



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Nanomateriales: Avances científicos,
aplicaciones y riesgos

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

PRESENTA:

Danae García Viacobo

DIRECTORA DE TESINA:

Dra. Yolanda Irasema Chirino López



Los Reyes Iztacala, Estado de México.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesina se realizó gracias al apoyo del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), con el número de proyecto IN218015 y folio de la beca de titulación 075215.

Comisión dictaminadora del trabajo de tesina:

Presidente: Dr. Luis Ignacio Terrazas Valdés

Vocal: Dra. Ana Lilia García Hernández

Secretario: Dra. Yolanda Irasema Chirino López

Suplente: Dra. Norma Laura Delgado Buenrostro

Suplente: Dr. Felipe Vaca Paniagua

Abreviaturas

- **Ag NPs:** nanopartículas de plata
- **Au NPs:** nanopartículas de oro
- **ENMs:** Nanomateriales manufacturados (Engineered nanomaterials)
- **EPA:** Environmental Protection Agency
- **IARC:** International Agency of Research on Cancer
- **ISO:** Organización Internacional de Normalización (International Organization for Standardization)
- **MWCNT:** Nanotubos de paredes múltiples (Multi-walled-carbon-nanotubes)
- **NAMPs:** Patrones asociados a nanomateriales (Nanomaterials-associated molecular patterns)
- **NDs:** Nanodiamantes
- **NM:** Nanomaterial
- **NP:** Nanopartícula
- **NT:** Nanotecnología
- **NTC:** Nanotubos de carbón
- **PAMAM:** polidoamina
- **PAMPs:** Patrones asociados a patógenos (Pathogen-associated molecular patterns)
- **PEN:** Project on Emerging Nanotechnologies
- **QDs:** Quantum dots
- **ROS:** Especies reactivas de oxígeno
- **SiO₂:** Dióxido de silicio
- **SWCNT:** Nanotubos de pared simple (Single-walled-carbon-nanotubes)
- **TiO₂:** Dióxido de titanio
- **ZnO:** óxido de zinc

Índice de figuras

- Figura 1. Gráfica comparativa del incremento de nanoproductos.
- Figura 2. Comparación del tamaño de algunos nanomateriales.
- Figura 3. Ciclo de vida de los nanomateriales.
- Figura 4. Lámina de grafeno.
- Figura 5. Forma de fullereno.
- Figura 6. Diferentes tipos de nanotubos de carbón.
- Figura 7. Microscopía electrónica de barrido de nanodiamantes.
- Figura 8. Microscopía electrónica de barrido de TiO_2 .
- Figura 9. Microscopía electrónica de barrido de ZnO .
- Figura 10. Microscopía electrónica de barrido de SiO_2 .
- Figura 11. Microscopía electrónica de barrido de nanopartículas de oro.
- Figura 12. Microscopía electrónica de barrido de nanopartículas de plata.
- Figura 13. Representación de un quantum dot.
- Figura 14. Estructura de los dendrímeros.
- Figura 15. Línea del tiempo de avances científico.
- Figura 16. Vías de exposición a las nanopartículas.
- Figura 17. Interacciones con el sistema inmune.

ÍNDICE

Resumen

1. Introducción.....	1
2. Justificación.....	5
3. Objetivo.....	6
4. Método.....	6
5. Desarrollo.....	7
5.1 Avances científicos.....	7
5.2 Vías de exposición y efectos adversos.....	8
5.3 Clasificación de los nanomateriales.....	10
5.3.1 Nanomateriales con base de carbono.....	12
5.3.1.1 Grafeno.....	12
5.3.1.1.1 Aplicaciones.....	13
5.3.1.1.2 Efectos tóxicos.....	14
5.3.1.2 Fullerenos.....	14
5.3.1.2.1 Aplicaciones.....	15
5.3.1.2.2 Efectos tóxicos.....	16
5.3.1.3 Nanotubos de carbón.....	16
5.3.1.3.1 Aplicaciones.....	17
5.3.1.3.2 Efectos tóxicos.....	17
5.3.1.4 Nanodiamantes.....	18
5.3.1.4.1 Aplicaciones.....	19
5.3.1.4.2 Efectos tóxicos.....	19
5.3.2 Óxidos metálicos.....	20
5.3.2.1 Dióxido de titanio.....	20
5.3.2.1.1 Aplicaciones.....	21
5.3.2.1.2 Efectos tóxicos.....	22
5.3.2.2 Óxido de zinc.....	23
5.3.2.2.1 Aplicaciones.....	24
5.3.2.2.2 Efectos tóxicos.....	25
5.3.2.3 Dióxido de silicio.....	25

