

Citotoxicidad en células gaméticas y somáticas de ratones tratados vía aérea con óxidos de vanadio

Pérez Guadalupe^{1,3}, Castillo Jessica^{1,3}, Díaz Sergio^{1,3}, Estrada Layla^{1,3}, Velázquez Ximena^{1,3} y Roldán Elia^{1,2,3*}

Citogenética y Mutagénesis (LI-FESZ-350115; L-2 pp.) UMIEZ-CII¹,
División de Estudios de Posgrado e Investigación², Carrera de Biología³
Facultad de Estudios Superiores (FES) Zaragoza
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

* Autor de correspondencia: eliar@unam.mx

Abstract— Vanadium is a metal with great importance due to its usefulness and presence in the environment. This element can enter the body, travel via the bloodstream and accumulate in tissues such as bone marrow and seminiferous epithelium. Depending on the oxidation state, it produces different responses, therefore, this research evaluates its cytotoxic effect in gametic, and somatic cells of mice treated with V_2O_3 , V_2O_4 and V_2O_5 in different doses by subchronic airway exposure. The mitotic index of bone marrow cells and spermatogonia and the meiotic index of spermatocytes are calculated. The results show a significant decrease in cell proliferation in most treatments where the effect differs depending on the dose, oxide and cell analyzed.

Keyword— Cytotoxicity, spermatogonia, spermatocytes I, bone marrow, vanadium oxides, cell proliferation.

Resumen— El vanadio es un metal con gran importancia debido a su utilidad y presencia en el ambiente. Este elemento puede ingresar al organismo, viajar vía torrente sanguíneo y acumularse en tejidos como médula ósea y epitelio seminífero. Dependiendo del estado de oxidación produce diferentes respuestas, por ello, esta investigación evalúa su efecto citotóxico en células gaméticas y somáticas de ratones tratados con V_2O_3 , V_2O_4 y V_2O_5 en diferentes dosis por exposición subcrónica vía aérea. Se calculó el índice mitótico de células de médula ósea y espermatogonias e índice meiótico de espermatocitos I. Los resultados muestran una disminución significativa de proliferación celular en la mayoría de los tratamientos aplicados donde el efecto difiere según la dosis, óxido y célula analizada.

Palabras claves— Citotoxicidad, espermatogonias, espermatocitos I, médula ósea, óxidos de vanadio, proliferación celular.

I. INTRODUCCIÓN

El material particulado (PM) es un indicador de contaminación aérea [1]. Estas partículas consisten en un núcleo de carbón y complejas mezclas de compuestos que se adhieren a él, especialmente metales como el **vanadio** [2], presente en el nivel respirable PM 2.5 [3].

El vanadio ($Z=23$) es un metal de transición del grupo VB de la tabla periódica. Tiene configuración electrónica $[Ar] 4s^2 3d^3$, masa atómica 50.95 g/mol, densidad 6.11 g/cm³, punto de fusión 1950 °C y punto de ebullición 3600 °C. Sus estados de oxidación van del -1 al +5, puede pasar de un estado a otro por la transferencia de un electrón mediante procesos de óxido-reducción. Los estados +3, +4 y +5 son los más comunes y poseen función biológica [4,5,6].

Este metal de transición es utilizado para fabricar herramientas, implantes ortopédicos, maquinaria, semiconductores, reveladores fotográficos y agentes colorantes. Las sales, incluidos los óxidos de vanadio, se utilizan como catalizadores para producir ácido sulfúrico, en la purificación de gases y oxidación del etanol [7,8]. Otros compuestos de vanadio han adquirido importancia en la investigación biomédica contra la diabetes y obesidad, mejoramiento del rendimiento físico y como anticonceptivo

vaginal [4]. Además, se tiene el interés de usarlos en el desarrollo de antimicrobianos, antivirales, antihipercolesterolémicos, antitumorales, cardio y neuroprotectores [5,9].

El vanadio es el vigésimo segundo elemento más abundante del planeta con presencia del 0.02 %. Es el quinto metal de transición con mayor presencia en el suelo y el segundo en océanos [4,5,6]. Su emisión mundial se estima entre 71,000-210,000 ton/año, produciéndose 2/3 por fuentes antropogénicas, específicamente como **óxidos**, el resto se produce por fuentes naturales como erosión del suelo y emisiones volcánicas. La OMS considera que en zonas urbanas los valores medios anuales están en un rango de 0.05-0.18 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ alcanzando concentraciones máximas de 2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ [2].

El ingreso del vanadio al organismo ocurre a través de la piel, tracto gastrointestinal y sistema respiratorio (Fig. 1a) [4]. En el cuerpo humano, su concentración intracelular aproximada es 0.3 μM [5]. La ingesta oral diaria varía entre 10 μg a 2 mg (10 mg/día/kg causan efectos en el organismo), se producen cambios por acción de la saliva, estómago y tracto intestinal, en mayor parte se convierte en $\text{VO}(\text{OH})_2$ que se excreta por las heces. En los alvéolos, los **óxidos de vanadio** se convierten en vanadato que es reabsorbido. Problemas pulmonares pueden resultar de la respiración de una alta concentración, lo cual es un problema para trabajadores expuestos [9].

En plasma humano, la concentración promedio es de 200 nM. En el torrente sanguíneo el vanadio se encuentra en forma de vanadato y vanadilo, se une a proteínas plasmáticas para luego distribuirse a distintos tejidos, así el vanadio en sangre es reducido alrededor del 30% en un día. La mayor acumulación del elemento se da habitualmente en hígado, riñón, testículos y huesos donde el vanadato puede sustituir al fosfato [4,7,9,10].

