

Medicina Balear 2011; 26 (2); 36-46

Article especial

## Nanotoxicología ambiental: retos actuales

M<sup>a</sup>T. Frejo<sup>1</sup>, M<sup>a</sup>J. Díaz<sup>1</sup>, M. Lobo<sup>1</sup>, J. García<sup>2</sup>, M. Capó<sup>1</sup>

1- Dpto. de Toxicología y Farmacología. Universidad Complutense de Madrid

2- Dra. en Ciencias Biomédicas

### Resumen

Las nanopartículas son partículas cuyas dimensiones están entre 1 y 100 nanómetros, que se producen de forma natural en caso de incendios forestales, erupciones volcánicas, etc., y se pueden fabricar e incorporar en diferentes procesos industriales, lo que ha dado lugar a una gran exposición de estos nanomateriales a nivel medioambiental.

Las nanopartículas presentan propiedades físicas y químicas únicas, las cuales difieren significativamente de las correspondientes al mismo material de mayor escala, por lo que no es posible predecir su perfil de toxicidad por extrapolación a partir de datos de sus equivalentes de mayor tamaño.

El principal objetivo de este trabajo es realizar una valoración exhaustiva de los usos y de los posibles mecanismos de toxicidad de estas sustancias en el medio ambiente y en el hombre ya que actualmente no existe una legislación específica sobre nanomateriales. La investigación de este tema tiene gran actualidad ya que es necesario determinar la relación beneficio/riesgo de estos materiales para una correcta evaluación del riesgo siendo la investigación en esta área, una de las líneas prioritarias dentro del 7º Programa Marco de la Unión Europea en materia de salud.

*Palabras clave:* Nanopartículas, medio ambiente, toxicología

### Abstract

Nanoparticles are particles which dimensions are between 1 and 100 nanometers. This kind of particles can be produced under natural circumstances such as forest fires, volcanic eruptions, etc., or can be manufactured and included in different industrial processes, something which has caused an increase in the presence of these particles in the environment.

Nanoparticles have unique physico-chemical properties which are significantly different from the same material at a bigger scale. This is the reason why it is not possible to predict its toxicity profile by extrapolation from their equivalents of bigger size.

The main aim of this research is to conduct an exhaustive study of the uses and possible toxicity mechanism of these substances in the environment and in humans, due to the absence, nowadays, of specific legislation regarding nanomaterials. This item research is a current issue because it is necessary to determine the benefit/risk balance for these materials, so we can develop a correct evaluation of the potential danger. This investigation area is one of the priorities in the Seventh Framework Programme of the European Community regarding to health matters.

*Key Words:* Nanoparticles, environmental, toxicology

### Correspondencia

Miguel A. Capó · Dpto. de Toxicología y Farmacología, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid · Avda. Puerta de Hierro s/n · 28040 · Madrid

## Introducción

Las Nanopartículas (NP), son partículas más grandes que los átomos y las moléculas. No obedecen a la química cuántica, ni a las leyes de la física clásica, poseyendo características propias. No existe una definición única de NP aunque la mayoría de autores piensan que son porciones de materia diferenciadas del medio donde se encuentran y cuya longitud, al menos en una de sus dimensiones está entre 1 y 100 nanómetros. Se producen de forma natural en caso de incendios forestales, erupciones volcánicas, etc., pero debido al desarrollo industrial y a su uso en muchos procesos industriales se ha tomado conciencia de la exposición tanto del hombre como el medio ambiente.

Una de las características de las NP es que la relación entre el número de átomos superficiales y el tamaño de la partícula es de carácter exponencial. Por ello propiedades relacionadas con la superficie, como las eléctricas, mecánicas, magnéticas, ópticas o químicas son diferentes a las de los mismos materiales a escala no nanométrica. Estas propiedades juegan un papel importante en la toxicidad de estas partículas y es trascendental conocerlas para entender, predecir y gestionar el riesgo potencial que presentan, mediante nuevos ensayos adaptados a sus propiedades.

## Usos de las nanopartículas

La gran preocupación que ha despertado el uso de estas partículas en diferentes procesos industriales ha dado lugar a una nueva rama de la ciencia denominada Nanociencia, dedicada al estudio de átomos, moléculas y objetos cuyo tamaño se mide a escala nanométrica (de 1 a 100 nanómetros). La aplicación de esta nueva tecnología ha dado lugar a la nanotecnología, la cual se define como el análisis, síntesis, diseño, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas a través del control de la materia a nanoescala, así como el aprovechamiento de las propiedades de la materia a ese nivel. La nanotecnología tiene muchas aplicaciones, entre las podemos destacar:

- *Obtención de Energía:* células solares basadas en  $\text{TiO}_2$ , almacenamiento de hidrógeno con hidruros metálicos, mejora de electrodos para pilas
- *Biomedicina:* liberación de fármacos particularmente insulina, tratamientos contra el cáncer, recubri-

mientos para implantes, agentes de contraste para diagnóstico por imagen, etc.

- *Ingeniería:* herramientas de corte, liberación controlada de herbicidas y pesticidas, sensores químicos, tamices moleculares, polímeros compuestos reforzados, aditivos para lubricantes, pigmentos, vidrios autolimpiables basados en  $\text{TiO}_2$ , tintas magnéticas y conductoras;
- *Artículos de consumo:* materiales para el deporte, recubrimiento de vidrios, textiles, repelentes de agua y de suciedad
- *Medio ambiente:* tratamiento de aguas basados en fibras de alúmina y en procesos fotocatalíticos de  $\text{TiO}_2$ , el cual oxida las moléculas orgánicas utilizándose como descontaminante en las emisiones de los vehículos y las industrias. También las NP de metales preciosos pueden oxidar monóxido de carbono, producto tóxico proveniente de los tubos de escape de los vehículos y transformarlo en dióxido de carbono el cual no es tóxico
- *Electrónica:* partículas magnéticas para memorias de alta densidad, circuitos electrónicos, pantallas con dispositivos de emisión basados en óxidos conductores.