5.3.2.3.1	Aplicaciones.....	26
5.3.2.3.2	Efectos tóxicos.....	27
5.3.3	Nanomateriales con base metálica.....	27
5.3.3.1	Nanopartículas de oro.....	28
5.3.3.1.1	Aplicaciones.....	28
5.3.3.1.2	Efectos tóxicos.....	29
5.3.3.2	Nanopartículas de plata.....	29
5.3.3.2.1	Aplicaciones.....	30
5.3.3.2.2	Efectos tóxicos.....	31
5.3.4	Quantum dots.....	32
5.3.4.1	Aplicaciones.....	33
5.3.4.2	Efectos tóxicos.....	33
5.3.5	Dendrímeros.....	34
5.3.5.1	Aplicaciones.....	35
5.3.5.2	Efectos tóxicos.....	35
6.	Conclusiones.....	37
7.	Perspectivas.....	38
8.	Referencias.....	39

Resumen

La nanotecnología se define como la creación de materiales y dispositivos funcionales a escala nanométrica y tiene un impacto en una gran variedad de áreas como salud, sector energético, alimenticio y textil. Los nanomateriales, como los de base metálica, óxidos metálicos, base de carbón, quantum dots y dendrímeros tienen una diversa gama de aplicaciones como aditivos en alimentos, en cosméticos, textiles, nanomedicina y sector energético. Con el desarrollo de la nanotecnología también se han incrementado las aplicaciones de los nanomateriales y a su vez se ha aumentado la exposición humana y esto puede llevar a efectos adversos en la salud. Por un lado, se observan los amplios beneficios que posibilitan los nanomateriales y por otro se destacan los efectos adversos, tales como la producción de especies reactivas de oxígeno, inflamación y genotoxicidad, derivados de la exposición a las NPs, ya sea por vía inhalatoria, oral o dérmica. Lo anterior se ha comprobado tanto en modelos *in vitro* como en modelos *in vivo*. Por lo que es necesario construir nanomateriales más seguros, conociendo las interacciones de las nanopartículas con los sistemas biológicos y aplicar la funcionalización en los nanomateriales invirtiendo en la creación de cubiertas que disminuyan su toxicidad.

1. Introducción

La nanotecnología (NT) es la fabricación de materiales, dispositivos y sistemas funcionales a través del control de la materia a escala nanométrica, además de la explotación de los nuevos fenómenos y propiedades físicas, químicas, biológicas, mecánicas y eléctricas, que se presentan a esta escala (Basavaraj, 2012).

Por definición la NT es transdisciplinaria, se aplica en la medicina, biología, física, química, farmacia, ecología, informática, entre otras (Blanco *et al.*, 2011) y tiene hoy en día un impacto en una gran variedad de áreas como salud, sector energético, agrícola, alimenticio, industrial y textil, entre tantos otros (Quintili, 2012).

El éxito de la NT se debe en su mayoría al empleo de los nanomateriales (NM), los cuales se desarrollan a grandes escalas para una amplia y diversa gama de aplicaciones (Dang, *et al.*, 2010). En octubre del 2011 la Unión Europea los definió como un compuesto que de manera natural, incidental o fabricada, contiene 50% o más nanopartículas (NPs) en un intervalo de 1nm - 100 nm, en una o más de sus dimensiones

[\[http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition_en.htm\]](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/nanotech/faq/definition_en.htm).

Consultado el: 25 de abril 2015].

Los NMs tienen una base muy heterogénea de materiales, incluyendo los de base metálica, óxidos metálicos, con base de carbón, quantum dots (QDs) y dendrímeros. Una amplia variedad de NM ya están disponibles en el mercado global y se han identificado más de 1600 productos que contienen NM (Schwirn *et al.*, 2014). El número de productos que contienen NPs se ha incrementado en la última década (Figura 1), de acuerdo con el Woodrow Wilson Center's Project on Emerging Nanotechnologies (PEN) a principios del 2014 se reportaron cerca de 1800 productos, entre ellos aditivos de alimentos, productos de belleza y cuidado personal [http://www.nanotechprojet.org/inventories/consumer/ consultado el: 25 de abril 2015].