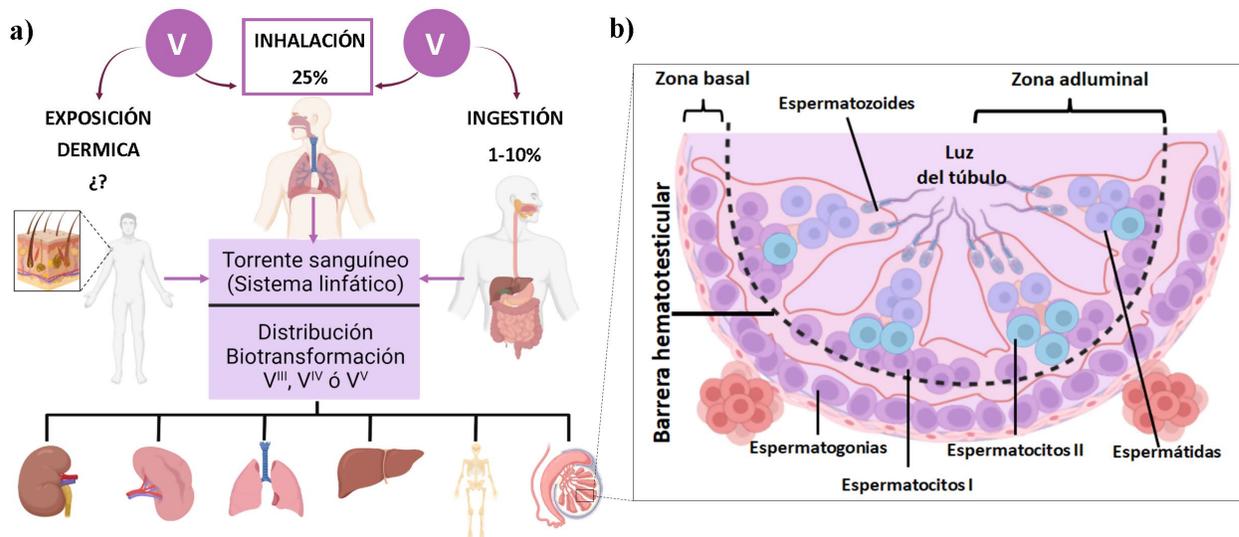


Fig. 1. a) Órganos blanco del vanadio (V) (modificado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006),
 b) Estructura interna del túbulo seminífero (modificado de López, 2012).

En los testículos se lleva a cabo la espermatogénesis, específicamente dentro los túbulos seminíferos donde se reconocen dos regiones; la zona basal y la zona adluminal delimitadas por la **barrera hematotesticular (BHT)** que está formada por uniones citoplasmáticas de las células de Sertoli. En la zona basal permanecen las **espermatogonias** en división mitótica activa, parte de estas reducirán su material cromosómico mediante divisiones meióticas y pasarán a la zona adluminal donde se localizan

células gaméticas con mayor grado de diferenciación tales como **espermatoцитos I** que están protegidos por el citoplasma de las células de Sertoli (Fig. 1b) [11].

Estudios en animales han demostrado que la exposición a vanadio afecta los valores espermáticos, al producir excesivo estrés oxidativo [12,13]. La exposición inhalatoria de vanadio en ratones muestra una disminución significativa de γ -tubulina en células testiculares alterando la formación y función de los microtúbulos. Además, produce cambios en los filamentos de actina citoesquelética que contribuye con funciones importantes como el mantenimiento de la BHT. Estos cambios morfológicos y funcionales en células testiculares regularmente resultan en muerte celular [14,3,2].

La **médula ósea (MO)** es el tejido primario que mantiene la producción de células sanguíneas a través del proceso conocido como hematopoyesis. Este tejido cuenta con una microvasculatura formada por una red sinusoidal fenestrada (endotelio discontinuo y lámina basal) que permite una alta permeabilidad a los solutos, incluido cualquier xenobiótico que viaje en el torrente sanguíneo, como el vanadio [15].

Se evaluó la actividad citotóxica de los óxidos de vanadio empleando el cálculo del IM, el cual mide el estado proliferativo de una población celular al considerar el porcentaje de células que entran en mitosis (o meiosis, según sea el caso) y el número de células que se encuentran en interfase. En ratones adultos, el porcentaje de células mitóticas cuantificado mediante el Índice Mitótico (**IM**) obtenidas a partir de MO incrementa en un factor de 3-4 después de un tratamiento con colchicina. En los testículos de roedores, la duración del ciclo celular es más larga (26 h), en consecuencia, el Índice Mitótico de Espermatogonias (**IME**) e Índice Meiótico de Espermatocitos I (**IME**), es menor al IM [16, 17].

El riesgo para la salud relacionado con la exposición a vanadio depende, en gran medida, de su estado de oxidación. Entre los óxidos de vanadio más comunes se encuentran: el pentóxido de vanadio (**V₂O₅**), compuesto comercial ampliamente utilizado, es el óxido de vanadio más común en la exposición industrial, cuenta con la especie más tóxica siendo designado como potencial cancerígeno [2,8,18]. El tetraóxido de vanadio (**V₂O₄**) es un polvo azul-negro obtenido de la cristalización gradual del V₂O₃, se utiliza para catalizar reacciones a temperaturas elevadas [4]. Por último, el trióxido de vanadio (**V₂O₃**) es un polvo negro de naturaleza básica [19], empleado en varios procesos industriales, se ha reportado la presencia de asma bronquial en trabajadores expuestos frecuentemente a este compuesto. En estado +3, el vanadio es inestable a pH fisiológico o en presencia de oxígeno [4,20].

Con base a la información anterior, en este proyecto se planteó el objetivo de evaluar el posible **efecto citotóxico** en células gaméticas y somáticas de ratones CD-1 expuestos a diferentes tratamientos subcrónicos con V₂O₃, V₂O₄ y V₂O₅ en distintas dosis por vía de administración aérea.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Modelo biológico

Este proyecto siguió la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 [21]. Se emplearon ratones macho CD-1 con 8-12 semanas de edad, peso de 41±3 g, obtenidos del bioterio perteneciente a la FES-Zaragoza, UNAM. Se mantuvieron con fotoperiodos de 12 h luz/12 h oscuridad a 21±1°C, humedad del 40-50% y acceso *ad libitum* al alimento y agua.

