



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
EVALUACIÓN DEL IMPACTO AMBIENTAL
DE NANOPARTICULAS**

Autor: DIEGO ANTONIO GARCÍA ORTIZ

Tutor: MIGUEL ANGEL CASERMEIRO MARTINEZ

Convocatoria: FEBRERO 2017

RESUMEN

Los nanomateriales manufacturados están desarrollándose de forma exponencial debido a sus múltiples aplicaciones industriales, biomédicas, electrónicas y otras muchas que aún se desconocen. Los nanomateriales existen de forma natural pero la producción industrial de estos puede llevarnos a un nuevo escenario en el que nos tenemos que preguntar, qué tipo de impacto puede tener en el medio ambiente y en el resto de seres vivos, incluidos los seres humanos. Nuevas investigaciones tienen que realizarse debido a que estos materiales se encuentran a una escala nanométrica, y estudios previos pueden ser insuficientes para poder determinar hasta qué punto representan un peligro para la salud y un riesgo para la seguridad.

Actualmente, existen numerosos estudios basados en modelos in vitro, in vivo e in silico para determinar el potencial daño toxicológico.

Este trabajo, se centrará en describir los diferentes tipos de nanomateriales existentes con sus respectivas características y aplicaciones, en evaluar las principales fuentes de emisión, el ciclo de vida de la nanopartícula, que tipo de impacto tendrá en el medio ambiente y las investigaciones actuales en el campo de los nanomateriales, como nanotubos de carbono multipared, grafeno, en especial, las nanopartículas metálicas de las que hay más trabajos, y las conclusiones extraídas de las mismas.

Palabras clave: nanomaterial, nanopartícula, impacto ambiental, ciclo de vida, estudio in vitro, estudio in vivo, estudio in silico

1. INTRODUCCIÓN:

1.1. Definición y terminología

El prefijo nano viene del griego *νάνος* que significa “enano”, y está aceptado por el sistema internacional (SI) como factor 10^{-9} que equivale a la billonésima parte de 1 metro ($1\text{nm} = 1 \times 10^{-9}\text{m} = 0,000\,000\,001\text{m}$) (1). Para comprender las nanopartículas primero hay que entender lo que actualmente conocemos como “nanomundo” cuyo planteamiento se inició a mediados del siglo pasado.

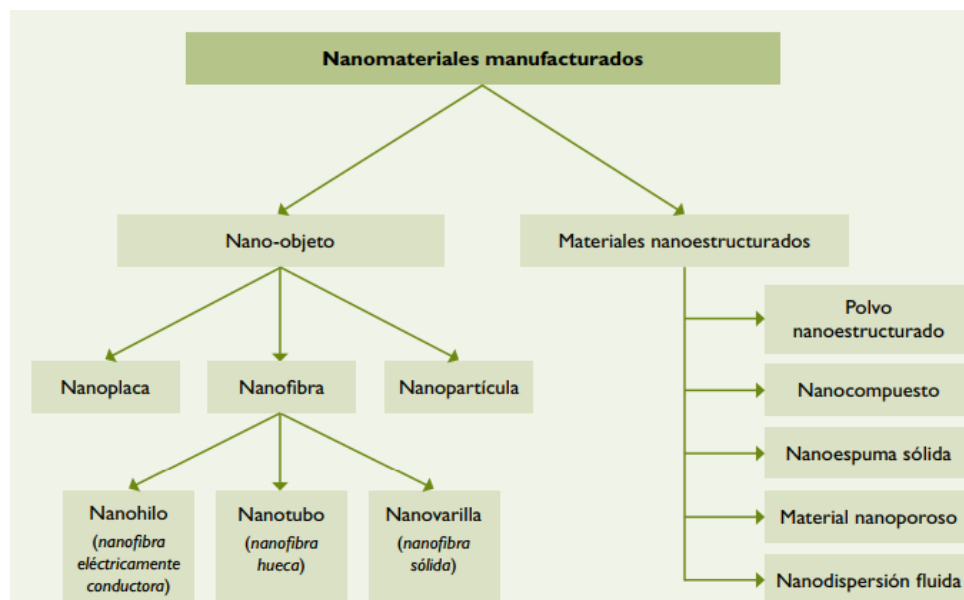
La nanociencia se encarga del estudio, comprensión, control de fenómenos y manipulación de materiales a escala nanométrica. La investigación de esta área es interdisciplinaria y requiere

conocimientos en el campo de la Física, la Química, la Medicina o la Ciencia de los Materiales (2).

El término “nanomaterial” se aplica a una amplia variedad de materiales de composición y propiedades muy diferentes, pero con la característica común de que al menos una dimensión externa de todas o parte de las partículas que lo constituyen sea inferior a 100 nanómetros. Existen diferentes tipos de nanomateriales entre los que se encuentran las nanopartículas, nanotubos, nanofilms, fullerenos, dendrímeros, productos nanoencapsulados y desde un punto de vista químico también son muy variados, nanopartículas de metales, de óxidos de metales, de materiales semiconductores, alótropos de carbono o sustancias orgánicas. Estos se pueden presentar de forma natural, incidental o diseñados intencionadamente, ENM (Engineered Nanomaterial; nanomaterial manufacturado) (3).

La Comisión Europea en 2011 adoptó una recomendación sobre la definición de nanomaterial, y recomendó utilizarla en caso de adopción y aplicación de leyes, políticas y programas de investigación sobre productos de nanotecnología (4).

Figura 1. Esquema representativo de ENM según ISO (Fuente: (3))



Dentro de los ENM, estos se pueden presentar en forma de nano – objetos o material nanoestructurado (3):

- Los nano – objetos se denominan nanoplaca, nanofibra o nanopartícula dependiendo de si tienen una, dos o tres dimensiones externas, respectivamente, en la nanoescala, entre 1 – 100 nm.

- Las nanopartículas (NPs) se pueden presentar en forma primaria, es decir, no constituida por grupos de partículas más pequeñas, o bien como aglomerados o agregados.
- Los materiales nanoestructurados se definen por tener la estructura interna o la estructura superficial en la nanoescala.

1.2. Características

El tamaño de las partículas y la distribución de tamaño son las características más importantes de las nanopartículas y pueden determinar el destino biológico, la toxicidad, la distribución in vivo y la capacidad de orientación de estos sistemas (2).

Al tener un tamaño a escala nanométrica, esto proporciona propiedades fisicoquímicas a los ENM como la área superficial específica, la distribución por tamaño, la solubilidad, la forma, la agregación, la reactividad, el poder de penetración, la rapidez, el almacenamiento y los efectos cuánticos (5,6). Todas estas propiedades proporcionan una gran versatilidad a los materiales, y explotar esa versatilidad es el verdadero interés de la nanotecnología.