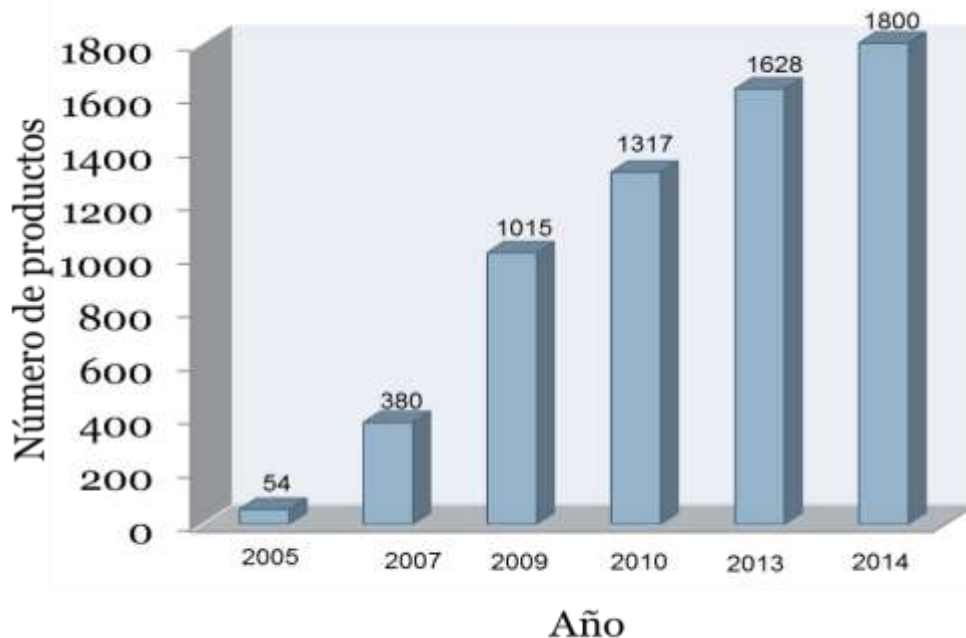


Figura 1. Incremento en el número de productos nanotecnológicos en los últimos años (The Project on emerging nanotechnologies, 2014).

Las propiedades de los NM son determinadas por la composición química y por propiedades morfológicas como tamaño, forma y superficie, estos parámetros pueden afectar las propiedades químicas, como reactividad, actividad fotocatalítica y propiedades energéticas. Estas propiedades hacen único a cada NM y afectan su comportamiento y pueden llevar a diferencias en el modo de internalizarse en la célula y el nivel de toxicidad inducida (Schwirn *et al.*, 2014).

Debido a sus interesantes propiedades los NM tienen aplicaciones en la industria alimenticia, sus usos incluyen: NPs de dióxido de titanio (TiO_2) para la modificación del sabor, color y textura; el uso de las nanopartículas de plata (Ag NPs) para la detección de patógenos e incremento de la calidad de los alimentos, un ejemplo de la aplicación de esta tecnología, es la creación de cubiertas para los alimentos que sirven como barreras antibacterianas (Pothur *et al.*, 2010). En el área farmacéutica y en la fabricación de cosméticos la NT ha desempeñado un papel importante ya que las NPs de óxido de zinc (ZnO) y de TiO_2 son ampliamente usadas en varios productos para el cuidado de la piel como cremas y protectores solares (Basavaraj, 2012).

La NT promete avances considerables en muchos sectores, especialmente en el campo biomédico (Petrinca, *et al.*, 2009), ya que sus aplicaciones en nanomedicina incluyen tratamientos, diagnósticos, monitoreo y control de sistemas biológicos, así como el uso de NMs como vehículos de entrega de fármacos, por ejemplo, para el tratamiento y diagnóstico del cáncer (Zhao *et al.*, 2001).

Los NMs se encuentran en una escala mucho más pequeña que algunos de los componentes biológicos, por ejemplo las mitocondrias (500 nm) o el núcleo celular (5000 nm) comparadas con un nanotubo de carbón (1nm) o dendrímero (5 nm) presentan una diferencia de tamaño significativa (Figura 2), lo cual permite que los NMs fácilmente sean transportados a sistemas biológicos e interactuar en las funciones normales de la célula (Magaye *et al.*, 2012).