B. Tratamientos

Se aplicaron distintas dosis de V_2O_3 y V_2O_4 con base a sus **DL50** (Dosis Letal Media) [12,22]. Para el V_2O_5 se usaron dosis mayores a 0.02 M, cantidad mínima que reporta efecto en murinos [24]. Además, se manejó un control negativo (sin tratamiento), y un control positivo con Mitomicina C (Tabla I).

Se formaron grupos de 5-7 ratones, cada grupo tuvo por tratamiento una dosis particular de óxido de vanadio, la cual fue disuelta en agua destilada y administrada por medio de un nebulizador dentro de una caja acrílica durante una hora, en campana de extracción prendida. Cada tratamiento contó con ocho aplicaciones en intervalos de 48 h por 15 días con objetivo de cubrir el periodo proliferativo de las espermatogonias.

Tabla I. Tratamientos y grupos empleados en la evaluación de los óxidos de vanadio

Tratamientos	V2O3 a		V2O4 b		V2O5 c	
	[M]	# Ratones	[M]	# Ratones	[M]	# Ratones
Control negativo	0.0	5	-	-	-	-
Control positivo Mitomicina C	8.0x10 ⁻²	5	-	-	-	-
- DOSIS -						
Baja (¼ DL50)	1.10x10 ⁻⁴	5	9.0x10 ⁻⁴	5	2.0x10 ⁻² **	5
Media (½ DL50)	2.21x10 ⁻⁴	6	1.8x10 ⁻³	5	4.0x10 ⁻² **	5
Alta (¾ DL50)	3.32x10 ⁻⁴	6	2.7x10 ⁻³	7	8.0x10 ⁻² **	5
-	-	-	-	-	1.2x10 ⁻¹ **	5
-	-	-	-	-	1.6x10 ⁻¹ **	5

^aDL50= 6.65 mg/kg [22], ^bDL50=150 mg/kg [12], ^c0.02 M [23]. *Aplica solo a IME e IME. **Solo aplica para IM.

C. Obtención del material celular

24 h después de la última aplicación del tratamiento, a cada ratón se le administró vía intraperitoneal 0.1 ml de colchicina 0.3% por 10 g de peso corporal. **Cinco horas** después se llevó a cabo su eutanasia.

Para la obtención de **metafases de espermatogonias** (Fig. 2a) y **espermatoцитos I** (Fig. 2b) se diseccionaron ambos testículos de cada ratón, se maceraron con 10 ml de solución hipotónica KCl 0.075 M a 37° C, se dejó precipitar el tejido descartando el sobrenadante, se agregaron 5 ml de KCl 0.075 M y se mantuvo en hipotonización por 30 min. Se centrifugó a 3500 rpm por cinco min, se desechó el sobrenadante y se agregó 5 ml de fijador metanol - ácido acético 3:1 frío. Se realizó una segunda fijación con 5 ml de ácido acético al 60%. La suspensión celular se goteo en portaobjetos glaseados desde una altura de 80 cm y se tiñó con colorante Giemsa 1:10 por 10 min [16,24,25].

Simultáneamente, para la obtención de **metafases de células de MO** (Fig. 2c), de cada ratón se diseccionan los fémures de los cuales se extrajo la MO con KCl 0.075 M. El tejido se mantuvo en hipotonización por 40 min, se centrifugó a 1500 rpm por 10 min y recuperando el botón celular se agregó 5 ml de fijador frío. Las laminillas fueron preparadas y teñidas con Giemsa [16,26,27].

D. Evaluación y análisis estadístico

Se observaron las laminillas al microscopio a 20x y 40x (Nikon, Japón). Se contabilizaron 2000 células por ratón, incluyendo metafases y células en interfase. Con los datos obtenidos se calcularon los

Índices: **IME** (Índice Mitótico de Espermatogonias) (1), **IMe** (Índice Mitótico de Espermatocitos I) (2) e **IM** (Índice Mitótico de células de Médula Ósea) (3).

$$\text{IME} = [(Células\ espermatogoniales\ en\ metafase)/(Total\ de\ células\ contadas)] \times (100) \quad (1)$$

$$\text{IMe} = [(Células\ de\ espermatocitos\ I\ en\ metafase)/(Total\ de\ células\ contadas)] \times (100) \quad (2)$$

$$\text{IM} = [(Células\ de\ la\ médula\ ósea\ en\ metafase)/(Total\ de\ células\ contadas)] \times (100) \quad (3)$$

Se aplicó la prueba Z para proporciones, con el fin de determinar la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los IME, IMe y IM de cada grupo puesto bajo tratamiento con su respectivo control negativo. Se empleó la prueba de ANOVA seguida de Duncan en el análisis de los índices proliferativos entre todos los grupos estudiados por tipo celular para determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$, $p < 0.001$).

III. RESULTADOS

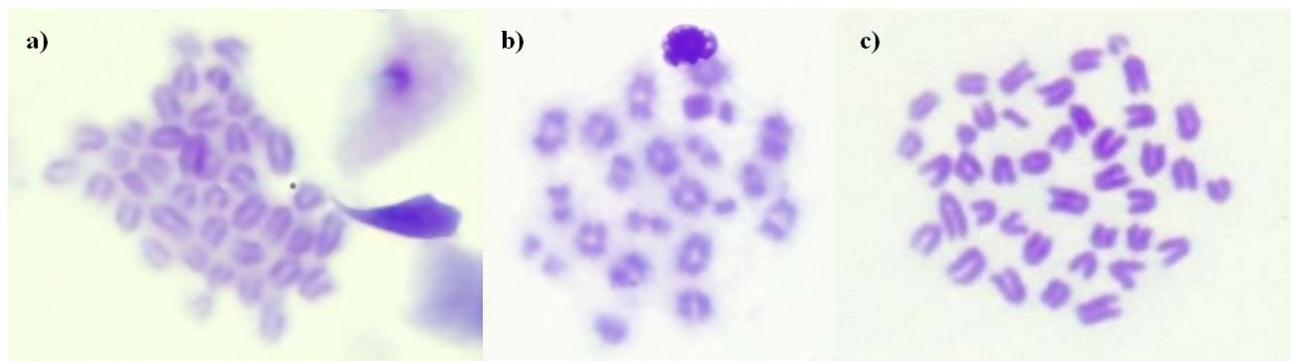


Fig. 2. Micrografías de Metafasas. **a)** Espermatogonial, **b)** Espermatocito I, **c)** Célula de la médula ósea. Pérez y Roldán, 2024, Laboratorio de *Citogenética y Mutagénesis*, FES Zaragoza, UNAM. Campo claro, 100x Leica.