Normalmente, durante el proceso de fabricación de nano – objetos, como partículas primarias, inicialmente, tienden a unirse con otras para dar lugar a aglomerados o agregados, pudiendo alcanzar tamaños superiores a los 100 nm. Los aglomerados están débilmente unidos y la superficie externa resultante puede ser significativamente menor que la suma de las áreas superficiales calculadas de los componentes individualmente (3).

Sin embargo, estas propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales también crean la oportunidad de incrementar la recepción e interacción con tejidos biológicos, dando lugar a respuestas adversas biológicas en células vivas que de otro modo no se observan en esos mismos materiales en formas más grandes (6).

1.3. Tipos de nanomateriales

El término nanomaterial engloba a todos los productos obtenidos a partir de la nanotecnología, y cada uno de ellos difiere entre sí en función de su procedencia, tamaño, forma y naturaleza química. Por tanto, no existe una única forma para clasificar los nanomateriales.

Se pueden dividir según la procedencia de estos (3):

- De origen natural como por ejemplo las cenizas emitidas por un volcán.
- Incidental o accidental, como subproducto no intencionado de un proceso de combustión de vehículos, procesos industriales u otros procesos de combustión.
- De origen manufacturado, ENM, al ser producidos por diferentes procesos de fabricación y diseñados intencionalmente con unas propiedades específicas (mecánicas, eléctricas, ópticas, catalíticas, etc.) muy diferentes a las que presenta el mismo material no nano.

Algunos ejemplos de los ENM más comúnmente utilizados son el grafeno, los nanotubos de carbono, fullerenos, dendrímeros, nanopartículas metálicas, quantum dots, las micelas poliméricas o las nanopartículas poliméricas. Son empleados en múltiples aplicaciones como en biomedicina, dispositivos electrónicos, sensores químicos, catalizadores, pinturas, soportes para controlar y mantener la liberación de fármacos o como superconductores (1, 2, 3, 7).

1.4. Necesidad de una evaluación

La presencia de las nanopartículas en el mundo industrial está creciendo exponencialmente debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas que los diferencian del resto de materiales así como su aplicación en el mundo comercial. Son compuestos con mucha perspectiva por sus numerosas aplicaciones y el mercado de productos nanotecnológicos está creciendo (8), se espera que, para 2020, el sector de la nanotecnología a nivel global alcance un volumen de 75.800 millones de USD (67.346 millones de € aproximadamente) y el sector del grafeno, a nivel global, alcance unos 200 millones de USD a nivel mundial para 2026. Un ejemplo, en España, sería la empresa sevillana Graphenstone que fabrica pinturas ecológicas basadas en grafeno, y con casi 5 años de vida facturó, en 2016, 3,2 millones de euros frente a 1,04 del ejercicio anterior (9).

De hecho ha habido una especie de impacto o “boom” informativo porque conforme han avanzado los años, la cantidad de información y estudios publicados han ido aumentando. Buscando “nanomaterials” en la plataforma de ScienceDirect observamos que el número de artículos publicados en 2009 (3.171) representan menos de una cuarta de los publicados en 2017 (14.517). Todo esto debe ser porque los nanomateriales son objeto de mucho interés para la investigación y el desarrollo de nuevas tecnologías.

En el mundo de la farmacia también ha entrado la nanotecnología, conocida como nanofarmacia y cuya aplicación busca el descubrimiento de nuevos agentes farmacéuticos, el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos con localización o direccionamiento específico y la creación

de laboratorios en un chip para desempeñar múltiples funciones como implantes y plataformas para tejidos (10). Actualmente hay fármacos de venta libre comercializados como Sterimar o Rinomer que contienen nanopartículas de manganeso en su composición.

Además (11), como con la mayoría de las nuevas tecnologías, los primeros en verse afectados por la exposición a los riesgos que estas implican son los trabajadores de las industrias relacionadas con ellas. Cabe destacar que organizaciones internacionales como NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health), BSI (British Standard Institution) o SER (Social and Economic Council of Netherlands) establecen valores límite ambientales a los que una exposición continuada no debería provocar efectos adversos, sin embargo, debido a la gran heterogeneidad de las NPs es difícil de establecer y, por esto, es muy importante seguir investigando para establecer valores límite seguros (3).

Con todo esto, tampoco debemos olvidar los posibles efectos adversos que pueden tener para la salud de los seres vivos y el medio ambiente. Por eso, se propone la nanotoxicología (6), como una nueva rama de la toxicología que aborda las lagunas en el conocimiento y específicamente en los efectos adversos sobre la salud que pueden ser causados por los nanomateriales. Además, está involucrada en proponer protocolos de prueba confiables, robustos y seguros en la evaluación de riesgos humanos y ambientales.

Más adelante, se expondrán los estudios nanotoxicológicos, que han sido seleccionados, y como el tamaño, la composición química y la concentración de las NPs pueden afectar a la salud ambiental y los riesgos que representan para la seguridad.

2. Objetivos

Los objetivos de este trabajo son los siguientes: 1) analizar el ciclo de vida de los nanomateriales manufacturados, 2) analizar la presencia de las mismas en el medio ambiente, 3) evaluar cuál es el impacto que tienen en el medio ambiente, y 4) estudiar los actuales modelos de investigación nanotoxicológica in vitro, in vivo e in silico, determinando que nanopartículas han sido más investigadas y conclusiones al respecto.

3. Material y métodos:

En este trabajo se ha realizado una recopilación y análisis de los artículos científicos obtenidos mediante la búsqueda bibliográfica en diversas bases de datos. Por lo tanto, este trabajo se considera un metaanálisis de artículos publicados por diversos autores y cuya información fue

seleccionada por palabras clave como nanopartícula, impacto ambiental, toxicología y modelos de estudio; y sus traducciones respectivas en inglés.

Se han consultado artículos recogidos en bases de datos como PubMed, ScienceDirect, Google Académico, EBSCO, Springer Link y ResearchGate. También, cabe mencionar, revistas científicas como ELSEVIER y CENIC, libros de carácter científico y documentación oficial publicada por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Todo esto, queda reflejado en la bibliografía.

Cabe mencionar el uso de aplicaciones como Mendeley como apoyo a la hora de realizar este trabajo.