El uso de nanomateriales de gran resistencia y poco peso pueden prolongar la vida útil de materiales como los plásticos y ahorrar energía, por ejemplo, los nanotubos de carbono debido a sus propiedades como su extraordinaria resistencia, propiedades eléctricas y una alta conductividad térmica le permiten su uso en electrónica, óptica y otras aplicaciones de la ciencia de los materiales.

Debido a su amplio uso, los nanomateriales han suscitado una gran preocupación por los efectos adversos que puedan tener en el ser humano y en el medio ambiente. Uno de los factores que demuestra su riesgo potencial es que aunque la cantidad de materia utilizada para un proceso nanológico es mínima, su pequeño tamaño puede ser suficiente para atravesar la piel o la barrera hematoencefálica. En contacto con el medio que les rodea lograrían tener infinidad de reacciones dependiendo del tipo, del medio (agua, aire, suelo) y condiciones atmosféricas (temperatura y humedad)<sup>1</sup>. El efecto de las NP en dichos medios es hoy en día la gran preocupación y sería conveniente realizar estudios de evaluación de estas NP en particular sobre:

- Toxicidad de partículas y fibras provenientes de nanomateriales.
- Ciclo de vida de los nanomateriales.
- Destino de material contaminante por adsorción desde el agua.
- Biodegradabilidad y persistencia de nanomateriales basados en polímeros.
- Relanzamiento de nanomateriales tóxicos al ambiente.
- Métodos de eliminación de nanomateriales tóxicos del ambiente.
- Uso mal intencionado de los nanomateriales.

Debido a la creciente preocupación que envuelve el uso de las NP, es necesario evaluar los riesgos que suponen la aplicación de las nuevas tecnologías sobre el medio ambiente y el ser humano para manejar adecuadamente los riesgos. Así surge una nueva disciplina denominada nanotoxicología que según Oberdörster<sup>2</sup> se define como la ciencia que estudia los efectos tóxicos de las NP sobre el medio ambiente y los seres vivos.

### Clasificación

A.- Nanopartículas de origen natural. Algunas son de origen biológico, como virus y bacterias y otras son de origen mineral o medioambiental como las que contiene el polvo de arena del desierto o las nieblas y humos derivados de la actividad volcánica o de los fuegos forestales.

B.- Nanopartículas antropogénicas. Son aquellas que se producen en procesos industriales como la pirolisis a la llama del negro de carbono, producción de materiales a gran escala por procedimientos a altas temperaturas (como el humo de sílice, partículas ultrafinas de óxido de titanio y metales ultrafinos), procesos de combustión (diesel, carbón), obtención de pigmentos, o en procesos domésticos (barbacoas). Las NP generadas mediante procesos de nanotecnología han sido clasificadas por la Agencia del Medioambiente en los EEUU en cuatro tipos:

1.- Nanopartículas basadas en carbono. Están formadas por un gran porcentaje de carbono, y donde suelen adoptar formas como esferas huecas, elipsoides o tubos. Los fullerenos esféricos reciben a menudo el nombre de buckyesferas y los cilíndricos el de buckytubos o nanotubos (Figura 1). Los fullerenos en medicina se utilizan fijando antibióticos específicos en su estructura para atacar bacterias resistentes y ciertas

células cancerígenas, tales como el melanoma. Los fullerenos no son muy reactivos debido a la estabilidad de los enlaces tipo grafito; entre los disolventes comunes para los fullerenos se incluyen el tolueno y el disulfuro de carbono.

2.- Nanopartículas basadas en metales.- Son aquellos nanomateriales que incluyen nanopartículas de diferentes metales entre los que destacan:

- Óxido de Bismuto.- Aumento de opacidad a los rayos X
- Óxido de cobre.- Aplicaciones catalíticas y de pro-

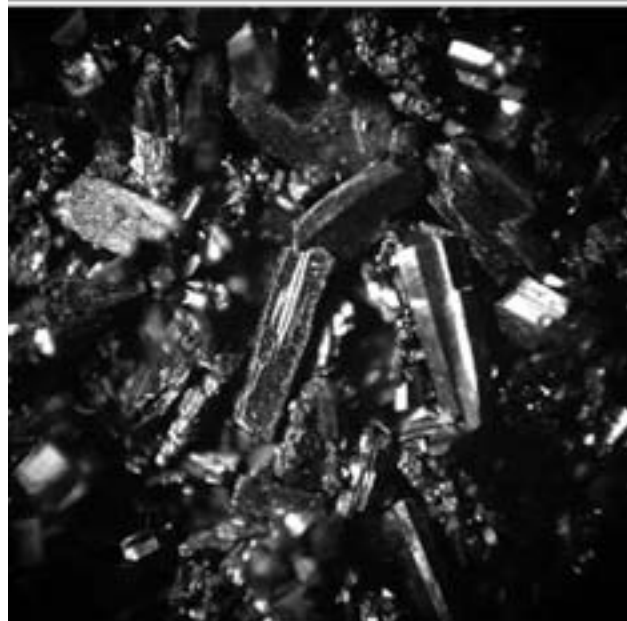
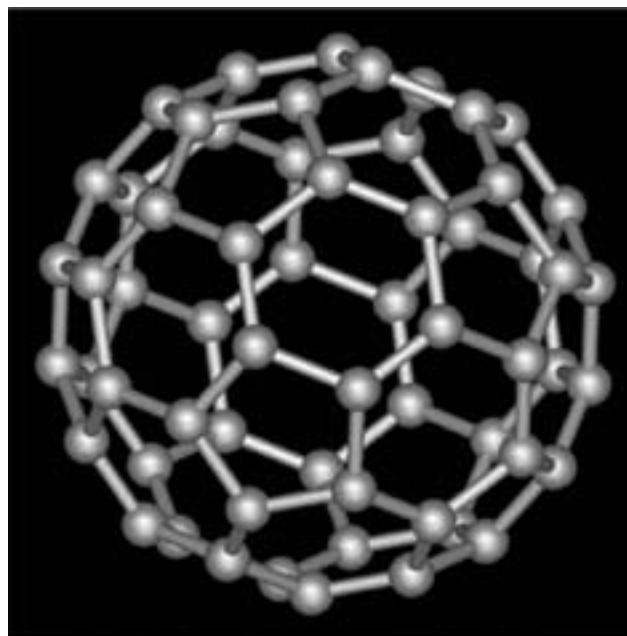


Figura 1.- Fullerenos C<sub>60</sub> y cristales de fullereno.  
Fuente: Wikipedia

tección, tales como conservación de la madera o antiincrustantes marinos.