Los resultados referentes a la proliferación de células gaméticas de ratones tratados con distintos óxidos de vanadio muestran una disminución significativa en el **IME** de los organismos expuestos a las dosis 2.2×10^{-4} M y 3.3×10^{-4} M de V_2O_3 (Fig. 3a). Por otra parte, tal disminución significativa se observa en todos los tratamientos de V_2O_4 y V_2O_5 , pero con comportamientos distintos: la dosis baja (9.0×10^{-4} M) de V_2O_4 fue la que tuvo mayor efecto sobre IME, mientras que con V_2O_5 se observa un mayor daño en la dosis más alta (1.6×10^{-1} M), este óxido presentó un efecto inversamente proporcional ya que conforme aumentó la dosis, el número de metafases espermatogoniales disminuye.

Respecto al **IMe** (Fig. 3b), los grupos expuestos a V_2O_3 y V_2O_4 tuvieron un efecto similar debido a que en los tratamientos de dosis media y alta el número de células en metafase meiótica fue significativamente menor, mientras que con V_2O_5 disminuyó de forma significativa en todas sus dosis, aquí también presentó un efecto inversamente proporcional. Por último, cabe destacar que en células gaméticas el V_2O_5 es el óxido de vanadio cuyo efecto fue más significativo.

Para el caso del **IM** (Fig. 3c) todas las dosis administradas presentan una disminución significativa. V_2O_4 y V_2O_5 tienen una acción similar sobre MO, donde la exposición a dosis bajas presenta un recuento metafásico bajo, dicho efecto es opuesto en el V_2O_3 donde se observa una relación dosis-efecto

inversamente proporcional. En células de la médula ósea, el V_2O_4 es el compuesto cuyo efecto fue más significativo.

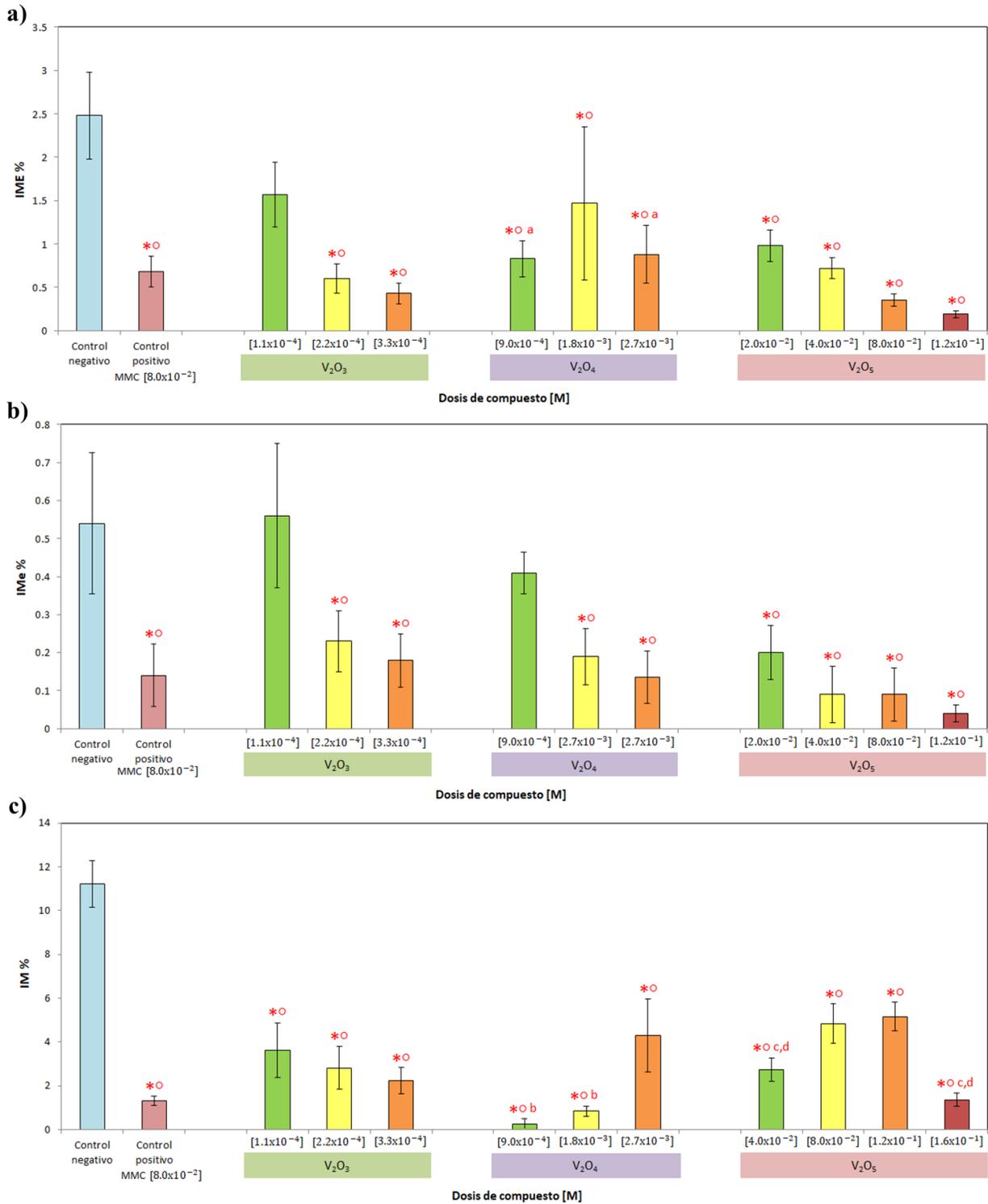


Fig. 3. Efecto citotóxico de V_2O_3 , V_2O_4 y V_2O_5 evaluado mediante: **a)** IME, **b)** IMe y **c)** IM en ratones macho CD-1 tratados de forma subcrónica por vía aérea. Media \pm DE. * Z para proporciones, $p < 0.05$. ° ANOVA-Duncan, $p < 0.001$. a $p < 0.05$ [9.0×10^{-4}], [2.7×10^{-3}]

VS [1.8×10^{-3}], ANOVA-Duncan. ^b $p < 0.001$ [9.0×10^{-4}], [1.8×10^{-3}] *VS* [2.7×10^{-3}], ANOVA-Duncan. ^c $p < 0.001$ [4.0×10^{-2}], [1.6×10^{-1}] *VS* [0.8×10^{-2}], ANOVA-Duncan. ^d $p < 0.001$ [4.0×10^{-2}], [1.6×10^{-1}] *VS* [1.2×10^{-1}], ANOVA-Duncan.

