallium toxicity. *Toxicology Letters*, 99(1), 1-13.
- Gibson, J. E., Becker, B. A. (1970). Placental transfer, embryotoxicity, and teratogenicity of thallium sulfate in normal and potassium-deficient rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 16(1), 120-132.
- Hernández-Córdova K. N. (2023). Evaluación de micronúcleos en ratón hembra y su descendencia tratados con acetato de talio(I). Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Herrera, L., Aguilar-Carrillo, J., (2017). Presencia y distribución de talio (TI) en subproductos de procesos minero-metalúrgicos en México. Implicaciones en su liberación al medio ambiente. *Colección de Memorias de los congresos de la Sociedad Química de México, Química Ambiental (QAMB)*, 86-88.
- Hoffman, R. S., Hoffman, R. (2000). Thallium poisoning during pregnancy: a case report and comprehensive literature review. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 38(7), 767-775.
- Hu, X., Zheng, T., Cheng, Y., Holford, T., Lin, S., Leaderer, B., Qiu J., Bassing B., Shi K., Zhang Y., Niu J., Zhu Y., Li Y., Guo H., Chen Q., Zhang J., Xu S., Jin Y. (2015). Distributions of heavy metals in maternal and cord blood and the association with infant birth weight in China. *The Journal of Reproductive Medicine*, 60(1-2), 21-29.
- Hyatt, M. A., Budge, H., Symonds, M. E. (2008). Early developmental influences on hepatic organogenesis. *Organogenesis*, 4(3), 170-175.

- IPCS, International Programme on Chemical Safety. (1996). Thallium. *Environmental health criteria*. 182. World Health Organization.
- Jiang, F., Ren, B., Hursthouse, A., Deng, R. (2020). Evaluating health risk indicators for PTE exposure in the food chain: evidence from a thallium mine area. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(19), 23686-23694.
- Jiang, Y., Xia, W., Zhang, B., Pan, X., Liu, W., Jin, S., Huo, W., Liu, H., Peng, Y., Sun, X., Zhang, H., Zhou, A., Xu, S., Li, Y. (2018). Predictors of thallium exposure and its relation with preterm birth. *Environmental Pollution*, 233, 971-976.
- Karbowska, B. (2016). Presence of thallium in the environment: sources of contaminations, distribution and monitoring methods. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188 (640), 1-19.
- Karbowska, B., Rębiś, T., Zembrzuska, J., Nadolska, K. (2020). Thallium in color tattoo inks: risk associated with tattooing. *Medycyna Pracy*, 71(4), 405-411.
- Kazantzis, G. (2000). Thallium in the environment and health effects. *Environmental Geochemistry and Health*, 22, 275-280.
- Kemnic T.R., Coleman M. (2018). Thallium Toxicity. En. Statpearls, StatPearls Publishing LLC, Treasure Island (FL). Disponible en línea en: <https://europepmc.org/article/nbk/nbk513240>. Última consulta 08 de Agosto de 2023.
- Khayat, S., Fanaei, H., Ghanbarzehi, A. (2017). Minerals in pregnancy and lactation: a review article. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(9), 1-5.
- Liu, J., Luo, X., Sun, Y., Tsang, D. C., Qi, J., Zhang, W, Li, N., Yin, M., Wang, J., Lippold, H., Chen, Y., Sheng, G. (2019). Thallium pollution in China and removal technologies for waters: A review. *Environment International*, 126, 771-790.
- Londoño-Franco, L. F., Londoño-Muñoz, P. T., Muñoz-García, F. G. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145-153.
- Migaszewski, Z. M., Gałuszka, A. (2021). Abundance and fate of thallium and its stable isotopes in the environment. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 20, 5-30.
- Mladenov, E., Iliakis, G. (2011). Induction and repair of DNA double strand breaks: the increasing spectrum of non-homologous end joining pathways. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 711(1-2), 61-72.
- Moeschlin, S. (1980). Thallium poisoning. *Clinical Toxicology*, 17(1), 133-146.
- Montes-Castro, N., Alvarado-Cruz, I., Torres-Sánchez, L., García-Aguilar, I., Barrera-Hernández, A., Escamilla-Núñez, C., Del Razo L., Quintanilla-Vega B. (2019). Prenatal exposure to metals modified DNA methylation and the expression of antioxidant-and DNA defense-related genes in newborns in an urban area. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 55, 110-120.
- Morales-Zarco, M. A., Osorio-Rico, L., Aschner, M., Galván-Arzate, S., Santamaría, A. (2021). Thallium Neurotoxicity. *Handbook of Neurotoxicity*, 1-27.
- Moscovitz, J. E., Aleksunes, L. M. (2013). Establishment of metabolism and transport pathways in the rodent and human fetal liver. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(12), 23801-23827.