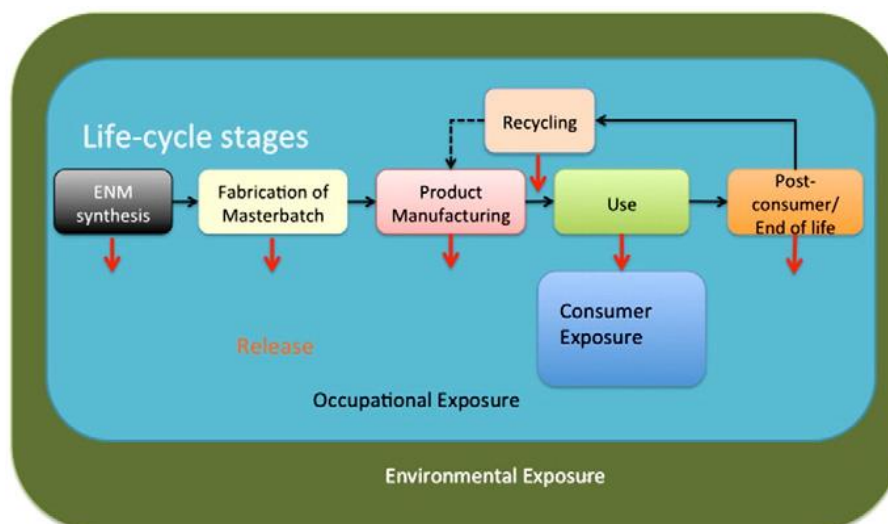
4. Resultados

4.1. Ciclo de vida de los nanomateriales manufacturados

La liberación de los nanomateriales puede ocurrir durante todo el ciclo de vida del producto, depende de las circunstancias de manufacturación como producción y procesamiento, uso del producto en ambientes específicos y su disposición al final de su ciclo de vida. El ciclo de vida del producto puede dividirse en tres fases generales: 1) manufacturación, 2) uso del producto normal/comercial/consumición y 3) post-consumición/final de vida/eliminación (12).

La imagen siguiente esquematiza en fases el ciclo de vida del producto, comienza con la síntesis del ENM, fabricación de lotes maestros, manufacturación, usos, post-consumición y reciclaje. También, enfatiza en la importancia de la exposición ocupacional y del consumidor, que sería previa a la exposición medioambiental (12).

Figura2. Ciclo de vida de los ENM (Fuente: (12))



La mayor probabilidad de liberación de los ENM es durante la síntesis y su manejo, especialmente, en el manejo de polvos antes de la fabricación de los compuestos. Tsai et al. (13) estudiaron la liberación de nanopartículas durante la síntesis de nanotubos de carbono de paredes simples y de paredes múltiples por deposición de vapor químico, y el estudio demostró la presencia de filamentos de nanotubos de carbono y partículas de carbono en racimos entre las partículas de aerosol liberadas durante la producción de nanotubos de carbono de paredes múltiple. Por lo tanto, en esta fase será mayor la exposición ocupacional y sus posibles consecuencias sobre la salud de los trabajadores expuestos.

En la fase de fabricación, la liberación del nanomaterial es posible si existen pasos en los que la estructura del nanomaterial es modificado a través de diferentes procesos como, por ejemplo, la aplicación de procesos de alta energía y térmicos que puede desestabilizar el nanomaterial o procesos mecánicos como corte, perforación y lijado en compuestos poliméricos (12).

Durante la fase de uso, no solo depende de las actividades humanas sino también de factores ambientales como la humedad, la temperatura, la radiación, la altitud, el agua marina o dulce y las condiciones biogeoquímicas de exposición. La aplicación específica del nanomaterial limita el número de escenarios posibles de liberación. Pero en general, la liberación de los nanomateriales es pequeña debido a la gran cantidad de energía necesaria para ello. Al añadir la variable humana, tenemos que tener en cuenta el mal uso e involuntario y el uso intencionado. Para caracterizar los posibles escenarios de liberación tenemos que tener en cuenta (12):

- Sitio potencial de liberación
 - o En la fabricación o síntesis, incluimos la liberación al aire en el sitio de trabajo y liberación al medio ambiente asociado a los diferentes procesos de fabricación.
 - o En el uso del producto, incluimos exposición en el sitio de trabajo y exposición al consumidor y población general.
 - o En el final de vida del producto, incluimos posible exposición ambiental, del sitio de trabajo y de la población general.
- Poblaciones potencialmente expuestas como trabajadores, consumidores y público en general.
- Mecanismos de liberación subyacentes, como liberación directa de las nanopartículas libres o liberación de partículas con nanopartículas incrustadas en la matriz.
- Evaluación cualitativa de la magnitud de la liberación
- Propiedades de los materiales de la matriz que definen la liberación.
- Estimaciones de frecuencia y duración de la liberación.

Las liberaciones posteriores al uso pueden resultar del tratamiento de los desechos como vertidos en vertederos, reciclado o la incineración. En esta fase, la exposición ambiental es mayor que la ocupacional y su impacto mayor por un efecto de intemperie después del tratamiento de los residuos (12):

- En vertederos, los nanomateriales se descomponen en función de la degradabilidad y cabe destacar, su potencial liberación al lixiviado. Además, si el vertedero no está bien controlado, las liberaciones pueden ser a través del polvo de compuestos degradados
- El reciclaje puede liberar nanomateriales a la atmosfera durante el procesamiento o por un uso alternativo.
- La incineración puede liberar nanomateriales a la atmósfera o pueden convertirlas en cenizas volantes o de fondo si las condiciones de incineración no determinan la conversión de la ENM a una no ENM.

También hay que considerar la vía acuática porque el nanomaterial puede acabar en aguas residuales si al compuesto se le aplicó lavados con agua por ejemplo (14).

4.2. Presencia en el medio ambiente

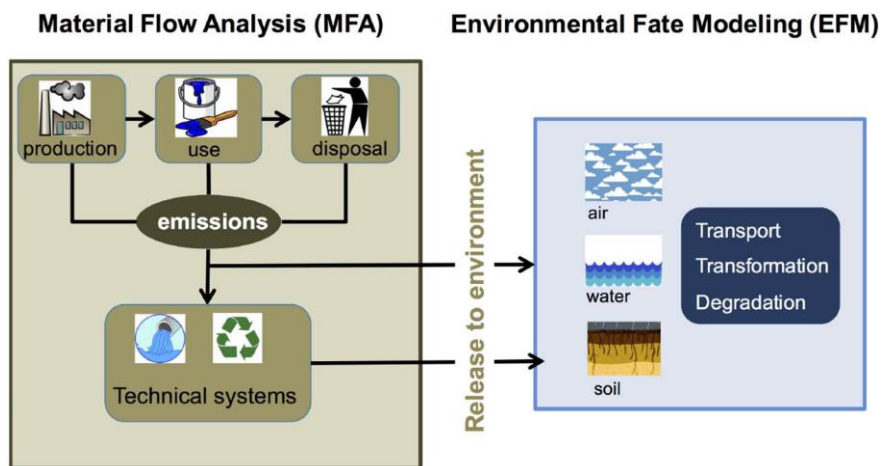
Como he presentado en el apartado anterior, la liberación de los nanomateriales está ligada a su ciclo de vida, pero (11) hay que destacar que las propiedades fisicoquímicas determinarán como se mueven, depositen, acumulen y transformen en la matriz ambiental, y además, hay que considerar las condiciones ambientales, muchas veces, cambiantes en las que son liberadas.