IV. DISCUSIÓN

El presente proyecto tuvo por objetivo evaluar la actividad citotóxica de los principales óxidos de vanadio en linfocitos de la médula ósea, espermatogonias y espermatoцитos I. De forma general, se observaron alteraciones de la proliferación celular en la mayoría de los organismos tratados, sin embargo, el efecto no fue el mismo para todos los tratamientos.

Investigaciones relacionadas al efecto citotóxico del V_2O_4 y V_2O_5 en ratones macho expuestos vía aérea muestran datos similares a los presentados en esta investigación. Roldán y colaboradores (2022), reportaron que el tratamiento agudo con distintas dosis de V_2O_5 disminuye significativamente la proliferación de **células espermatogoniales** [17]. Estrada (2022) muestra que la acción del V_2O_4 sobre el IME tuvo una disminución significativa en dosis baja, este mismo óxido también disminuyó el IME con comportamiento dosis-respuesta, presentando una acción similar sobre los **espermatoцитos I** a la reportada para los compuestos aquí analizados [28].

Castillo (2021) y Díaz (2021) mencionan que en diferentes dosis el V_2O_4 y V_2O_5 pueden tener la capacidad de promover la proliferación celular, o inhibirla, y mostrar un comportamiento bifásico donde un mismo compuesto tiene la capacidad de inducir diferentes respuestas dependientes de la dosis, lo cual, coincide con el presente trabajo, y el efecto observado con la administración de las distintas dosis de tetraóxido de vanadio en la proliferación de espermatogonias [29,30].

Investigaciones relacionadas a la toxicidad reproductiva indican que el vanadio puede atravesar la BHT [31], lo que permite su interacción con distintas células dentro del túbulo seminífero. En 2015, el grupo de trabajo de Vijaya reportó que metales como el vanadio dañan el tejido testicular principalmente por la generación de **especies reactivas de oxígeno (EROs)** [13]. Otros estudios han mostrado una fuerte correlación entre la acumulación de vanadio en testículos y la inducción de peroxidación lipídica que causa deterioro celular, además se ha observado apoptosis en células germinales, así como necrosis de espermatogonias, espermatoцитos y células de Sertoli [3,32].

Al afectar células interrelacionadas en el epitelio seminífero, el vanadio causa alteraciones en los procesos de proliferación y espermatogénesis. El daño producido sobre células de Leydig y Sertoli afecta el eje hipotálamo-hipófisis-gonada al reducir la concentración de testosterona, lo que a su vez, altera los niveles de andrógenos causando estrés oxidativo testicular ante la disminución de enzimas antioxidantes [13,32].

Las células de Sertoli son esenciales en el desarrollo de precursores de los espermatozoides, algunas de sus funciones son soporte, nutrición y formación de la BHT. Fortoul y colaboradores (2007) mencionan que la posible interacción del vanadio con la actina podría desencadenar el desprendimiento de espermatoцитos de las células de Sertoli, induciendo así su muerte celular. Se ha demostrado que la inducción de EROs por vanadio podría influir en la reorganización de la actina, la interrupción de uniones intercelulares y desestabilización de la forma celular, lo que implica un cambio en la adhesión célula-célula que podría culminar en la necrosis de las células de Sertoli, y simultáneamente en la muerte de espermatogonias y espermatoцитos [32]. Además, al ser oxidada la actina, el movimiento de las células germinales durante la mitosis y meiosis se ve comprometido [3].

Los diferentes mecanismos antes mencionados contribuyen a la disminución de la proliferación celular de forma directa o indirecta, en la mayoría de las veces el efecto es debido a la formación de EROs generadas a partir de la acción de los compuestos de vanadio, especialmente de sus óxidos.

Las **EROs** se forman y degradan por los organismos vivos en concentraciones fisiológicas necesarias para la función normal de las células, sin embargo, cuando la cantidad de estos es excesiva, el estado es llamado estrés oxidativo [33]. El vanadio, en concentraciones más altas a las tolerables en el cuerpo, provoca estrés oxidativo orillando a un desequilibrio entre la producción de EROs y la capacidad del organismo de neutralizar rápidamente los productos intermedios, o reparar el daño resultante.

La forma predominante de vanadio en el fluido extracelular es el vanadato (estado de oxidación +5) y dentro de la célula es el vanadilo (+4). El vanadato entra en las células a través de canales aniónicos, posteriormente experimenta procesos de óxido-reducción ya sea por el glutatión reducido, el NADPH, el NADH, la cisteína, el ácido ascórbico y el glutatión reductasa, convirtiéndose en vanadilo, este inicia reacciones de complexación donde interactúa con agentes celulares tales como el glutatión reducido (GSH), una forma oxidada de glutatión (GSSG), L-cisteína y cistina que forman compuestos estables y no dañinos [3,10,34].