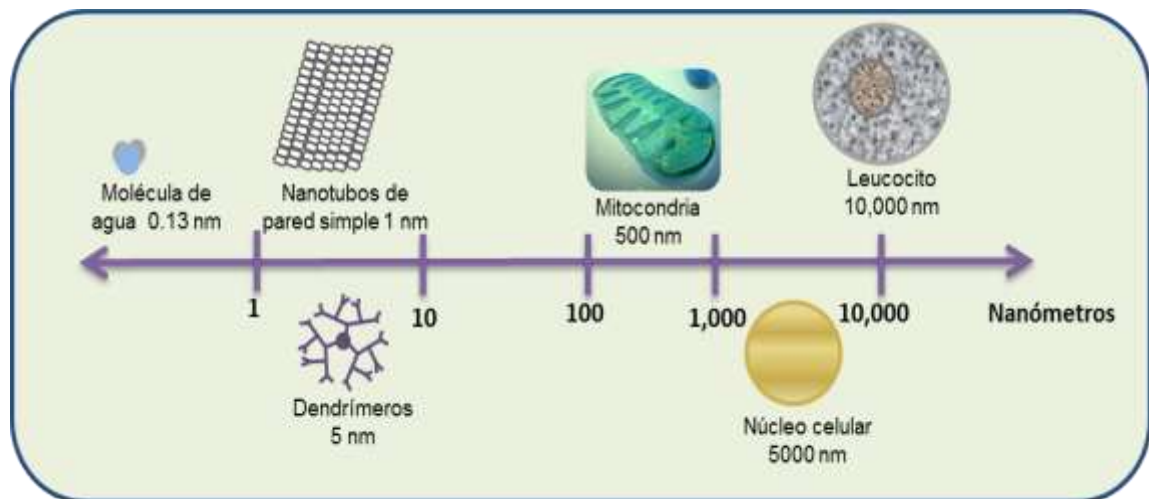


Figura 2. Comparación del tamaño de algunos NM con componentes.

Con el desarrollo de la NT también se han incrementado las aplicaciones de los NM y a su vez se ha aumentado la exposición humana a estos materiales (Kisin *et al.*, 2007). Muchas características de los NM, que los hacen tan prometedores desde el punto de vista tecnológico, pueden llevar a efectos adversos en la salud humana. Por un lado, se observan los amplios beneficios que posibilitan los NMs pero, por otro lado, existe una preocupación porque su uso podría ser peligroso en los seres vivos (Yokel *et al.*, 2011).

Un factor importante para el estudio de los NMs y su toxicidades es su ciclo de vida (Figura 3), el cual inicia en las fábricas (1), posteriormente viene la manipulación de los materiales por los trabajadores, los cuales están involucrados en su manejo y procesamiento (2), una vez terminado, el producto (3) es vendido al público el cual le va a dar uso hasta que la vida útil del producto llegue a su fin, así los consumidores van a desechar el producto (4), el cual, mediante procesos de degradación contamina al ambiente (5), ya sea por vía acuática, por suelo o por aire, este último proceso también puede darse directamente desde la fabricación por medio de los desechos industriales (6). Además existe una variante si se trata de productos que el consumidor ingiere, por ejemplo en alimentos, en dicho caso los NMs presentan efectos tóxicos directamente en el organismo (3.1) (Figura 3) (EPA).

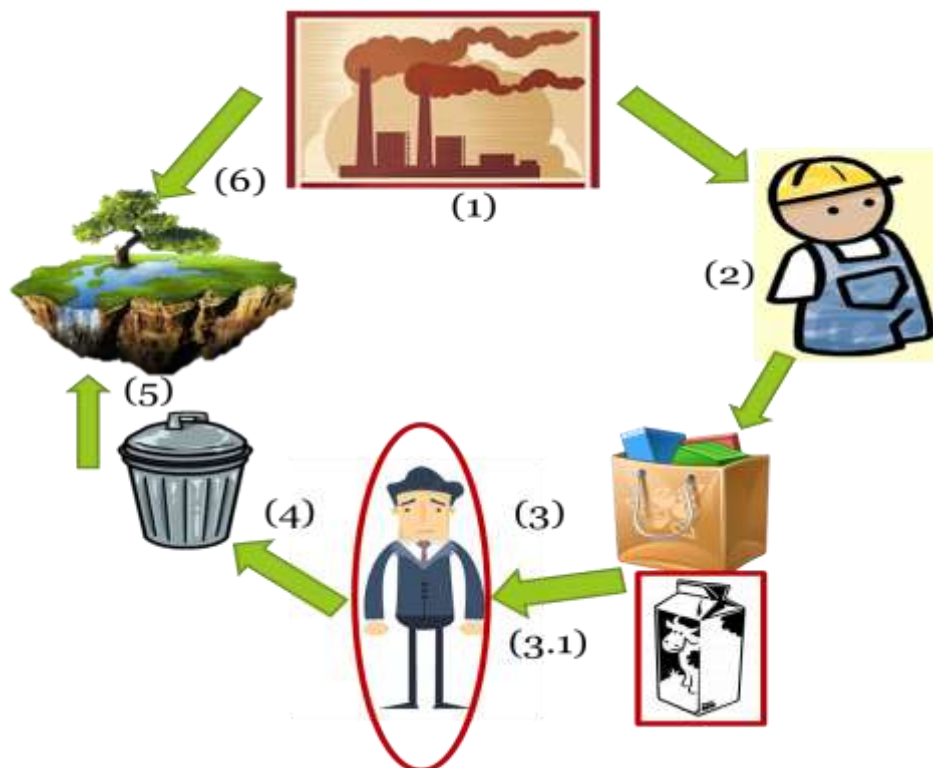


Figura 3. Ciclo de vida de los nanomateriales (NMs). (1) Fabricación del NM, (2) Procesamiento realizado por los trabajadores, (3) Producto terminado y adquirido por consumidor, (4) Desecha producto, (3.1) en caso de producto alimenticio al ser ingerido puede presentar toxicidad en el organismo, (5) La degradación desencadena contaminación ambiental.