- Óxido de cobre.- Aplicaciones catalíticas y de protección, tales como conservación de la madera o antiincrustantes marinos.

- Óxido de hierro.- Utilizado en cosmética y también en la industria en aplicaciones catalíticas como la síntesis de amoníaco

- Oxido de estaño.- Ideal para aplicaciones catalíticas.

- Oxido de Aluminio.- Utilizado para recubrimientos donde la transparencia es de suma importancia. Es especialmente adecuada para su incorporación en sistemas de revestimiento, lo que eleva la resistencia a la abrasión con efectos mínimos en la claridad, brillo y propiedades físicas de los recubrimientos.

- Oxido de zinc, esta aprobado por la FDA para su uso como ingrediente activo en productos de cuidado personal.

3.- Dendrimero.- Los dendrímeros son macromoléculas poliméricas sintéticas que pueden ser de distinta naturaleza (peptídicos, lipídicos, polisacáridicos, etc.). Estos nanomateriales, tiene la característica de ser polímeros contruidos a partir de unidades ramificadas. Su superficie tiene numerosos extremos de cadena, que se pueden adaptar para desempeñar funciones químicas específicas. Esta propiedad se podría utilizar también para la catálisis. Los polímeros dendríticos son una nueva generación de «nano-sistemas» que han despertado un gran interés, por su alto potencial como agentes formadores de vehículos de fármacos.

Además de su uso farmacológico, se utilizan como agentes de contraste, sensores para diagnóstico, detectores, electrónica molecular, agentes descontaminantes y de filtración, adhesivos, lubricantes y baterías.

4.- Compuestos.- Este tipo de nanomateriales, tienen la capacidad de combinar nanopartículas con otras similares o con materiales de mayor tamaño. Las nanopartículas, como arcilla a nanoescala, ya se están añadiendo a numerosos productos, desde piezas de automóviles a materiales de empaquetado, para mejorar sus propiedades mecánicas, térmicas, protectoras, etc.

## Exposición y distribución medioambiental

La reciente publicación en " Nature Nanotechnology "sección" News and Views "3 indica tres problemas principales que deben ser resueltos en los próximos años:

- 1.- Elección de las NP para uso en experimentos biológicos y las pruebas necesarias para caracterizarlos.

- 2.- Necesidad de examinar la ruta de la captación de las NP de síntesis por los organismos en diferentes ambientes (comportamiento en la cadena alimentaria).

- 3.- La elección de los organismos y puntos críticos.

Los nanomateriales manufacturados se incorporan a los compartimentos del medio ambiente por distintas vías. Existe una exposición a nanopartículas potencialmente contaminantes a través del aire mediante su uso en procesos industriales, al agua a través de las aguas residuales por derrames o lavados, y en el suelo donde se pueden acumular por su uso en herbicidas, industria electrónica, neumáticos, pilas de combustible, y vertido de muchos otros productos, desconociéndose en que medida pueden transformarse, por lo cual es necesario estudiar su distribución en los distintos compartimentos ambientales.

### Distribución atmosférica

Una de las principales interacciones del ser humano con el medio ambiente se da con el aire; de este se toma el oxígeno necesario para todas las funciones vitales y junto con el oxígeno ingresan en el organismo infinidad partículas que se encuentran suspendidas en la atmósfera.

El aire puede transportar las NP, debido a su ínfimo tamaño y mínimo peso<sup>4</sup>, esto aumenta su probabilidad de viajar largas distancias e interactuar con otros contaminantes generando efectos indeseables sobre el medio ambiente y la salud.

La cantidad de NP en el aire es similar en las zonas urbanas y rurales, encontrándose entre  $10^6$  a  $10^8$  NP por litro de aire. En las zonas rurales en su mayoría proceden de la oxidación de compuestos volátiles de origen biogénico o antropogénico, incluidos los aerosoles orgánicos. En las zonas urbanas, las principales son los motores diesel<sup>5</sup> y los procesos de foto-oxidación.

ción. Distintas mediciones han mostrado que las concentraciones en los aerosoles de los tubos de escape de los vehículos se encontraban entre  $10^4$  a  $10^6$  partículas/cm<sup>3</sup>, teniendo la mayoría de las partículas un diámetro inferior a 50 nm. Los niveles más elevados de las NP más pequeñas se deben al tráfico rodado de alta velocidad, debido a las condiciones que se crean durante el enfriamiento y la dilución de los gases de escape.

Los factores de emisión para vehículos de gasolina van desde 1,9 a  $9.9 \times 10^{14}$  partículas.km<sup>-1</sup> y  $2.2 \times 10^{15}$  a  $1.1 \times 10^{16}$  partículas.km<sup>-1</sup> de combustible<sup>6</sup>. Estos procesos de combustión ha proporcionado una nueva motivación para la investigación de partículas en el aire<sup>7</sup>.

### ***Distribución por el agua***

Debido al aumento de la superficie específica y reactividad de las NP, se puede producir un aumento de su biodisponibilidad y toxicidad<sup>8</sup>, por ejemplo, las NP de CuO son hasta 50 veces más tóxicas que las partículas de CuO de mayor tamaño en crustáceos<sup>9</sup>, algas<sup>10</sup>, protozoos<sup>11</sup> y levaduras<sup>12</sup> y las NP de TiO<sub>2</sub> y Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> fueron casi dos veces más tóxicas que sus partículas de mayor tamaño frente a nematodos<sup>13</sup>. Se ha descrito que en las NP de plata el efecto antibacteriano no sólo dependen de tamaño<sup>14</sup>, sino también en la forma<sup>15</sup>.