Montaño et al (15) afirman que la detección específica de los ENM en concentraciones traza en muestras naturales se ve obstruida principalmente por la presencia de un alto contenido de nanopartículas naturales, que pueden ser similares en tamaño, forma y composición a sus análogos de ingeniería. Por eso, se están desarrollando nuevas técnicas y metodologías aprovechando las sutiles diferencias en las proporciones elementales e isotópicas dentro de estos nanomateriales como, por ejemplo, la mejora de técnicas basadas en la masa de partículas únicas (sp-ICP-MS).

El uso de modelos de exposición ha estado aportando información sobre concentraciones ambientales previsibles incluso en ausencia de datos analíticos. Así, se puede predecir el flujo ambiental y las concentraciones de los ENM en el medio ambiente. Estos modelos se pueden dividir en modelos de flujo de materiales (MFA) que sigue el ciclo de vida del ENM y su salida hacia el medio ambiente, y los modelos de destinos ambientales (EFM) que describen el

comportamiento y la transferencia entre compartimentos ambientales (16). Esto se refleja en la fig. 3.

Fig.3 Relación entre MFA y EFM (Fuente:(16))



Cuantificar la liberación de los ENM durante todas las etapas de su ciclo de vida es uno de los principales factores para definir la exposición en los compartimentos ambientales: aire, agua y suelo. Sin embargo, la cobertura de escenarios de exposición aun es limitada, solo se han investigado en estudios de emisión alrededor del 20% de ENM usados industrialmente describiendo algunos escenarios relevantes y la información aportada es incompleta con respecto a descripciones y caracterización de los ENM. Además, los estudios actuales de MFA se basan, en gran medida, en extrapolaciones, suposiciones de los autores, opiniones de expertos y otras fuentes de datos informales. Entre los resultados documentados, cabe destacar que en su mayoría detallan la liberación de textiles nano-Ag mediante el lavado de prendas de vestir y la liberación de TiO₂ en el uso de filtros solares (16).

Los modelos EFM son muy relevantes en el marco regulatorio donde la estimación de la concentración ambiental es un paso crucial en el proceso de evaluación de los riesgos. En estos modelos hay que tener en cuenta su complejidad y la disponibilidad de datos para los modelos acuáticos, terrestres y de bioabsorción (16).

4.3. Impacto en el medio ambiente

Debido a las diferentes propiedades fisicoquímicas de los distintos tipos de nanomateriales es difícil hacer afirmaciones genéricas del impacto que tendrán en el medio ambiente. De este modo, se deduce que el comportamiento de los nanotubos de carbono o los fullerenos en el medio ambiente serán diferentes al de las nanopartículas metálicas. Por todo esto, es necesario seguir

haciendo más estudios para conocer el comportamiento de los nanomateriales en el medio ambiente, si sufren aglomeraciones, como se transportan, si se degradan por procesos de oxidación o por exposición a la radiación UV, etc. (11).

Podemos medir el daño de los ENM en el medio ambiente a partir de tres parámetros (11):

- La persistencia, que está relacionada con la estabilidad de los materiales y su capacidad de permanecer como tales, inalterados, una vez llegan al medio ambiente.
- La bioacumulación, que está relacionada con la capacidad que tienen algunas sustancias para alcanzar y acumularse en los organismos vegetales como animales.
- La toxicidad, que está relacionada con el daño que induce en los organismos y seres vivos expuestos, incluidos, los seres humanos.

Además (11), sabemos que los nanomateriales tienen muchas aplicaciones, y entre ellas destaca su uso en el control ambiental como la prevención o reducción de la contaminación, mejora de los procesos de generación, almacenamiento y uso de la energía y promover procesos productivos más limpios y eficientes. Cabe destacar el uso de nanopartículas de hierro en procesos de remediación de sitios contaminados con residuos de compuestos organoclorados y en la descontaminación de aguas residuales o subterráneas; o el uso de los nanomateriales como catalizadores que pueden redundar en procesos de producción más limpios y económicos.

Así que no solo tenemos que considerar un impacto negativo en el medio ambiente sino también el lado beneficioso que pueden tener los nanomateriales.

4.4. Métodos de evaluación existentes

4.4.1. Modelos in vivo

Son necesarios los estudios “in vivo” debido a que en el organismo hospedador se puede observar diferentes fenómenos de las nanopartículas como biodistribución, acumulación, metabolismo, persistencia, eliminación, y otras consecuencias como la alteración del comportamiento o en el desarrollo del mismo. (17)

Para evaluar la nanotoxicidad se han utilizado tanto organismos procariotas como bacterias y organismos eucariotas, como vegetales y animales. A continuación, se presentarán los resultados agrupados por grupos evolutivos los modelos in vivo que se han analizado en este estudio y por medio de una tabla presentare los efectos de los mismos.

- 1) Estudio en bacterias:
 - a) Estudio en comunidades bacterianas del suelo con **NPs TiO₂** y **NPs ZnO** durante 60 días (18).
 - b) Estudio de 5 suelos RefeSol con **NPs Ag** (19). Los suelos de referencia usados: 3 suelos cultivables y 2 suelos pastizales.
- 2) Estudio en diatomeas: *Pseudo-nitzschia pungens* e *Isochrysis galbana* con nanotubos de carbono multipared (**MWCNT**) durante 24 y 36 horas, respectivamente. (20).
- 3) Estudio en especies vegetales marinas y microalgas:
 - a) Estudio en *Spirodela polyrrhiza*, con **NPs TiO₂** (21); y con tres tipos de **NPs Ag** y concentraciones de Ag⁺ equivalente a los iones liberados por las NPs Ag (22).
 - b) Estudio en *Chlamydomonas acidophila*, con **NPs Ag** (23) y teniendo en cuenta la influencia del pH, a 4 y a 7.
 - c) Estudio en *Chlorella pyrenoidosa* con nanomateriales de carbono: óxido de grafeno (**GO**), óxido de grafeno reducido (**rGO**) y grafeno multicapa (**GM**) (24).
- 4) Estudio en crustáceos y moluscos:
 - a) Estudio en *Daphnia Magna*, crustáceo planctónico y considerado un bioindicador muy sensible, con **NPs TiO₂** (25).
 - b) Estudio en *Mytilus Galloprovincialis*, mejillón mediterráneo, con **NPs Ag** y **NPs CuO** y sus respectivas especies iónicas (23).
- 5) Estudio en dípteros: Estudio en moscas de la fruta, *Drosophila melanogaster*, en estado larvario con **NPs Ag**. Su uso como modelo de estudio se debe al rápido paso de la descendencia, barato mantenimiento, avanzadas herramientas de análisis genético, considerable homología de genes con otros organismos incluyendo los humanos y numerosas opciones para detectar fenotipos anormales o inducidos (17).
- 6) Estudio en especies acuáticas:
 - a) Estudio en *Paracentrotus lividus*, erizo de mar, con **NPs Ag** (23).
 - b) Estudio en *Danio rerio*, pez cebra, con **MWCNT** radiomarcados (23); y con **NPs TiO₂** (26,27); y con **NPs Ag** y con AgNO₃ (28); y con **NPs Ag – PVP** (29). El pez cebra presenta buenas características como claridad óptica, rápido desarrollo de defectos y similitud con otros vertebrados incluyendo los humanos (23).
 - c) Estudio en larvas de *D. rerio* con **NPs ZnO** (23).
 - d) Estudio en *Cyprinus carpio*, carpa común, con **NPs Ag** (23).