2. Justificación

Los NMs cada vez son más utilizados debido a sus cualidades y mejoramiento que confieren a los materiales. Se ha invertido mucho en la investigación y en la búsqueda de nuevas aplicaciones, pero en los últimos años ha surgido la inquietud por conocer si es que la exposición a estos materiales puede ser perjudicial y desencadenar efectos tóxicos, por lo que se han realizado numerosos estudios los cuales demuestran que las NP son capaces de generar efectos adversos en diferentes modelos *in vitro* e *in vivo*, comprobando así la toxicidad de estas.

Es importante tomar en consideración los beneficios que nos han ofrecido estos novedosos NM resaltando los efectos tóxicos que producen en los organismos y en el ambiente, así como efectos que puedan desencadenarse en el futuro debido a la alta incidencia de NPs en la mayoría de los materiales que nos rodean y productos que consumimos.

Por lo que el presente trabajo abordará, desde las distintas aplicaciones hasta los avances que se han obtenido en cuanto a los efectos tóxicos por diferentes vías de exposición de los NM más utilizados y contrastar las ventajas y desventajas para así analizar si su uso, como hasta ahora, es el más adecuado y en su caso, proponer estrategias para su mejoramiento o disminuir sus efectos adversos.

3. Objetivo

Realizar un análisis de bibliografía recopilada acerca de los avances de la nanotecnología mediante el uso de NMs, así como contrastar su aplicación y los posibles efectos adversos relacionados a su uso.

4. Método

Realizar una búsqueda exhaustiva en Pubmed, una base de acceso libre de datos MEDLINE acerca de los NMs basándose en su clasificación por composición, las diversas aplicaciones y riesgos en organismos vivos, excluyendo los relacionados a efectos en el ambiente y sus componentes. Los artículos comprenden el periodo 2005-2015.

Se utilizaron las siguientes palabras claves: Nanomaterials, nanoparticles toxicity, carbon based nanomaterials, fullerenes, graphene, carbon nanotubes, nanodiamonds, titanium dioxide nanoparticles, zinc oxide nanoparticles, silicon dioxide nanoparticles, quantum dots, dendrimers, nanotoxicology.

5. Desarrollo

5.1. Avances científicos

A lo largo de la historia han existido diversos avances científicos que han marcado el desarrollo de la humanidad, mejorando la calidad de vida o innovando con la creación de nuevos productos.

Comparado con otros campos, la nanotecnología se ha desarrollado en muy poco tiempo, llevando menos de 15 años para su aplicación en la mayoría de los productos que conocemos, además que aún se siguen desarrollando materiales nanotecnológicos (Figura 4).