La superficie de las NP influyen en propiedades tales como estabilidad, movilidad, depósito en sistemas acuáticos, comportamiento ambiental y ecotoxicidad para las algas, plantas y hongos<sup>16</sup>. Los sedimentos deben considerarse como un importante depósito para las NP al verterse al medio acuático<sup>17</sup> siendo los organismos bentónicos los principales receptores de las mismas<sup>18</sup>. Las NP forman agregados visibles, sugiriendo Baveye y Laba<sup>19</sup> que la agregación puede tener implicaciones sobre su toxicidad. En estudios de ecotoxicidad se ha observado que los agregados de NP de TiO<sub>2</sub> son atrapados por las algas *Pseudokirchneriella subcapitata*<sup>10</sup>

La solubilidad, temperatura y el tiempo de contacto de las NP que tienen metales son factores clave en su toxicidad<sup>20,21,22</sup>. Formas insolubles de metales pesados puede llegar a ser biodisponibles por contacto directo entre las bacterias y las partículas del suelo<sup>23</sup>.

Las NP no sólo actúan como vectores de transfe-

rencia en el medio ambiente, sino que también facilitan la entrada de otros contaminantes en las células potenciando los efectos tóxicos. Así, Baun et al.<sup>24</sup> mostraron que la toxicidad de fenantreno para *Daphnia magna* se incrementó en un 60 % en la presencia de agregados C60.

### ***Distribución terrestre***

El destino de las NP en el suelo es uno de los campos de investigación medioambiental menos desarrollado, aunque se han presentado casos que señalan una posible toxicidad de las NP sobre diversas bacterias del suelo<sup>25</sup>.

Actualmente se están utilizando NP de hierro elemental en procesos de descontaminación y regeneración de suelos ya que sus propiedades hacen que reaccionen eficientemente con los compuestos contaminantes del suelo degradándolos para hacerlos menos peligrosos, permitiendo una mayor eficiencia y rapidez en los procesos de descontaminación<sup>26</sup>.

### **Mecanismos de toxicidad**

Debido a su tamaño las NP tienen la propiedad de modificar las propiedades físico-químicas de la materia, observándose un aumento en su capacidad de interacción con los tejidos biológicos, lo que puede generar efectos biológicos adversos en las células vivas que de otro modo no sería posible con el mismo material de mayor tamaño.

Los mecanismos de toxicidad no han sido totalmente esclarecidos, aunque según Lanone y Boczkowski<sup>27</sup>, el principal mecanismo de nanotoxicidad *in vivo* es la inducción de estrés oxidativo mediante la generación de radicales libres.

El estrés oxidativo se debe a un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Las alteraciones en este estado normal redox pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN. De hecho, Stone y Donaldson<sup>28</sup> lo sugieren como el indicador adecuado para discriminar los efectos adversos de las distintas NP a nivel celular y molecular<sup>29,30</sup>.

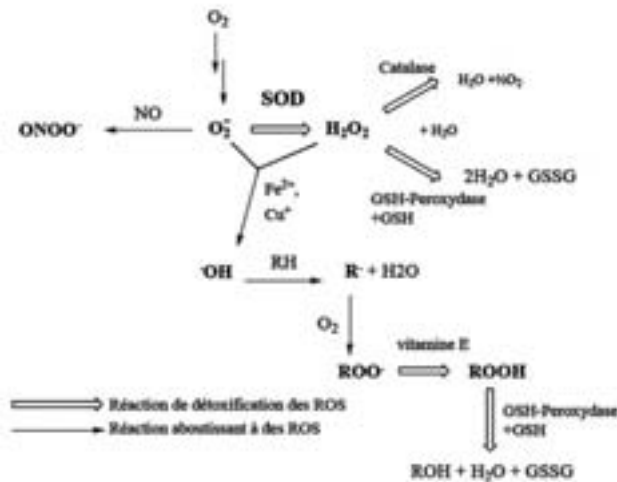


Figura 2.- Las especies reactivas del oxígeno y su sistema de detoxificación (versión simplificada). SOD: superóxido dismutasa, GSH-peroxidasa: glutatión peroxidasa. Fuente: Wikipedia

Tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*, se ha observado la formación de especies reactivas de oxígeno independientemente del nanomaterial estudiado<sup>31</sup>. Estos efectos sólo se han observado a elevadas concentraciones por lo que algunos autores señalan la dificultad de establecer la importancia fisiológica de los mismos<sup>32</sup>. Además, el estrés oxidativo puede jugar un papel en la inducción o el aumento de la inflamación a través de la regulación de factores de transcripción sensibles al estado redox y activando quinasas<sup>33</sup>.

Numerosos estudios *in vitro* muestran la capacidad de los nanomateriales para inducir estrés oxidativo a elevadas concentraciones y algunos indican posible genotoxicidad y respuesta inflamatoria. Por todo ello la EFSA ha considerado que para una correcta caracterización del peligro de los nanomateriales y establecer las relaciones dosis respuesta, no sólo se debe considerar la masa como unidad de medida, sino también el número de partículas y el área superficial.

### Efectos tóxicos de las nanopartículas en el ser humano

Los mecanismos de toxicidad tras la exposición a las NP son complejos y dependen de la vía de exposición, dosis, respuesta del organismo, susceptibilidad y propiedades fisicoquímicas específicas de las partículas<sup>34</sup>.

La absorción de las NP se produce a través de los pulmones, piel o aparato digestivo. Las propiedades de oxidoreducción en los diferentes tejidos pueden ser desde muy oxidantes, como sucede en la piel o en los pulmones, hasta muy reductoras, en el intestino esto puede afectar a los mecanismos que desencadenan el estrés oxidativo, por lo cual es necesario estudiar todos los sistemas del organismo a los que pueden llegar.