7) Estudio en mamíferos:

- a) Estudio en ratas de laboratorio con **MWCNT** (30).
- b) Estudio en ratones, con **NPs TiO₂** (31); con **NPs de ZnO** (32); y con **NPs AlO** (33).
- c) Estudio en ratones y su microbiota intestinal con **NPs Ag** (34).
- d) Estudio en ratones gestantes, cepa *C57BL/6J*, con **NM-400 MWCNT** (35).
- e) Estudio en ratones gestantes en cepa *ICR* con **NPs TiO₂** (36).

Tabla 1. Relación de estudios in vivo

Modelo de estudio	NPs	Conc.	Efectos	Ref
<i>Microcosmo del suelo</i>	TiO ₂	5.0, 10 y 20 mg/mL	Ambos redujeron biomasa microbiana y alteraron la diversidad y composición microbiana. Efecto tóxico mayor en ZnO.	18
	ZnO	0.5, 1.0 y 5.0 mg/mL		
<i>Suelos RefeSol cultivables y pastizales</i>	Ag	0.56, 1.67, 5.0 y 15.0 mg/mL	La toxicidad en microorganismos está influenciada por los parámetros del suelo. Mayor toxicidad en suelos ácidos y con bajo contenido de arcillas y alto en arena.	19
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i>	MWCNT	0, 1.0 y 10 mg/mL	Decrecimiento rápido a altas concentraciones, células vacías visibles y presencia de objetos esféricos que pueden formar conglomerados.	20
<i>Isochrysis galbana</i>			Incremento del número de células inmóviles y reducción de la actividad física.	
<i>Spirodela polyrrhiza</i>	TiO ₂	0.05, 0.1, 1.0, 5.0 y 10 mg/L	Reducción del crecimiento celular, pigmentos fotosintéticos y actividad de enzimática.	21
	GA-Ag	0.5, 1.0, 5.0 y 10 mg/L	Alteración estructural de los cloroplastos, bioacumulación del nanomaterial y generación de ROS. Efecto tóxico dosis – dependiente y debido a las características de la propia NP.	22
	PVP-Ag	10 mg/L		
	Micrón-Ag	10 mg/L		
<i>Chlamydomonas acidophila</i>	Ag	0.1-100 mg/L	Toxicidad dosis dependiente. Disminuye el contenido clorofílico y decrecimiento celular por generación de ROS. Mayor solubilidad a pH ácido.	23
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	GO	37.3 mg/L	Efecto sombreado de las tres NPs resultó mayor en GO, esto produce mayor inhibición del crecimiento y depleción de los nutrientes por interacción con las NPs.	24
	rGO,	34.0 mg/L		
	GM	62.2 mg/L		
<i>Daphnia magna</i>	TiO ₂	0.5 – 4.5 mg/L	Afecta a la reproductibilidad y supervivencia en función de la concentración. Mayor efecto toxico a mayor concentración.	25
<i>Mytilus Gallopronvicialis</i>	Ag CuO	10µg/L	Daño genotóxico tanto por las NPs como por las formas iónicas liberadas al medio siendo mayor en estas últimas. Daño en cadenas DNA, mediado por estrés oxidativo e incrementa con el tiempo de exposición.	23
<i>D. melanogaster</i>	Ag	10 -100 mg/L	Aproximadamente, el 50% de las larvas fue incapaz de terminar su ciclo de desarrollo y salir de la pupa. Disminución de la fertilidad.	17

Modelo de estudio	NPs	Conc.	Efectos	Ref
<i>Paracentrotus lividus</i>	Ag	0.3 mg/L	Efecto toxico dosis dependiente de las NPs y alteraciones en el desarrollo, asimetría del cuerpo y púas más cortas e irregulares. NPs más toxicas que catión Ag ⁺	23
<i>Danio rerio</i>	MWCNT	1 mg/L	Acumulación en órganos y tejidos principalmente, intestino. En presencia de carbono orgánico disuelto se capta menos. La fracción acumulada permanece constante. Posible biomagnificación y entrada en la cadena alimentaria	23
	TiO ₂	0.01 – 10.000 ng/mL	Mortalidad evidente a partir de 1ng/mL por generación de especies ROS debido a la fotoactividad de las NPs	26
		N/S	Pico de toxicidad diferenciado del resto en NPs 6nm. Influencia del tamaño determinante, mayor efecto tóxico cuanto más pequeño.	27
	Ag	0.01, 0.1, 0.5, 1.0 y 10 mg/L	No se observó efectos adversos en la tasa de crecimiento ni supervivencia. Se detectó la presencia de NPs en vasos sanguíneos y tejido intersticial. El análisis genómico demostró daños en genes de la fotorrecepción y regulación del reloj circadiano.	28
	AgNO ₃	0.01 mg/L		
	PVP - Ag	100-1000 µg/L	Efecto toxico dependiente de la dosis y 100% mortalidad a 800 µg/L	29
<i>Larvas de Danio rerio.</i>	ZnO	1-25 mg/L	Zn ²⁺ disueltos influyen en la toxicidad y desarrollo de los embriones. Retarda la eclosión y causa malformaciones corporales.	23
		50-100 mg/L	Muerte de embriones.	
<i>Cyprinus carpio</i>	Ag	0.62 ±0.12mg/L	Plata iónica acumulada en diferentes tejidos como hígado, branquias, tracto gastrointestinal, musculo esquelético, cerebro y sangre pero no hubo evidencias de acumulación como NPs.	23
<i>Rata de laboratorio</i>	MWCNT	0, 0.1, 0.4, 1.5, 6.0 mg/m ³	NPs depositadas en la mucosa olfatoria y pueden translocar al bulbo olfatorio. Potencial ruta de entrada al SNC	30
<i>Ratones de laboratorio</i>	TiO ₂	4 dosis de 3.3 mg/kg peso corporal (13.2 total).	Daño pulmonar y alteración de la permeabilidad de la barrera alveolar – capilar. NPs pasan a circulación sanguínea y lesiones de otros órganos.	31
	ZnO	5g/kg peso corporal.	Daños fisiopatológicos en ambos grupos. Se confirmó el daño en hígado con parámetros bioquímicos elevados como ALT, AST, ALP y LDH, además de daño en riñón y tejido cardíaco	32
	AIO	100 mg/kg peso corporal.	Alteraciones neuroconductuales, inducción del gen caspasa3 e inducción de la necrosis y apoptosis celular. Alteración conductual relacionada con el deterioro mitocondrial, daño oxidativo y muerte neuronal.	33
<i>Ratones de laboratorio y su microbiota</i>	Ag	0, 11.4, 114 y 1140 µg Ag/Kg peso corporal/ día.	No se registró toxicidad global pero si se detectó alteración de la microbiota intestinal. Disminución de Firmicutes. Cabe destacar que se observó menor efecto tras exposición a NPs envejecidas por sulfuración	34
<i>Ratones gestantes, cepa 57BL/6J</i>	MWCNT	4 dosis de 67 µg.	Inflamación materna y daños patológicos duraderos a nivel pulmonar y hepático. Retraso en la entrega de la primera camada en las hembras expuestas. Teóricamente, la inflamación pulmonar puede interferir con parámetros femeninos reproductores	35