La producción de EROs inducida por vanadio ocurre como resultado de la interconversión entre las especies vanadilo y vanadato por la acción de los oxidantes celulares y antioxidantes dentro del compartimiento citoplasmático. La biorreducción de vanadato con NADPH en presencia de NADPH oxidasa forma radicales vanadilo y superóxido, el cual, se descompone por superóxido dismutasa (SOD) en peróxido de hidrógeno y oxígeno menos tóxicos. En una reacción de Fenton, el vanadilo puede ser oxidado por peróxido de hidrógeno a vanadato con generación de radicales hidroxilo altamente reactivos. La reacción del vanadato con los aniones superóxido conducen a la formación de peroxovanadilo [V(+4)-OO], este radical puede usar hidrógeno del NADPH y transformarse a hidroperóxido de vanadilo, que a su vez puede descomponerse en vanadato y peróxido de hidrógeno a través de la reacción con hidrógeno [10].

Además, el vanadio puede afectar directamente a la membrana interna mitocondrial, lo que posteriormente puede perjudicar la transferencia de electrones entre complejos respiratorios causando la generación de EROs en las mitocondrias [10].

El vanadio puede ingresar a las células a través canales aniónicos no específicos, una vez dentro, afecta diferentes componentes del citoesqueleto [14]. En las células animales, los centrosomas forman los centros organizadores de microtúbulos (COM), por lo que influyen en procesos relacionados con los microtúbulos tales como el transporte de orgánulos, polaridad celular y motilidad, además tienen un papel crítico durante la mitosis. Numerosos autores mencionan que el vanadio causa disminución de la γ -tubulina, proteína localizada en los centrosomas, la cual está relacionada con la nucleación, organización y polarización de los microtúbulos. Cambios en esta proteína en células testiculares implicaría alteraciones en el proceso espermatogénico [3, 14, 15].

En cuanto a las **células de MO**, se observó un comportamiento peculiar en los IM de los tratamientos de V_2O_4 y V_2O_5 donde, si bien existe una disminución significativa en todos los organismos expuestos, la proliferación celular disminuyó notablemente en las dosis bajas. Recientemente se han reportado resultados semejantes, Estrada (2022) en un proyecto orientado a una línea de estudio análoga con V_2O_4 , observó que el IM de células de la médula ósea fue mayormente afectado por dosis bajas [28].

Álvarez-Barrera y colaboradores en 2023, en una investigación aplicada al modelo murino CD-1 muestran que la administración de distintas dosis de V_2O_3 y V_2O_4 vía intraperitoneal generan una

reducción del IM de MO en todas las dosis administradas, donde las dosis más bajas fueron aquellas con mayor reducción del IM [35], respuesta similar a lo obtenido en este proyecto.

Estos efectos también se han reportado en trabajos relacionados a vanadio (como monovanadato de amonio) administrado en ratones con linfoma de Dalton, donde un estudio inicial reveló un patrón interesante; aumentó el tiempo de supervivencia de los individuos tratados con dosis baja y, este disminuyó con dosis altas. Un estudio de seguimiento confirmó los efectos beneficiosos de la dosis baja en animales portadores de linfoma debido a la reducción de la proliferación de células tumorales. En un tercer estudio se mostró que la administración de niveles más altos de vanadio aumentó el recuento de células tumorales, lo que a su vez disminuyó la supervivencia de los organismos [36].

A diferencia del V_2O_4 y V_2O_5 , en los grupos de ratones tratados con distintas dosis de V_2O_3 se observó un efecto distinto donde el IM disminuye al aumentar las dosis del compuesto.

Rodríguez-Mercado y colaboradores (2010) reportan una reducción significativa del IM en cultivos de linfocitos de sangre periférica humana como resultado del tratamiento con distintas dosis de V_2O_3 , V_2O_4 y V_2O_5 . Se mostró que estos tres óxidos inhiben el IM de las células tratadas y hay un incremento de tal inhibición que se relaciona directamente con el aumento de las dosis administradas [37].

La disminución del IM puede estar relacionada con la capacidad de los compuestos vanadio para alterar la actividad de diferentes moléculas, como ATPasas, proteínas quinasas, ribonucleasas y fosfatasa [37]. En otro estudio con cultivos de linfocitos humanos, se observó que los óxidos de vanadio podrían modificar los niveles de proteínas p21, p53 y Cdc25C, las cuales se encargan de regular el ciclo celular [38].

En el presente trabajo se aprecia que los tres óxidos de vanadio empleados tienen una acción significativa sobre la disminución de células somáticas y gaméticas. Está bien establecido que las especies V^{+5} y V^{+4} pueden causar varios efectos tóxicos en los mamíferos y que la toxicidad del vanadio difiere significativamente debido a la naturaleza del compuesto y estado de oxidación, sin embargo, dentro del organismo también dependerá de la estructura donde se acumule. Algo importante que cabe mencionar es que en la literatura se reportan un gran número de investigaciones relacionadas a la acción del tetraóxido de vanadio, y muchos más con pentóxido de vanadio. Además, en esta investigación se muestran resultados sobre el efecto del **trióxido de vanadio**, el cual se comporta de forma distinta en células de la médula ósea comparado con V_2O_4 y V_2O_5 , tiene una acción similar al pentóxido de vanadio en espermatogonias y espermatoцитos I.

V. CONCLUSIONES

En **espermatoгонias** la exposición a V_2O_3 y V_2O_5 presenta una relación inversamente proporcional entre la dosis y la disminución en el IME, mientras que en V_2O_4 hay un efecto irregular.

En **espermatoцитos I**, los tres óxidos de vanadio evaluados muestran una relación dosis-efecto inversamente proporcional. El óxido cuyo efecto es más notable en ambos tipos celulares es V_2O_5 .

En **células de la médula ósea** las concentraciones bajas de V_2O_4 y V_2O_5 provocaron una mayor disminución en la proliferación celular. El V_2O_3 una respuesta dosis-efecto inversamente proporcional. En este tejido el V_2O_4 es el compuesto con mayor impacto.

El efecto de la exposición aérea de los óxidos de vanadio dependerá de la dosis, de la ruta de ingreso, y del tejido en el que se evalúe el daño.

RECONOCIMIENTOS

Este proyecto fue realizado con el apoyo de PAPIIT IN-221919 y Beca F-146921.

Se da un especial agradecimiento a la **Doctora Adriana Altamirano Bautista** por las facilidades relacionadas con el manejo, producción y suministro de animales durante este proyecto, así como al personal del Bioterio de la FES-Zaragoza.