### Pulmón

Los nanomateriales son inhalados dependiendo de su tamaño, forma y composición química, siendo capaces de penetrar y depositarse en los diferentes compartimentos del aparato respiratorio, en la región extra-torácica, la región traqueo-bronquial, y la región alveolar.

Las partículas ultrafinas superiores a 10 nm se depositan mayoritariamente en la región alveolar y las inferiores a 10 nm se depositan principalmente en la región extratorácica y en una menor cantidad en la región traqueo bronquial.

Una vez que las NP entran en los espacios intersticiales son captadas por las células alveolares induciendo efectos tóxicos debido a la formación de especies reactivas de oxígeno, lo que da lugar a alteraciones en el ADN, e inflamación lo que desencadena fibrosis y neumoconiosis.

En un estudio de inhalación, el pulmón mostró una mayor biodisponibilidad a NP de oro tras cinco días de exposición<sup>35</sup>. En otro estudio se vio que los agregados de NP de plata eran retenidos en pulmón durante un periodo de 7 días. Los principales mecanismos de deposición de NP en los pulmones son: la impactación ( $PM \geq 10$  microm), sedimentación ( $PM \geq 0,1$  y  $PM \leq 50$  microm) y difusión (partículas ultrafinas). Una vez que las NP llegan al pulmón pueden pasar a hígado, corazón y SN en cuestión de horas.

Se ha observado que cuanto menor sea el tamaño de la NP mas amplia será su distribución y su persistencia por lo tanto mayor será su toxicidad sobre los diferentes tejidos. Estudios realizados en roedores utilizando NP de oxido de titanio y fullerenos C-60 demostraron que inducen enzimas proinflamatorias como la IL-1, TNF-alfa, y IL-6 así como la proteína quimiotactica de monocitos en los pulmones de los roedores<sup>36</sup>. Esto puede dar lugar a trastornos pulmo-

nares tales como fibrosis pulmonar, neumoconiosis y asma<sup>37</sup>.

### **Piel**

Las NP pueden llegar a la piel a través del aire y por el uso de cosméticos y cremas solares que los contienen. No se han descrito efectos específicos para la salud, aunque hay estudios que sugieren que pueden penetrar a través de los folículos pilosos<sup>38</sup>, donde los constituyentes de las partículas pueden disolverse en condiciones acuosas y penetrar.

No existen estudios concluyentes sobre el daño que pueden ejercer las NP a través de la piel aunque hay dos claras tendencias; autores que opinan que las NP pueden ocasionar daños cutáneos como las partículas de óxido de titanio que pueden inducir daño en el ADN y peroxidación lipídica según Hostynek<sup>39</sup> y autores que estiman que la piel intacta es una barrera efectiva<sup>40</sup>.

### **Tracto gastrointestinal**

Los nanomateriales pueden ser ingeridos en el tracto gastrointestinal a través de los alimentos o el agua o de forma indirecta a través de dispositivos de suministro de medicamentos<sup>41</sup>.

Hay pocos estudios sobre la absorción y disposición de nanomateriales por el tracto GI y la mayoría han demostrado que las NP se eliminan rápidamente, sugiriéndose que las células epiteliales del intestino delgado son capaces de absorber NP con tamaño inferior a 200 nm<sup>42</sup>

En estudios realizados con C60 en ratas se demostró que era eliminado a las 48 horas en heces<sup>43</sup> mientras que estudios realizados con TiO<sub>2</sub><sup>44,45</sup> indican una mayor absorción y distribución hacia el hígado. Es predecible que en caso de las NP inorgánicas insolubles (óxido de titanio, oro, etc.) debido a su masa sean más biodisponibles que sus macro equivalentes<sup>29</sup>. Probablemente existan diferencias en la absorción dependiendo tanto de la química de superficie como del tamaño, por lo que son necesarios más estudios para evaluar el riesgo por esta vía.

### **Otros órganos**

Los órganos citados anteriormente constituyen la principal vía de entrada de las NP, pero se ha demostrado que pueden afectar a otros tejidos. La identi-

cación de la citotoxicidad de las NP en celulares madre germinales de mamíferos ha despertado gran preocupación<sup>46</sup> En este estudio, utilizaron una línea de células con características de células madre de espermatogonias para probar la toxicidad *in vitro* de diferentes tipos de NP mostrando que de todos los materiales ensayados (Ag, MoO<sub>3</sub>, y Al), las NP de plata eran las más tóxicas, las cuales producían una reducción de la función mitocondrial, aumento de la permeabilidad de la membrana, necrosis e inducción de apoptosis. Estos resultados son importantes ya que las NP de plata son capaces de acceder a los espermatozoides humanos a través de una variedad de productos comercializados pudiendo producir problemas de fertilidad. Existen estudios que indican que las NP de oro pueden atravesar la placenta y llegar al feto<sup>47</sup> lo que afectó el desarrollo del cráneo y causó la muerte de embriones.

Tras la absorción de las NP numerosos estudios han demostrado que se distribuyen al hígado, donde pueden sufrir un metabolismo de primer paso, riñones, bazo, etc.<sup>48</sup>.

Igualmente, diferentes estudios realizados con NP de cobre han demostrado que eran retenidas en la luz gástrica reaccionando con el jugo ácido secretado por lo que se produce una disminución de H<sup>+</sup> dando como resultado una alcalosis metabólica debido a que el HCO<sub>3</sub> generado durante la producción de ácido gástrico volverá a la circulación formándose grandes cantidades de bicarbonato de sodio, que aumentan el pH de la sangre arterial<sup>49,50,51,52</sup>. La elevación del pH de la sangre da lugar a una serie de efectos compensatorios respiratorios y renales, que provocan una serie de anomalías como aumento del tamaño del glomérulo, disminución en el lumen de las cápsulas de Bowman y signos de la glomerulonefritis.