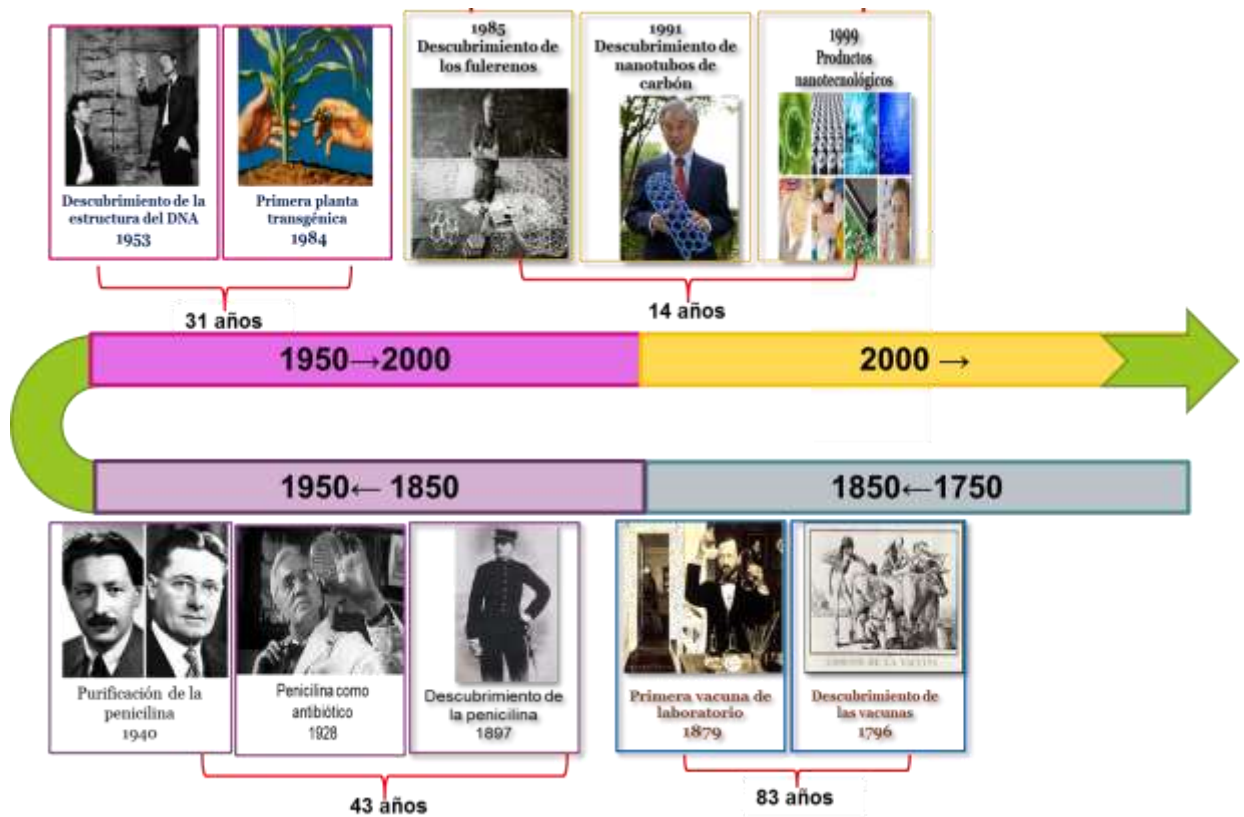


Figura 4. Comparación del tiempo de desarrollo de algunos avances científicos trascendentes como el descubrimiento de las vacunas, antibióticos, descubrimiento de la estructura del DNA con el desarrollo de la nanotecnología.

5.2. Vías de exposición y efectos adversos de los nanomateriales

Las NPs acceden al cuerpo por diferentes vías, primordialmente a través de la dermis, sistema respiratorio y gastrointestinal (Figura 16). En el caso de la vía

dérmica si las NPs fueran capaces de penetrar la capa de la epidermis, tendrían acceso al sistema cardiovascular. La habilidad de las NPs para pasar por la piel depende de su tamaño, superficie química y forma, así como las condiciones de la piel.

En nanomedicina la principal vía de exposición a los NMs es la vía intravenosa, sin embargo esta vía no es considerada de alto riesgo ya que los NMs utilizados serían principalmente como agentes de contraste, lo cual conlleva a una sola exposición y baja dosis para el diagnóstico deseado.

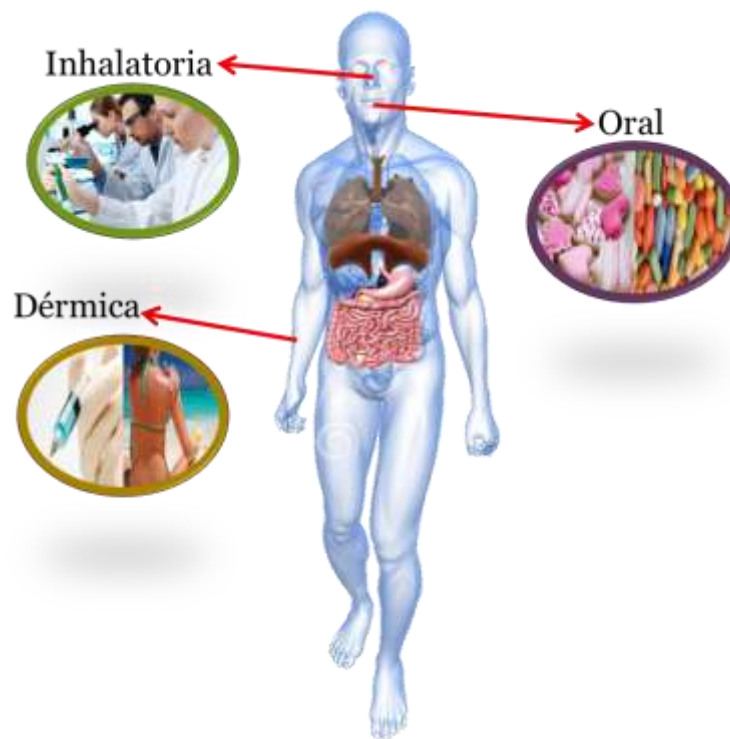


Figura 16. Principales vías de exposición a los nanomateriales.

Inicialmente se creía que los NMs eran biológicamente inertes, pero con el paso del tiempo se conocieron los potenciales riesgos y toxicidad de su uso. En muchos casos incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), llevando a un estrés oxidativo, el cual desencadena respuestas proinflamatorias. Se sugiere que existe una relación entre las propiedades fisicoquímicas y los efectos biológicos y toxicológicos de las células y tejidos expuestos a los NMs. La adición de diferentes tipos de NPs a varios cultivos celulares primarios o líneas celulares

puede resultar en muerte celular, dependiendo del tamaño de los NMs (De Stefano *et al.*, 2012).