Programa de Servicio Social-UNAM “Evaluación de la genotoxicidad de agentes químicos de riesgo para la salud en células somáticas y gaméticas de mamíferos”, clave: 2021-12/48-1536.

REFERENCIAS

- [1] WHO, World Health Organization. (Mayo 2018). Ambient (Outdoor) Air Quality and Health. Fact Sheet No. 313. Recuperado el 20 de Marzo del 2022 de [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health)
- [2] Rojas-Lemus, M., López-Valdez, N., Bizarro-Nevares, P., González-Villalva, A., Ustarroz-Cano, M., Zepeda-Rodríguez, A., Pasos-Nájera, F., García-Peláez, I., Rivera-Fernández, N. & Fortoul, T. I. (2021). Toxic Effects of Inhaled Vanadium Attached to Particulate Matter: A Literature Review. *International journal of environmental research and public health*, 18(16), 8457. <https://doi.org/10.3390/ijerph18168457>
- [3] Rodríguez-Lara, V., Morales-Rivero, A., Rivera-Cambas, A. M. & Fortoul, T. I. (2016). Vanadium inhalation induces actin changes in mice testicular cells. *Toxicology and industrial health*, 32(2), 367–374. <https://doi.org/10.1177/0748233713501364>
- [4] Rodríguez-Mercado, J. J. & Altamirano-Lozano, M. A. (2006). Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 22(4), 173-189. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992006000400173&lng=es&tlng=es.
- [5] Contreras-Cadena, D., Gómez-Pech, C., Rangel-García, M., Ruiz-Hernández, A., Martínez-Bulit, P. & Barba-Behrens, N. (2014). La importancia del vanadio en los seres vivos. *Educ. quim.*, 25(E1), 245-253. [http://dx.doi.org/10.1016/S0187-893X\(14\)70564-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0187-893X(14)70564-6)
- [6] Del Carpio, E., Hernández, L., Ciangherotti, C., Villalobos Coa, V., Jiménez, L., Lubes, V. & Lubes, G. (2018). Vanadium: History, chemistry, interactions with α -amino acids and potential therapeutic applications. *Coordination chemistry reviews*, 372, 117–140. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.06.002>
- [7] Baran, E. (2017). Vanadio: Un elemento estratégico. *Anales Acad. Nac. de Cs. Ex., Fis. y Nat.*, 69, 84-114. https://www.ancefn.org.ar/user/FILES/ANALES/TOMO_69/16.pdf
- [8] Ścibior, A., Pietrzyk, Ł., Plewa, Z., & Skiba, A. (2020). Vanadium: Risks and possible benefits in the light of a comprehensive overview of its pharmacotoxicological mechanisms and multi-applications with a summary of further research trends. *Journal of trace elements in medicine and biology: organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 61, 126508. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126508>
- [9] Rehder, D. (2015). The role of vanadium in biology. *Metallomics: integrated biometal science*, 7(5), 730–742. <https://doi.org/10.1039/c4mt00304g>
- [10] Zwolak, I. (2020). Protective Effects of Dietary Antioxidants against Vanadium-Induced Toxicity: A Review. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 1490316. <https://doi.org/10.1155/2020/1490316>
- [11] López, N. (2012). *Biología del desarrollo. Cuaderno de trabajo*. McGraw-Hill. <https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliodgbsp/reader.action?docID=3217937>
- [12] Aragón, A. M., & Altamirano-Lozano, M. (2001). Sperm and testicular modifications induced by subchronic treatments with vanadium (IV) in CD-1 mice. *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 15(2), 145–151. [https://doi.org/10.1016/s0890-6238\(01\)00117-4](https://doi.org/10.1016/s0890-6238(01)00117-4)

- [13] Vijaya Bharathi, B., Jaya Prakash, G., Krishna, K. M., Ravi Krishna, C. H., Sivanarayana, T., Madan, K., Rama Raju, G. A. & Annapurna, A. (2015). Protective effect of alpha glucosyl hesperidin (G-hesperidin) on chronic vanadium induced testicular toxicity and sperm nuclear DNA damage in male Sprague Dawley rats. *Andrology*, 47(5), 568–578. <https://doi.org/10.1111/and.12304>
- [14] Mussali-Galante, P., Rodríguez-Lara, V., Hernández-Tellez, B., Avila-Costa, M. R., Colín-Barenque, L., Bizarro-Nevarez, P., Martínez-Levy, G., Rojas-Lemus, M., Piñón-Zarate, G., Saldivar-Osorio, L., Diaz-Beck, P., Herrera-Enríquez, M. A., Tovar-Sánchez, E. & Fortoul, T. I. (2005). Inhaled vanadium pentoxide decreases gamma-tubulin of mouse testes at different exposure times. *Toxicology and industrial health*, 21(9), 215–222. <https://doi.org/10.1191/0748233705th232oa>
- [15] Rojas-Lemus, M., Altamirano-Lozano, M. & Fortoul, T. I. (2013). Sex differences in blood genotoxic and cytotoxic effects as a consequence of vanadium inhalation: micronucleus assay evaluation. *Journal of applied toxicology : JAT*, 34(3), 258–264. <https://doi.org/10.1002/jat.2873>
- [16] Pacchierotti, F. & Stocchi, V. (2013). Analysis of chromosome aberrations in somatic and germ cells of the mouse. *Methods in molecular biology*, 1044, 147–163. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-529-3_7
- [17] Roldán-Reyes, E., Aguilar-García, E.M. y Díaz Mejía, S.A. (2022). Efectos de la inhalación de vanadio sobre las espermatogonias y calidad seminal en el modelo de ratón *in vivo*. *Rev. Toxicol*, 39, 19-25. <https://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2022/06/vol-39.1-22-28.pdf>
- [18] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2006). Cobalt in hard metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, 86, 1–294. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK321688/>
- [19] Curia, M. V. (2010). *Estudio fisicoquímico y catalítico del sistema MN-O-V*. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ciencias Exactas]. <https://doi.org/10.35537/10915/2681>
- [20] Roshchin, I. V., Il'nitskaya, A. V., Lutsenko, L. A. & Zhidkova, L. V. (1965). Effect on organism of vanadium trioxide. *Federation proceedings. Translation supplement; selected translations from medical-related science*, 24(4), 611–613.
- [21] Ochoa-Muñoz, L. I. (2001). NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. *Diario Oficial*, 107-165. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- [22] Leuschner, J., Haschke, H. & Sturm, G. (1994). New investigations on acute toxicities of vanadium oxides. *Monatsh Chem*, 125, 623–646. <https://doi.org/10.1007/BF01277622>
- [23] Avila-Costa, M. R., Montiel-Flores, E., Colín-Barenque, L., Ordoñez, J. L., Gutiérrez, A. L., Niño-Cabrera, H. G., Mussali-Galante, P. & Fortoul, T. I. (2004). Nigrostriatal modifications after vanadium inhalation: an immunocytochemical and cytological approach. *Neurochemical research*, 29(7), 1365–1369. <https://doi.org/10.1023/b:nere.0000026398.86113.7d>
- [24] Yamamoto, K. I., & Kikuchi, Y. (1978). A new method for the preparation of mammalian spermatogonial chromosomes. *Mutation research*, 52(2), 207–209. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(78\)90142-2](https://doi.org/10.1016/0027-5107(78)90142-2)
- [25] OECD. (2016). Test No. 483: Mammalian Spermatogonial Chromosomal Aberration Test, *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing*, 1-13. <https://doi.org/10.1787/9789264264847-en>
- [26] OECD. (2016), Test No. 475: Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test, *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing*, 1-18. <https://doi.org/10.1787/9789264264786-en>
- [27] Aguiñiga, I., Alvarado, M., Ávila, A., Bautista, C., Castillo, I., Díaz, S., Espitia, R., Hernández, L., Hernández, M., Jiménez, M., Longares, D., Luna, A., Niño de Rivera, M., Ramos, J., Rivera, A., **Roldán, E.**, Saito, V., Soriano, A. & Zapata, A. (2020). *Observación de cromosomas de médula ósea de ratón*. Manual de Laboratorio de Investigación Formativa II (LIF II). Facultad de Estudios Superiores Zaragoza,