A nivel hepático se han demostrado distintos efectos en cultivos celulares<sup>53</sup>. Se utilizó una línea celular de hígado de rata (BRL 3A), y se evaluó la citotoxicidad de diferentes NP de metales. Se observó una disminución significativa de los niveles de GSH, reducción del potencial de membrana mitocondrial y aumento de los niveles de ROS, sobre todo tras el tratamiento con NP de Ag, lo que sugiere que la citotoxicidad de plata (15, 100 nm) en las células hepáticas esta mediada por el estrés oxidativo.

## Legislación aplicable a las nanopartículas

Las nanotecnologías han supuesto un gran avance tecnológico en todos los campos, sanidad, industria, alimentación etc., aportando grandes beneficios para consumidores, trabajadores, pacientes, industria y creación de empleo. Sin embargo las nanotecnologías pueden exponer a las personas y al medio ambiente a nuevos riesgos que deben ser convenientemente evaluados<sup>54</sup>.

En el aspecto legislativo el reto consiste en garantizar que la sociedad pueda beneficiarse de las nuevas aplicaciones de la nanotecnología al tiempo que se mantiene un elevado nivel de seguridad.

El Reglamento REACH<sup>55</sup> promueve el principio «sin datos, no hay mercado». Las nanotecnologías conllevan riesgos toxicológicos nuevos, mal definidos, difíciles de someter a ensayo y de los que muy poco se sabe con respecto a su reacción inmunológica o su capacidad de reacción. Se ha demostrado que los nanotubos de carbono provocan exactamente el mismo tipo de daños que el amianto, las NP de carbono en bajas concentraciones provocan lesiones cerebrales en peces y la nanoplata antibacteriana se filtra al medio ambiente a través del agua de lavado lo que conlleva riesgos aún desconocidos<sup>56</sup>.

Si sabemos que las nanopartículas pueden atravesar la barrera hematoencefálica, ¿cómo podemos permitir, por ejemplo, la comercialización de protectores solares cuando no podemos garantizar que hayan sido probados teniendo en cuenta la posibilidad de que estos muestren un comportamiento distinto a las cremas tradicionales?

El uso de nanotecnologías implica una intervención en ámbitos en los que nuestro conocimiento es limitado; los modelos toxicológicos tradicionales sobre la evaluación del riesgo no pueden aplicarse en este caso. Es necesario velar por una reglamentación que permita la protección del medio ambiente y de las personas ya que las NP son mucho más reactivas que las sustancias en su forma original y pueden permitir avances técnicos nuevos. Esas características constituyen al mismo tiempo el problema de las nanotecnologías, tal y como lo recoge la Comunicación Europea sobre “Aspectos regulatorios de los nanomateriales”<sup>57</sup>.

El uso de las NP puede ser beneficioso o perjudi-

cial. Para poder elegir con conocimiento de causa, hay que evaluar los riesgos de su uso en nuevas tecnologías, conocer en qué medida una sustancia química puede ser tóxica, riesgo de contacto con la sustancia y procesos de descomposición en la naturaleza.

El reglamento REACH no contiene disposiciones que se refieran de manera explícita a las NP, las cuales entran en el ámbito de la definición de sustancia contenida en este reglamento. Si una sustancia química introducida en el mercado como sustancia en su forma macroscópica como el óxido de titanio, se introduce como nanomaterial, el expediente de registro debe de actualizarse para incorporar en él las propiedades específicas de la sustancia en cuestión. En la actualidad carecemos de normas aplicables al etiquetado de los nanomateriales, y ni siquiera existe un símbolo de advertencia establecido.

Los documentos de la Comisión Europea<sup>58</sup> sobre nanotecnologías consideran válidas las normas actuales, pese a que casi ninguna se adapte a los efectos de las mismas. El análisis de la Comisión se basa en una síntesis legalista y unilateral de las normas vigentes, pero éstas, en las nanotecnologías, resultan igual de eficaces que intentar recoger plancton con redes para pescar bacalao. El medio ambiente, la salud pública, consumidores y la industria saldrían beneficiados con una reglamentación específica sobre nanomateriales.

Las medidas necesarias deben incluir pruebas toxicológicas especialmente adaptadas, reglamentar la introducción de productos en el mercado y adoptar normas de etiquetado en productos de consumo. Son necesarias normas claras para proteger a las personas y al medio ambiente, pero también para que las empresas puedan asumir sus responsabilidades y evaluar el potencial de la inversión en nanotecnologías.

Las nanotecnologías constituyen un área prioritaria de la Unión Europea<sup>59</sup> en lo que se refiere a estudios de toxicidad y seguridad para el hombre y el medio ambiente, lo cual se ha puesto de manifiesto en el 7º Programa Marco<sup>60</sup>. La Comisión Europea debe supervisar de cerca la aplicación del reglamento REACH para que a medida que se vaya recabando información sobre su producción y comercialización se adquieran nuevos conocimientos en relación con sus propiedades toxicológicas o fisicoquímicas, se vayan modificando las disposiciones actuales sobre todos los umbrales cuantitativos y los requisitos de información.



El análisis de las propiedades, peligros y riesgos asociados a los nanomateriales pueden exigir ensayos e información adicional, por lo tanto, a fin de determinar los peligros específicos asociados será preciso modificar las directrices vigentes sobre los ensayos con dichas NP. Sería deplorable que las nanotecnologías adquirieran mala fama para siempre por el hecho de haber tenido tanta prisa en introducirlas en el mercado, sin conocer bien sus riesgos.