Modelo de estudio	NPs	Conc.	Efectos	Ref
Ratones ICR gestantes	TiO ₂	4 dosis de 1 µg/µL.	Exposición durante el periodo prenatal influye en la expresión de genes de la descendencia, relacionados con las funciones y el desarrollo SNC.	36

4.4.2. Modelos in vitro

La mayoría de investigaciones nanotoxicológicas usa modelos “in vitro” debido a la variabilidad de líneas celulares que se pueden usar como estudio y las condiciones en que se puede realizar. (37)

Algunas ventajas de usar sistemas “in vitro” usando varias líneas celulares incluyen (38):

- La revelación de efectos primarios de las células diana en la ausencia de efectos secundarios causados por inflamación.
- Identificación de mecanismos primarios de toxicidad en la ausencia de factores fisiológicos y compensatorios.
- Eficiencia, rapidez y coste-eficacia.
- Alcance para mejorar en el diseño de estudios en animales costosos subsiguientes.

Sin embargo, la información que nos aporta no es suficiente para aclarar el comportamiento de las nanopartículas en un organismo vivo. Además, la información de mayor relevancia se obtiene de estudios “in vivo”, al determinar el daño real de los órganos o tejidos del organismo completo. (37)

- 1) Estudios en células humanas: Estudio de **NPs Ag** (39) con línea celular *HT-1080* (línea celular de fibrosarcoma) y *A431* (línea celular de carcinoma epidérmico); estudio de **NPs Ag** y **NPs ZnO** con *Caco-2* (31), línea celular humana epitelial de adenocarcinoma colorrectal; estudio de **NPs SiO** con *SH-SY5Y* (40), línea celular humana de neuroblastoma, diferenciadas y no diferenciadas por ácido retinoico; y estudio de **NPs AlO** con *HBMEC* (41), línea celular del endotelio microvascular del cerebro humano.
- 2) Estudios en células de mamíferos: Estudio de **NPs Ag** con *modelo BHE de rata* (31); estudio de **NPs ZnO** en neuronas piramidales *CA3* del hipocampo de rata (42) en edades postnatales de 10-14 días; estudio de **NPs SiO** sobre línea celular de neuronas dopaminérgicas *PC12* (31), derivada del feocromocitoma de la medula adrenal de rata; y estudio de **NPs CuO** en línea celular *Neuro-2A* del neuroblastoma de ratón (31).

Tabla 2. Relación de estudios in vitro

Línea celular	NPs	Conc.	Efectos	Ref.
<i>HT-1080; A431</i>	Ag	0- 50 µg/mL	Las células se volvieron menos poliédricas, más fusiformes, encogidas y redondeadas	39
<i>Modelo BHE de rata</i>	Ag	6.25–50 µg/cm ³	Respuesta inflamatoria, aumento de la permeabilidad y toxicidad tamaño-dependiente. Mayor daño con NPs pequeñas.	31
<i>Caco-2</i>	Ag ZnO	0, 10, 20, 50, 100 y 200 µg/mL	Daño mediado por estrés oxidativo por generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Toxicidad dosis – dependiente. Los resultados mostraron que ZnO es más citotóxico.	31
<i>Neuronas piramidales CA3</i>	ZnO	0 - 10 ⁻⁴ g/mL	Alteración de la homeostasis y las funciones fisiológicas de las neuronas.	42
<i>SH-SY5Y</i>	SiO	0, 100 y 300 ppm	A 300ppm, el daño era mayor en células no diferenciadas. El efecto neurotóxico resulta del incremento de daño del DNA, apoptosis y detención del ciclo celular, sin embargo, no hubo inducción de ROS. El enriquecimiento con glutatión protegió de los efectos tóxicos	40
<i>Línea celular PC12</i>	SiO	25 – 200 µg/mL	Daño oxidativo e incremento de la respuesta inflamatoria. Probable entrada en el SNC vía intranasal, depósito en el cuerpo estriado y alteración de niveles bioquímicos.	31
<i>HBMEC</i>	AlO	1 µM a 10 mM	Alteración del potencial mitocondrial, inducción del estrés oxidativo y disminución de la expresión de proteínas de unión.	41
<i>Neuro-2A</i>	CuO	0 – 400 mg/L	Fragmentación del DNA, peroxidación lipídica y formación de micronúcleos. Viabilidad celular del 63% después de 24h de exposición a máxima concentración.	31

4.4.3. Modelos in silico

El rápido desarrollo de nuevas tecnologías e innovaciones en la aplicación de tecnologías ya existentes, incrementó una demanda en el uso alternativo de pruebas no – animales. Este tipo de estudios se basan en la aplicación de técnicas computacionales, incluyendo el acoplamiento molecular, simulaciones de dinámica molecular y relación cuantitativa de la actividad-estructura/propiedad (43).