- Muehlbauer, P. A., Schuler, M. J. (2003). Measuring the mitotic index in chemically-treated human lymphocyte cultures by flow cytometry. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 537(2), 117-130.
- Mulkey, J. P., Oehme, F. W. (1993). A review of thallium toxicity. *Veterinary and Human Toxicology*, 35(5), 445-453.
- Nagymajtenyi, L., Selypes, A., Berencsi, G. (1985). Chromosomal aberrations and fetotoxic effects of atmospheric arsenic exposure in mice. *Journal of Applied Toxicology*, 5(2), 61-63.
- Natarajan, A. T. (2002). Chromosome aberrations: past, present and future. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1-2), 3-16.
- Natarajan, A. T., Boei, J. J. W. A. (2003). Formation of chromosome aberrations: insights from FISH. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 544(2-3), 299-304.
- Nava-Ruíz, C., Méndez-Armenta, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Archivos de Neurociencias*, 16(3), 140-147.
- Nava-Valencia L. (2018). Evaluación del efecto genotóxico del acetato de talio (I) en células de médula ósea de ratón macho CD-1. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México.
- NOM-062-ZOO-1999. (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. (2004). Norma Oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004: Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. Recuperado de: <https://www.gob.mx/profepa/documentos/norma-oficial-mexicana-nom-147-semarnat-ssa1-2004>.
- Obe, G., Pfeiffer, P., Savage, J. R. K., Johannes, C., Goedecke, W., Jeppesen, P., Natarajan A. T., Martínez-López W., Folle G. A., Drets, M. E. (2002). Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 504(1-2), 17-36.
- OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. (2016). Test N° 475: Mammalian bone marrow chromosomal aberration test. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*. Sección 4, OECD. Recuperado de: https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-475-mammalian-bone-marrow-chromosomal-aberration-test_9789264264786-en#page1.
- Olsen, I., Jonsen, J. (1982). Whole-body autoradiography of ²⁰⁴Tl in embryos, fetuses and placentas of mice. *Toxicology*, 23(4), 353-358.
- Osorio-Rico, L., Santamaria, A., Galván-Arzate, S. (2017). Thallium toxicity: general issues, neurological symptoms, and neurotoxic mechanisms. *Neurotoxicity of metals*, 18, 345-353.

- Pachkowski, B. F., Guyton, K. Z., Sonawane, B. (2011). DNA repair during in utero development: a review of the current state of knowledge, research needs, and potential application in risk assessment. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 728(1-2), 35-46.
- Pappas, R. S., Polzin, G. M., Zhang, L., Watson, C. H., Paschal, D. C., Ashley, D. L. (2006). Cadmium, lead, and thallium in mainstream tobacco smoke particulate. *Food and Chemical Toxicology*, 44(5), 714-723.
- Parekh, C., Crooks, G. M. (2013). Critical differences in hematopoiesis and lymphoid development between humans and mice. *Journal of Clinical Immunology*, 33, 711-715.
- Peng, L., Cui, J. Y., Yoo, B., Gunewardena, S. S., Lu, H., Klaassen, C. D., Zhong, X. B. (2013). RNA-sequencing quantification of hepatic ontogeny of phase-I enzymes in mice. *Drug Metabolism and Disposition*, 41(12), 2175-2186.
- Peng, L., Yoo, B., Gunewardena, S. S., Lu, H., Klaassen, C. D., Zhong, X. B. (2012). RNA sequencing reveals dynamic changes of mRNA abundance of cytochromes P450 and their alternative transcripts during mouse liver development. *Drug Metabolism and Disposition*, 40(6), 1198-1209.
- Peter, A. J., Viraraghavan, T. (2005). Thallium: a review of public health and environmental concerns. *Environment International*, 31(4), 493-501.
- Pierce, B. (2010), *Genética. Un enfoque conceptual. Quinta Edición. Editorial medica Panamericana. Madrid, España.*
- Pourahmad, J., Eskandari, M. R., Daraei, B. (2010). A comparison of hepatocyte cytotoxic mechanisms for thallium (I) and thallium (III). *Environmental Toxicology*, 25(5), 456-467.
- Rader, S. T., Mazdab, F. K., Barton, M. D. (2018). Mineralogical thallium geochemistry and isotope variations from igneous, metamorphic, and metasomatic systems. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 243, 42-65.
- Repetto, G., del Peso, A. (2012). Gallium, indium, and thallium (6th Edition). In: Bingham, E., Cohrssen, B. (Eds). *Patti's Toxicol*, 1, 257-354. New York: John Wiley and Sons.
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Lagos, M. D., Jimenez, E. G. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería Investigación y Desarrollo*, 16(2), 66-77.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Altamirano-Lozano, M. A. (2013). Genetic toxicology of thallium: a review. *Drug and Chemical Toxicology*, 36(3), 369-383.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Álvarez-Barrera, L., Mateos-Nava, R. A., Rodríguez-Espitia, J. D., Altamirano-Lozano, M. A. (2019). Induction of cytotoxicity in human cells exposed to thallium (I) and thallium (III). *Current Topics in Toxicology*, 15, 17-27.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Hernández-de la Cruz, H., Felipe-Reyes, M., Jaramillo-Cruz, E., Altamirano-Lozano, M. A. (2013). Evaluation of cytogenetic and DNA damage caused by thallium (I) acetate in human blood cells. *Environmental Toxicology*, 30(5), 572-580.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Mosqueda-Tapia, G., Altamirano-Lozano, M. A. (2017). Genotoxicity assessment of human peripheral Lymphocytes induced by thallium (I) and thallium (III). *Toxicological and Environmental Chemistry*, 99(5-6), 987-998.