## Bibliografía

- 1.- Thomas K, Sayre P. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part I: evaluating the human health implications of exposure to nanoscale materials. *Toxicol Sci.* 2005; 87(2):316-21.
- 2.- Oberdörster G., Oberdörster E, Oberdörster J. Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. *Environmental Health Perspectives* 2005; 113 (7): 823-839.
- 3.- Behra R. , Krug H. Nanoecotoxicology: Nanoparticles at large. *Nature Nanotechnology* 2008; 3, 253 – 254.
- 4.- Biswas, P, Wu, C. Y. Nanoparticles and the environment. A critical review paper. *J. Air Waste Ma.* 2005; 55, 708-746.
- 5.- Schneider, J., Hock N., Weimer S., Borrmann S., Kirchner U., Vogt R. , Scheer V. Nucleation particles in Diesel exhaust: Composition inferred from in-situ mass spectrometric analysis, *Environ. Sci. Technol* 2005; 39, 6153-6161.
- 6.- Kittelson DB, Watts WF, Johnson JP, Zarling D, Schauer J, Kasper A, Baltensperger U, Burtscher H. Gasoline vehicle exhaust particle sampling study; Proceedings of U.S. Department of Energy 9th 2003. Diesel Engine Emissions Reduction Conference (DEER); August 24-28, 2003b. Newport, RI
- 7.- Donaldson K, Stone V, Clouter A, Renwick L, MacNee W. Ultrafine particles. *Occup Environ Med* 2001; 58, 211-216.
- 8.- Nel, A; Xia, T; Madler, L; Li, N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 2006; (311) 622-627.
- 9.- Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier HC and A. Kahru. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*, *Chemosphere* 2008; 71, 1308–1316
- 10.- Aruoja V., Dubourguier H.C , Kasemets K, y Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Sci. Total Environ* 2009; 407, 1461–1468.
- 11.- Mortimer M, Kasemets K, Kahru A. Toxicity of ZnO and CuO nanoparticles to ciliated protozoa *Tetrahymena thermophila*, *Toxicology* 2010; 269, 182–189.
- 12.- Kasemets K, Ivask A., Dubourguier H.-C, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Toxicol. In Vitro* 2009; 22, 1116–1122.
- 13.- Wang H, Wick R.L., Xing B. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and TiO<sub>2</sub> to the nematode *Caenorhabditis elegans*, *Environ. Pollut* 2009; 157, 1171–1177.
- 14.- Morones J.R., Elechiguerra J.L, Camacho A, Holt K, Kouri J.B, Ramírez J.T., Yacaman M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles, *Nanotechnology* 2005; 16, 2346–2353
- 15.- Pal S., Tak Y.K , Song J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol* 2007; 73, 1712–1720.
- 13.- Wang H, Wick R.L., Xing B. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and TiO<sub>2</sub> to the nematode *Caenorhabditis elegans*, *Environ. Pollut* 2009; 157, 1171–1177.
- 14.- Morones J.R., Elechiguerra J.L, Camacho A, Holt K, Kouri J.B, Ramírez J.T., Yacaman M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles, *Nanotechnology* 2005; 16, 2346–2353
- 15.- Pal S., Tak Y.K , Song J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*, *Appl. Environ. Microbiol* 2007; 73, 1712–1720.
- 16.- Navarro E, Baun A, Behra R, Hartmann N.B, Filser J., Miao A.-J, Quigg A, Santschi P.H., Sigg L. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi, *Ecotoxicology* 2008; 17, 372–386
- 17.- Baun A, Hartmann N.B, Grieger K, Kusk K.O. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing, *Ecotoxicology* 2008; 17, 387–395.
- 18.- Christian P, von der Kammer F, Baalousha M, Hofmann T. Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicology* 2008; 17, 326–343
- 19.- Baveye P, Laba M. Aggregation and toxicology of titanium dioxide nanoparticles, *Environ. Health Perspect* 2008; 116, A152–A153
- 20.- Brunner T.J, Wick P, Manser P, Spohn P., Grass R.N, Limbach L.K , Bruinink A, Stark W.J. In vitro cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility, *Environ. Sci. Technol* 2006; 40, 4374–4381
- 21.- Franklin N, Rogers N, Apte S, Batley G, Gadd G, Casey P. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl<sub>2</sub> to a freshwater microalgae (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility. *Environ. Sci. Technol* 2007; 41, 8484-8490