La toxicidad de los NMs se ve modificada dependiendo de su tamaño y forma y solo un pequeño número de estas ha sido probado. Además estudios recientes han mostrado que el tamaño y forma son sólo factores minoritarios en la variación de la toxicidad de las NPs (Weir *et al.*, 2012). Desde un punto de vista toxicológico las características más importantes de los NMs son: tamaño, cristalinidad, superficie química y carga, y estado de agregación (Skocaj *et al.*, 2011).

Los ensayos de toxicidad de ciertos NMs siguen siendo difíciles debido a que los estudios nanotoxicológicos raramente tienen suficiente información sobre las características fisicoquímicas de las NPs probadas (Weir *et al.*, 2012).

Una vez que los NMs entran en sistemas biológicos absorben biomoléculas formando una bio-corona en su superficie (Figura 17), a pesar de que la unión de proteínas a los NMs pueden conferirle una nueva identidad esta interacción también puede afectar a las proteínas que lo cubren. Las proteínas que forman la bio-corona, como la albúmina o proteínas séricas, pueden promover la absorción de los NMs por las células fagocíticas, ya que estas proteínas pueden ser patrones moleculares asociados a nanomateriales (NAMPs) y ser reconocidas de una manera análoga a los patógenos por los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) (Farrera & Fadeel, 2015).

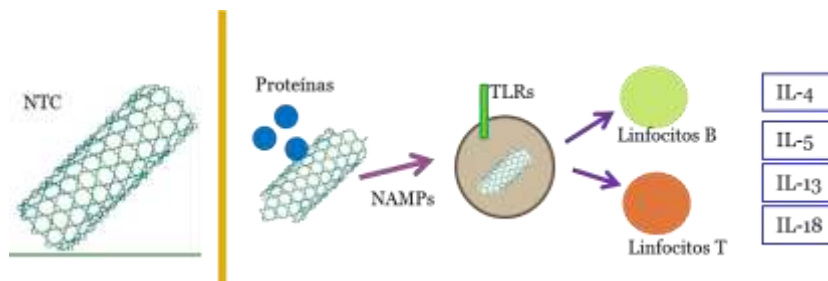


Figura 17. Descripción de la manera en la que los NMs, en este caso nanotubos de carbón, forman una bio-corona y son reconocidos por los patrones asociados a nanomateriales (NAMPs), siendo absorbidos por las células fagocíticas, promoviendo la formación de citocinas proinflamatorias.

5.3. Clasificación de los nanomateriales

Los NM pueden ser agrupados por su origen, ya sea generarse naturalmente como resultado de procesos como la erosión o erupciones volcánicas o también pueden ser producidos de manera accidental como producto de procesos industriales o combustión y por último pueden ser específicamente fabricados o diseñados, estos incluyen compuestos que son intencionalmente manufacturados para usos comerciales o de investigación, también conocidos como nanomateriales manufacturados (NMM), estos últimos son de especial interés ya que su producción se ha incrementado en los últimos años (EPA, 2013).

La Organización Internacional de Normalización publicó un criterio (ISO/TS 27687:2008) que enlista términos y definiciones relacionadas a partículas en el campo de la nanotecnología, tomando una clasificación de NMM basada en su composición química (EPA, 2013).

- I. Nanomateriales de base de carbono. Son moléculas compuestas principalmente de carbono, organizadas en una forma específica como esferas, elipsoides o tubos, entre los que se encuentran grafenos, fullerenos, nanotubos de carbón (NTC) y nanodiamantes (NDS).
- II. Óxidos metálicos. NPs como el TiO_2 , ZnO y dióxido de silicio (SiO_2).
- III. Materiales de base metálica. Son generalmente NPs esféricas compuestas de metales; los más utilizados son Au NPs y Ag NPs.
- IV. Quantum dots: son nanocristales semiconductores, usualmente complejos de metales, con propiedades ópticas y eléctricas únicas, actualmente aplicados en imágenes biomédicas y en la industria electrónica.

- V. Dendrímeros: polímeros nanométricos contruidos a modo de árbol en el que las ramas crecen a partir de otras y así sucesivamente; las terminaciones de cada cadena de ramas pueden diseñarse para ejecutar funciones químicas específicas.

Cabe mencionar que existen otras clasificaciones basadas en la composición, por ejemplo la Agencia de Protección Ambiental ha clasificado a los NMs manufacturados como: NTC, carbono inorgánico, óxidos metálicos y óxidos metaloides, metales y metaloides, quantum dots , NMs orgánicos y nanocomposites (Fisher & Alwood, 2014).