- Sabbioni, E., Gregotti, C., Edel, J., Marafante, E., Di Nucci, A., Manzo, L. (1982). Organ/tissue disposition of thallium in pregnant rats. In *New Toxicology for Old: A Critique of Accepted Requirements and Methodology* (pp. 225-230). Springer Berlin, Heidelberg.
- Saddique, A., Peterson, C. D. (1983). Thallium poisoning: A review. *Veterinary and Human Toxicology*, 25(1), 16-22.
- Sánchez-Chapul, L., Santamaría, A., Aschner, M., Ke, T., Tinkov, A. A., Túnez, I., Osorio-Rico, L., Galván-Arzate, S., Rangel-López, E. (2023). Thallium-induced DNA damage, genetic, and epigenetic alterations. *Frontiers in Genetics*, 14.
- Santiago-Toledo N. (2021). Efecto del acetato de talio (CH₃COOTl) y cloruro de cadmio (CdCl₂) en los fetos de ratones hembra de la cepa CD-1 tratadas en el día siete de gestación. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sherlock, J. C., Smart, G. A. (1986). Thallium in foods and the diet. *Food Additives and Contaminants*, 3(4), 363-370.
- Sordo, M., Maciel-Ruiz, J. A., Salazar, A. M., Robles-Morales, R., Veloz-Martínez, M. G., Pacheco-Limón, J. H., Nepomuceno-Hernández A., Ayala-Yáñez R., Gonsebatt M. Ostrosky-Wegman P. (2019). Particulate matter-associated micronuclei frequencies in maternal and cord blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 60(5), 421-427.
- Srinivas, U. S., Tan, B. W., Vellayappan, B. A., Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox biology*, 25, 101084.
- Tan, E. K., Tan, E. L. (2013). Alterations in physiology and anatomy during pregnancy. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynecology*, 27 (6), 791-802.
- US EPA, Environmental Protection Agency (2018). National Primary Drinking Water Regulations. Disponible en línea en: <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>. Última consulta 09 de Agosto de 2023.
- US EPA, Environmental Protection Agency. (1986). Guidelines for mutagenicity risk assessment. *Federal Register*, 51, 34006-34012.
- US EPA, Environmental Protection Agency. (2009). Toxicological review of thallium and compounds. *Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System*. Washington, D.C.
- Vargas Miranda, B., Ambriz García, D., Navarro Maldonado, M. D. C., Trejo Córdova, A., Rodríguez Esquivel, G., González Vieira, M. D. R. (2018). Manejo de animales del Bioterio de la UAM-I. *Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa*, México.
- Varshavsky, J., Smith, A., Wang, A., Hom, E., Izano, M., Huang, H., Padula, A., Woodruff, T. J. (2020). Heightened susceptibility: A review of how pregnancy and chemical exposures influence maternal health. *Reproductive Toxicology*, 92, 14-56.
- Venitt, S., Parry, J. M., Parry, J. M. (Eds.). (1984). *Mutagenicity testing: A practical approach*. Irl Press.
- Vinson, R. K., Hales, B. F. (2002). DNA repair during organogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 509(1-2), 79-91.