- 22.- Kahru A, Dubourguier H.C., Blinova I, Ivask A, Kasemets K. Biotests and biosensors for ecotoxicology of metal oxide nanoparticles: a minireview, *Sensors* 2008; 8, 5153–5170
- 23.- Kahru A, Ivask A, Kasemets K, Põllumaa L, Kurvet I, Francois M, Dubourguier H.C. Biotests and biosensors in ecotoxicological risk assessment of field soils polluted with zinc, lead and cadmium, *Environ. Toxicol. Chem* 2005; 24, 2973–2982.
- 24.- Baun A, Sørensen S.N., Rasmussen R.F, Hartmann N.B., Koch C.B. Toxicity and bioaccumulation of xenobiotic organic compounds in the presence of aqueous suspensions of aggregates of nano-C60, *Aquat. Toxicol* 2008; 86, 379–387.
- 25.- Wan, J., Zheng, Z. and Tokunaga, T.K. Natural abundance and mobile fractions of nanoparticles in soils. *Fundamental and Exploratory Research Program*. 2005; Earth Science Division. Research Summaries; 39
- 26.- Zhang W. Nanoscale iron particles for environmental remediation: an overview. *J. Nanopart Res* 2003; 5:323–332
- 27.- Lanone, S. and Boczkowski, J. Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Current Molecular Medicine* 2006; 6: 651-663.
- 28.- Stone, V. y Donaldson, K. Nanotoxicology. Signs of stress. *Nature Nanotechnology* 2006; 1: 23-24.
- 29.- FSAI. Food Safety Authority of Ireland. The Relevance for Food Safety of Applications of Nanotechnology in the Food and Feed Industries. *Food Additives, Chemical Contaminants & Residues*, 2008; Dublin
- 30.- Xia, T., Kovichich, M., Brant, J., Hotze, M., Sempf, J., Oberley, T., Sioutas, C., Yeh, J.I., Wiesner, M.R. y Nel, A.E. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano letters* 2006; 6:1794-1807.
- 31.- EFSA. European Food Safety Authority. The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety. Question No EFSA-Q-2007-124a. *The EFSA Journal* 2009; 958: 1-39.
- 32.- Lewinski, N., Colvin, V. y Drezek, R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small* 2008; 4 (1): 26-49.
- 33.- Aillon, K.L., Xie, Y., El-Gendy, N., Berkland, C.J. y Forrest, M.L. Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2009; 61: 457-466.
- 34.- Hoet, P.H.M., Brüske-Hohlfeld, I. and Salata, O.V. Nanoparticles -Known and Unknown Risks. *Journal of Nanobiotechnology* 2004; 2 (12): 1-15.
- 35.- Yu, L.E., Lanry Yung, L., Ong, C., Tan, Y., Balasubramaniam, K.S., Hartono, D., Shui, G., Wenk, M.R. and Ong, W. Translocation and effects of gold nanoparticles after inhalation exposure in rats. *Nanotoxicology* 2007; 1(3): 235-242
- 36.- Park, E., Kim, H., Kim, Y., Yi, J., Choi K. and Park, K. Carbon fullerenes (C60s) can induce inflammatory responses in the lung of mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2010; 244 (2): 226-233
- 37.- Li, J.J., Muralikrishnan, S., Ng, C.T., Yung, L.Y. and Bay, B.H. Nanoparticle-induced pulmonary toxicity. *Exp. Biol. Med* 2010; 235 (9):1025-33.
- 38.- Nohynek, G.J., Ladeemann, J., Ribaud, C. and Roberts, MS. Grey goo on the skin?. *Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. Crit. Rev. Toxicol* 2007; 37: 251-277
- 39.- Hostynek, JJ. Factors Determining Percutaneous Metal Absorption. *Food And Chemical Toxicology* 2003; 41(3): 327–345.
- 40.- Stern, S.T. and McNeil, S.E. Nanotechnology safety concerns revisited. *Toxicol. Sci* 2008; 101 (1): 4-21
- 41.- El-Ansary, A. and Al-Daihan S. On the Toxicity of Therapeutically Used Nanoparticles: An Overview. *J. Toxicology* 2009; Volume 2009, Article ID 754810, doi:10.1155/2009/754810
- 42.- Yani, P., Halbert, G.W., Langridge, J. and Florence, A.T. Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency. *J. Pharm. Pharmacol* 1990; 42: 821-826
- 43.- Yamago, S., Tokuyama, H., Nakamura, E., Kikuchi K., Kananishi S., Sueki K. In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: <sup>14</sup>C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity. *Chem Biol* 1995; 2:385–389
- 44.- Kreyling W, Semmler M, Erbe F, Mayer P, Takenaka S, Schulz H, et al. Translocation of ultrafine insoluble iridium particles from lung epithelium to extrapulmonary organs is size dependent but very low. *J. Toxicol. Environ. Health* 2002; 65A:1513-1530.
- 45.- Semmler M, Seitz J, Erbe F, Mayer P, Heyder J, Oberdörster G, et al. Long-term clearance kinetics of inhaled ultrafine insoluble iridium particles from the rat lung, including transient translocation into secondary organs. *Inhal. Toxicol* 2004; 16:453-459
- 46.- Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager JJ, Hofmann M-C. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. *Toxicological Sciences* 2005; 88 (2):412–419.
- 47.- Vega-Villa KR, Takemoto JK, Yáñez JA, Remsberg CM, Forrest ML, Davies NM. Clinical toxicities of nanocarrier systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2008; 60 (8):929–938.
- 48.- Hagens WI, Oomen AG, de Jong WH, Cassee FR, Sips AJAM. What do we (need to) know about the kinetic properties

- of nanoparticles in the body?. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2007; 49(3):217–229.
- 49.- Galla JH. Metabolic alkalosis. *Journal of the American Society of Nephrology* 2000; 11(2):369–375.
- 50.- Williams AJ. ABC of oxygen. Assessing and interpreting arterial blood gases and acid-base balance. *British Medical Journal* 1998; 317(7167):1213–1216.
- 51.- Tao TY, Liu F, Klomp L, Wijmenga C, Gitlin JD. The copper toxicosis gene product Murr 1 directly interacts with the Wilson disease protein. *The Journal of Biological Chemistry* 2003; 278(43):41593–41596
- 52.- Meng H, Chen Z, Xing G, et al. Ultrahigh reactivity provokes nanotoxicity: explanation of oral toxicity of nano-copper particles. *Toxicology Letters* 2007; 175 (1–3):102–110.
- 53.- Hussein, SM., Hess, KL., Gearhart JM., Geiss KT, Schlager JJ. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol in Vitro* 2005; 19: 975-983
- 54.- Kahru A, Dubourguier HC. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology* 2010; 269(2-3):105-19.
- 55.- Reglamento (CE) nº 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, se modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) nº 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) nº 1488/94 de la Comisión así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 2006, L396
- 56.- Helland A, Wick P, Koehler A, Schmid K, Som C. Reviewing the Environmental and Human Health Knowledge Base of Carbon Nanotubes. *Environ Health Perspect* 2007; 115(8): 1125-1131
- 57.- European Commission Communications, “Regulatory aspects of nanomaterials”. COM (2008) 366 final of 17.6.2008
- 58.- Commisision of the European Communities. Commission recommendation fo 07/02/2008 on a code of conduct for responsible nanosciences and nanotechnologies research. (COM) 2008 424 final
- 59.- Gutierrez-Praena D., Jos A., Pichardo S., Puerto M., Sanchez-Granados E., Grilo A. y Camean A.M. Nuevos riesgos tóxicos por exposición a nanoparticulas. *Rev. Toxicol* 2009; 26: 87-92
- 60.- EuroNanoForum 2009. Nanotechnology for Sustainable Economy. European and International Forum of Nanotechnology. Conclusions. Praga. 2-5 de Junio de 2009. European Research Area. European Commission