Estos estudios han allanado el camino para investigar las interacciones entre las células – NPs, predecir tasas de permeación de la BHE y evaluar los efectos potencialmente dañinos de las NPs en las células. Estudio nanotoxicológico modelo in silico para evaluar y predecir (43):

- La permeación de las NPs en la BHE; el mecanismo depende de varios factores como la habilidad del nanomaterial para entrar en las células, tamaño, estado de agregación, carga superficial, potencial zeta (ζ), etc. Por otro lado, este modelo tiene un serio obstáculo debido a la extrema complejidad del mecanismo.

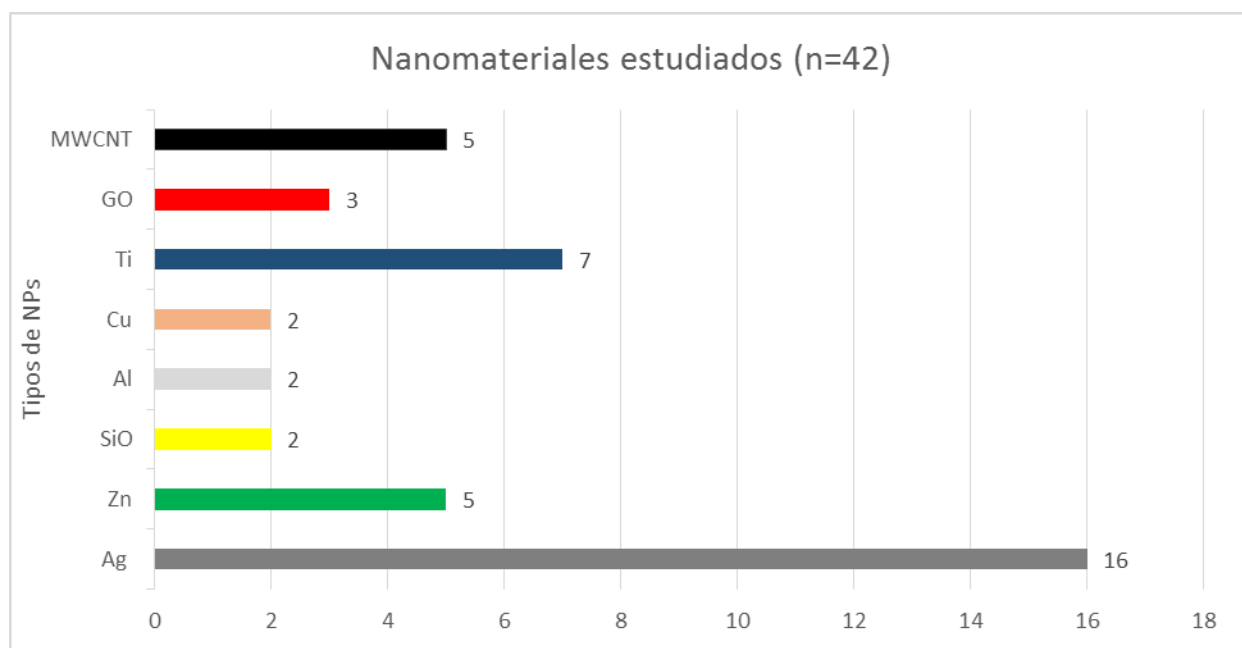
- La agregación de NP en la BHE, que parece estar relacionada con la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y desencadenar la apoptosis. Parece que el potencial zeta es importante en la agregación y dispersión, además, de la interacción de las proteínas de la sangre y electrolitos que pueden modificar la carga superficial de las NPs
- La citotoxicidad de NPs en la BHE. Las propiedades moleculares pueden causar efectos citotóxicos y disrupción de la membrana lipídica. Además, para evaluar la citotoxicidad se requiere investigaciones detalladas de los mecanismos que subyacen las interacciones entre las NPs y las membranas celulares. Sin embargo, existen dificultades para correlacionar las propiedades fisicoquímicas con la nanotoxicidad.

5. Discusión

Cada año las publicaciones acerca del tema de nanomateriales van en aumento, por ejemplo, a la hora de realizar este trabajo, me encontré con un gran volumen de información de temas muy variados como los aspectos seguros de las aplicaciones nanotecnológicas en el empaquetamiento de comida (44) o la síntesis de nanodots de carbono (45).

Es posible destacar la gran cantidad de información acerca de estudios que buscan determinar efectos toxicológicos de los nanomateriales de cualquier naturaleza, ya sean, nanotubos de carbono, óxidos de grafeno o nanopartículas metálicas.

Fig. 4. Gráfica comparativa de nanomateriales estudiados



En este trabajo, se han analizado un total de 39 estudios entre los modelos in vivo, in vitro e in silico. La fig. 4 presenta la distribución cuantitativa de las NPs estudiadas entre 1 modelo in silico, 8 modelos in vitro y 30 modelos in vivo. Es curioso señalar la diferencia de estudios que he encontrado y analizado en este trabajo, resultando ser mayoritarios los estudios in vivo que los estudios in vitro, cuando normalmente, suele haber más estudios in vitro que in vivo.

En la fig. 4 observamos un claro predominio de las NPs Ag, esto se puede entender como un gran interés de investigación por sus propiedades fisicoquímicas, su potencial acción bactericida y las múltiples aplicaciones que tiene en varios sectores como la industria textil, la electrónica o la medicina.

6. Conclusiones

1. La emisión de las nanopartículas puede ocurrir en cualquier punto de su ciclo de vida, siendo la más probable durante la fabricación de estas. Hay que tener en cuenta que en ese punto, la exposición ocupacional es más alta que la exposición ambiental. Por lo tanto, los humanos podemos estar más expuestos que el propio medio ambiente, y habría que hacer estudios de esta vía de exposición.
2. Debido a la variabilidad de propiedades fisicoquímicas, es difícil hacer una afirmación general sobre un impacto negativo de las nanopartículas en el medio ambiente. Por otro lado, entre las numerosas aplicaciones de las nanopartículas, puede tener un impacto beneficioso en la biorremediación y la descontaminación ambiental.
3. Existen numerosos estudios nanotoxicológicos in vivo e in vitro que concluyen con efectos perjudiciales en el sistema nervioso central, en la fertilidad, entrada en la cadena alimentaria por biomagnificación, daño celular por estrés oxidativo y muerte celular.
4. Los estudios in silico son una buena herramienta para predecir y evaluar efectos nanotoxicológicos pero se tiene que seguir investigando para poder correlacionar las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas con la nanotoxicidad.
5. Los estudios de nanopartículas de plata en este trabajo han sido bastantes, alejándose de otros estudios como el de las nanopartículas de Zinc o de Titanio. Además, hay que destacar los estudios de liberación y emisión de nanopartículas se han centrado principalmente en plata y titanio. Puede que la inclinación de los estudios hacia las nanopartículas de plata se deba al interés comercial y científico por sus propiedades fisicoquímicas y antibacterianas.