- Wu, M., Shu, Y., Song, L., Liu, B., Zhang, L., Wang, L., Liu Y., Bi J., Xiong C., Cao Z., Xu S., Xia W., Li Y., Wang Y. (2019). Prenatal exposure to thallium is associated with decreased mitochondrial DNA copy number in newborns: evidence from a birth cohort study. *Environment International*, 129, 470-477.
- Wu, M., Wang, L., Song, L., Liu, B., Liu, Y., Bi, J., Liu Q., Chen K., Li Y., Xia W., Shunqing X., Cao Z., Zhou A., Tian Y., Wang Y. (2021). The association between prenatal exposure to thallium and shortened telomere length of newborns. *Chemosphere*, 265, 129025.
- Zhong, Q., Qi, J., Liu, J., Wang, J., Lin, Oyuang, Q., K., Zhang, X., Wei, X., Xiao. T., El-Naggar, A., Rinklebe, J. (2022). Thallium isotopic compositions as tracers in environmental studies: A review. *Environment International*, 162, 107148.
- Zhou, H., Sun, X., Wang, Y., Ye, Y., Chen, H., Chen, Q., He, G., Wang, J., Liu, X., Dong, M., Chen, D., Chen, G., Yuan, L., Xiao, J., Hu, J., Zeng, W., Rong, Z., Zhang, Q., Zhou, M., Guo, L., Lv, Y., Fan, J., Pu, Y., Ma, W., Zhang, B., Liu, T. (2021). The mediating role of placental weight change in the association between prenatal exposure to thallium and birth weight: a prospective birth cohort study. *Frontiers in Public Health*, 9, 898.
- Ziskoven, R., Achenbach, C., Schulten, H. R., Roll, R. (1983). Thallium determinations in fetal tissues and maternal brain and kidney. *Toxicology Letters*, 19(3), 225-231.

12. Anexo. Constancias y premio de participación en eventos académicos.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CONSTANCIA

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

A **Eduardo Lezama Sánchez, Rodrigo Aníbal Mateos Nava, Juan José Rodríguez Mercado y Lucila Álvarez Barrera**

Por su participación en la modalidad de **Cartel**, con el Tema: *"Evaluación de aberraciones cromosómicas en fetos obtenidos de ratonas tratadas con talio"*, en el marco del **18º Congreso de Investigación en la FES Zaragoza**; organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación, del 5 al 9 de septiembre del año en curso.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad de México, 30 de noviembre del 2022

4637030756415059275450512

Dr. Vicente Jesús Hernández Abad
Director





Sociedad Mexicana de Genética A.C.



La Sociedad Mexicana de Genética A. C. e Instituciones Organizadoras

Otorgan la presente

CONSTANCIA A:

**Lezama Sánchez E, Mateos Nava RA, Rodríguez Mercado JJ,
Álvarez Barrera L.**

Por su participación como PONENCIA EN CARTEL *“Aberraciones cromosómicas en fetos de ratonas tratadas con talio”* en el Congreso Nacional de Genética 2022 realizado del 25 al 28 de octubre de 2022.

M. EN C. MARÍA ISABEL BECERRA RODRÍGUEZ
DIRECTORA DEL ITTJ.

M. EN C. IRMA ELENA DUEÑAS GARCÍA
PRESIDENTE DE LA SMG AC 2022-2023.

DRA. GRACIELA GUDIÑO CABRERA
RECTORA DEL CUCBA, UDEG.



La Sociedad Mexicana de Genética A. C. e Instituciones Organizadoras

Otorgan el presente

DIPLOMA

A: LEZAMA SÁNCHEZ E., MATEOS NAVA R. A., RODRÍGUEZ MERCADO J.J., ÁLVAREZ BARRERA L.

Por haber obtenido el PRIMER LUGAR EN EL CONCURSO AL MEJOR CARTEL DR. LINO DÍAZ DE LEÓN en la modalidad (licenciatura), con el título "*Aberraciones cromosómicas en fetos de ratonas tratadas con Talio*".

M. EN C. IRMA ELENA DUEÑAS GARCÍA
PRESIDENTE DE LA SMG AC 2022-2023.

LUIS FELIPE SANTOS CRUZ
SECRETARIO DE LA SMG AC 2022-2023.