- 94-99. https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/2022/Licenciaturas/Biologia/manuales/ML_LIF_II_2022.pdf
- [28] Estrada-Salas, L. S. (2022). *Alteraciones cromosómicas en espermatogonias y médula ósea de ratón inducidas por V+4 inhalado*. [Tesis de Licenciatura en Biología]. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza]. <http://132.248.9.195/ptd2022/mayo/0825380/Index.html>
- [29] Castillo-Villanueva, C. J. (2021). Evaluación de los efectos toxicológicos de la inhalación de tetraóxido de vanadio en células troncales (espermatogonias) y diferenciadas (espermatozoides) en ratón de la cepa CD-1. [Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza]. <http://132.248.9.195/ptd2021/octubre/0818251/Index.html>
- [30] Diaz-Mejia, S. A. (2021). *Efectos toxicológicos en espermatogonias y espermatozoides de ratón por exposición aérea de vanadio*. [Tesis de Licenciatura en Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza]. <http://132.248.9.195/ptd2021/diciembre/0820737/Index.html>
- [31] Domingo, J. L. (1996). Vanadium: a review of the reproductive and developmental toxicity. *Reproductive toxicology*, 10(3), 175–182. [https://doi.org/10.1016/0890-6238\(96\)00019-6](https://doi.org/10.1016/0890-6238(96)00019-6)
- [32] Fortoul, T. I., Bizarro-Nevarés, P., Acevedo-Nava, S., Piñón-Zárate, G., Rodríguez-Lara, V., Colín-Barenque, L., Mussali-Galante, P., Avila-Casado, M., Avila-Costa, M. R. & Saldivar-Osorio, L. (2007). Ultrastructural findings in murine seminiferous tubules as a consequence of subchronic vanadium pentoxide inhalation. *Reproductive toxicology*, 23(4), 588–592. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.03.004>
- [33] Roldán-Reyes, Elia. (2016). *Introducción a la Toxicología*. (eBook, 1ª ed.). UNAM, FES Zaragoza. ISBN:978-607-02-8172-3. <https://www.zaragoza.unam.mx/introduccion-toxicologia/>
- [34] Goc, A. (2006). Biological activity of vanadium compounds. *Central European Journal of Biology*, 1(3), 314–332. <https://doi.org/10.2478/s11535-006-0029-z>
- [35] Álvarez-Barrera, L., Rodríguez-Mercado, J. J., Mateos-Nava, R. A., Acosta-San Juan, A., & Altamirano-Lozano, M. A. (2023). Cytogenetic damage by vanadium(IV) and vanadium(III) on the bone marrow of mice. *Drug and Chemical Toxicology*, 47(5), 721–728. <https://doi.org/10.1080/01480545.2023.2263669>
- [36] Bishayee, A., Waghay, A., Patel, M. A. & Chatterjee, M. (2010). Vanadium in the detection, prevention and treatment of cancer: the in vivo evidence. *Cancer letters*, 294(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2010.01.030>
- [37] Rodríguez-Mercado, J. J., Alvarez-Barrera, L. & Altamirano-Lozano, M. A. (2010). Chromosomal damage induced by vanadium oxides in human peripheral lymphocytes. *Drug and chemical toxicology*, 33(1), 97–102. <https://doi.org/10.3109/01480540903176602>
- [38] Mateos-Nava, R. A., Rodríguez-Mercado, J. J., Álvarez-Barrera, L., García-Rodríguez, M. del C., & Altamirano-Lozano, M. A. (2021). Vanadium oxides modify the expression levels of the p21, p53, and Cdc25C proteins in human lymphocytes treated in vitro. *Environmental Toxicology*, 36(8), 1536–1543. <https://doi.org/10.1002/tox.23150> G. Eason, B. Noble, and I. N. Sneddon, “On certain integrals of Lipschitz-Hankel type involving products of Bessel functions,” *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, vol. A247, pp. 529–551, April 1955. (*references*)