6. Por lo tanto, las futuras investigaciones tienen que ir encaminadas hacia todas las nanopartículas en general, no solo a las de plata y derivados de estos.
7. Para finalizar, es vital continuar con las investigaciones toxicológicas para poder prevenir daños a largo plazo por la continua exposición y emisión de nanomateriales, ya sea, en el medio ambiente y en cualquier ser vivo, incluido los humanos.

7. Bibliografía

1. Díaz del Castillo F, “Introducción a los nanomateriales” Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (UNAM) 2012.
2. Oropesa-Nuñez R, Jáuregui-Haza U, “Las nanopartículas como portadores de fármacos: características y perspectivas” Revista CENIC Ciencias Biológicas, 2012.
3. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), “Seguridad y Salud en el trabajo con Nanomateriales” 2015; NIPO: 272-15-054-5.
4. Recomendación de la Comisión Europea de 18 de octubre de 2011 relativa a la definición de nanomaterial. ELI: <http://data.europa.eu/eli/reco/2011/696/oj>
5. Bermejo M, Serena P, “Los riesgos de la nanotecnología” 2017 <https://goo.gl/Pp3ENe>
6. Arora S, Rajwade J, Paknikar K; DOI: 10.1016/j.taap.2011.11.010
7. Bhatia S; DOI: 10.1007/978-3-319-41129-3_2
8. Serrano A, “Resumen ejecutivo. El Mercado de la nanotecnología en Canadá 2015”, ICEX España Exportación e Inversiones, 2015.
9. Mora A, “Brochazos de aire limpio” El País, 2017 <https://goo.gl/yLkPSS>
10. Villafuerte Robles L, “Nanotecnología farmacéutica” Razón y palabra, 2009
11. Mendoza C, Correa B, “UNITAR – Proyecto Piloto de Nanoseguridad. Nanotecnología y nanoseguridad en Uruguay. Nanoevaluación y propuesta de plan de nanoseguridad”, 2013
12. Nowack B, David R, Fissan H, Morris H, Shatkin J, Stintz M, Zepp R, Brouwer D; DOI: 10.1016/j.envint.2013.04.003
13. Tsai S, Hofmann M, Hallock M, Kong J, Ellenbecker M; DOI: 10.1021/es900486y
14. Gottschalk F, Sonderer T, Scholz R, Nowack B; DOI: 10.1021/es9015553
15. Montañó M, Lowry G, Kammer F, Blue J, Ranville J; DOI: 10.1071/EN14037
16. Nowack B; <https://doi.org/10.1016/j.impact.2017.06.005>
17. Chifiriuc MC, Ratiu AC, Popa M, Ecovoiu A; DOI:10.3390/ijms17020036
18. Ge Y, Schimel J, Holden P; DOI: 10.1021/es103040t
19. Schlich K, Hund-Rinke K; DOI: 10.1016/j.envpol.2014.10.021

20. Golokhvast KS, Kuznetsov VL, Chaika VV, Razgonova SA, Orlova TY; DOI: 10.1016/j.ieri.2014.09.021
21. Movafeghi A, Khataee A, Abedi M, Tarrahi R, Dadpour M, Vafaei F; DOI: 10.1016/j.jes.2016.12.020
22. Jiang HS, Qiu X, Li G, Li W, Yin L; DOI: 10.1002/etc.2577
23. Jahan S, Yusoff IB, Alias YB, Bakar AFBA; DOI: 10.1016/j.toxrep.2017.04.001
24. Zhao J, Cao X, Wang Z, Dai Y, Xing B; DOI: 10.1016/j.watres.2016.12.037
25. Kim KT, Klaine SJ, Kim SD; DOI: 10.1007/s00128-014-1295-5
26. Bar-Ilan O, Chuang CC, Schwahn DJ, Yang S, Joshi S, Pedersen JA, Hamers RJ, Peterson RE, Heideman W; DOI: 10.1021/es304514r
27. Kim MS, Louis KM, Pedersen JA, Hamers RJ, Peterson RE, Heideman W; DOI: 10.1039/c3an01966g
28. Cambier S, Rogeberg M, Georgantzopoulou A, Serchi T, Karlsson C, Iversen TG, Guignard C; DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.115
29. Gao J, Mahapatra CT, Mapes CD, Khlebnikova M, Wei A, Sepúlveda MS; DOI:10.1080/17435390.2016.1214763.
30. Pauluhn J; DOI: 10.1093/toxsci/kfp247
31. Karmakar A, Zhang Q, Zhang Y; DOI: 10.1016/j.jfda.2014.01.012
32. Wang B, Feng WY, Wang TC, Jia G, Wang M, Shi JW, Zhang F, Zhao YL, Chai ZF; DOI: 10.1016/j.toxlet.2005.08.007
33. Zhang QL, Li MQ, Ji JW, Gao FP, Bai R, Chen CY, Wang ZW, Zhang C, Niu Q; International Journal of Immunopathology and Pharmacology; PMID: 21329562
34. van den Brule S, Ambroise J, Lecloux H, Levard C, Soulas R, De Temmerman PJ, Palmi-Pallag M, Marbaix E, Lison D; DOI: 10.1186/s12989-016-0149-1
35. Hougaard K, Jackson P, Kyjovska Z, Vogel U; DOI: 10.1016/j.reprotox.2013.05.006
36. Shimizu M, Tainaka H, Oba T, Mizuo K, Umezawa M, Takeda K; DOI: 10.1186/1743-8977-6-20
37. Lopez Fernandez A, García-Díaz I, Casermeiro MA; “¿Cómo evaluamos el impacto ambiental de las nanopartículas?”; 2017
38. Arora S, Rajwade JM, Paknikar KM; DOI: 10.1016/j.taap.2011.11.010
39. Arora S, Jain J, Rajwade JM, Paknikar KM; DOI: 10.1016/j.toxlet.2008.04.009
40. Kim YJ, Yang S; DOI: 10.1007/s13273-011-0048-3
41. Chen L, Yokel R, Hennig B, Toborek DOI: 10.1007/s11481-008-9131-5
42. Zhao J, Xu L, Zhang T; Ren G, Yang Z; DOI: 10.1016/j.neuro.2008.12.005

43. Shityakov S, Roewer N, Broscheit JA, Förster C; DOI: 10.1016/j.comtox.2017.02.003

44. Dimitrijevic M, Karabasil N, Boskovic M, Teodorovic V, Vasilev D, Djordjevic V, Kilibarda N, Cobanovic N; DOI: 10.1016/j.profoo.2015.09.015

45. Ortega-Liebana MC, Chung NX, Limpens R, Gomez L, Hueso JL, Santamaria J, Gregorkiewicz T; DOI: 10.1016/j.carbon.2017.03.017