5.3.1. Nanomateriales con base de carbono

Estos NM están compuestos mayormente de carbono, tomando formas de esferas, elipsoides o tubos. Las formas elipsoidales y esféricas son referidas a los fullerenos, mientras que las formas cilíndricas se refieren a los nanotubos (Zhao *et al.*, 2011).

5.3.1.1. Grafeno

El grafeno es una lámina bidimensional formada por átomos de carbono (Figura 4), ha atraído demasiado interés en la última década debido a sus propiedades

térmicas, eléctricas, ópticas y mecánicas, y exhiben alta actividad electrocatalítica (Berghian-Grosan *et al.*, 2014).

El grafeno es considerado el material más fuerte del mundo, más fuerte que un diamante y 200 veces más fuerte que el acero, además es muy flexible y ligero, es un NM impermeable, conductor eléctrico y térmico. El grafeno permite un flujo más rápido de electrones que el silicio, también es un conductor transparente, combinando propiedades eléctricas y ópticas de una manera excepcional (Graphene Flagship, 2015).

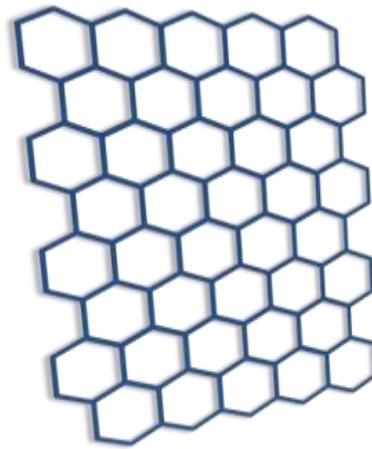


Figura 4. Imagen representativa de una lámina de grafeno.

El término grafeno se ha usado de manera genérica y no de manera precisa por los investigadores que describen muchos de los materiales con base en grafeno que han sintetizado o usado. La solución a este problema de estandarización y nomenclatura es de suma importancia para evitar una comprensión e interpretación errónea entre los investigadores, la industria y las autoridades regulatorias. Se debe tomar en cuenta las características estructurales del grafeno como el grosor y el tamaño lateral como determinantes en las implicaciones en la salud y seguridad, por lo cual se ha propuesto que una nomenclatura debe considerar el número de capas de grafeno, el tamaño lateral, y el radio del carbono-oxígeno (C/O), como propiedades fundamentales (Wick *et al.*, 2014).

5.3.1.1.1. Aplicaciones del grafeno

Los NMs basados en grafeno tienen aplicaciones prometedoras en diversas áreas como: energía, recubrimientos, electrónicos y sensores. El grafeno mejora la tasa de carga y la capacidad de energía en baterías recargables, incrementa la energía de almacenamiento en supercapacitores, el grafeno podrá permitir la creación de electrodos que lleven a un mejor aprovechamiento de las celdas solares, haciéndolas más ligeras, flexibles y más baratas (Berger, 2014).

Se ha demostrado que el grafeno tiene aplicaciones como nanosensores, ya que posee una alta sensibilidad. Gracias a estas características se han creado diferentes tipos de sensores, algunos colocados en los dientes son capaces de detectar bacterias en la boca (Berguer, 2014).

5.3.1.1.2. Efectos tóxicos del grafeno

La interacción de los grafenos ha sido estudiada *in vitro* usando cultivos celulares, como los fibroblastos, células epiteliales, células alveolares basales, osteoblastos fetales, células cervicales, glóbulos rojos y en células neuronales (Jastrzebska *et al.*, 2012).

Se ha sugerido que la exposición al grafeno puede inducir citotoxicidad y enfermedades pulmonares. El óxido de grafeno puede producir citotoxicidad en una manera dosis y tiempo dependiente, y que pueden entrar en el citoplasma y núcleo de células fibroblásticas humanas, disminuyendo la adhesión celular,

induciendo apoptosis desde concentraciones de 20µg/mL después de 24 h (Wang *et al.*, 2011).

Se ha reportado que el grafeno puede internalizarse en los pulmones induciendo inflamación y subsecuentemente granulomas (Jastrzebska *et al.*, 2012).

Después de 4 horas de exposición a concentraciones de 10µg/mL el grafeno puede inducir efectos citotóxicos y daño mitocondrial en células neuronales humanas (Zhang *et al.*, 2010).

5.3.1.2. Fullerenos

Los fullerenos son jaulas esféricas compuestas de 20 a 80 átomos de carbono, la forma más estudiada, sintetizada por primera vez en 1985 es esférica y contiene 60 átomos de carbono, C₆₀ (Figura 4). Dado a sus interesantes propiedades, ha sido utilizado en el campo electrónico, en baterías, celdas solares, para almacenamiento de datos o de gases, o como aditivo en algunos plásticos (Ostiguy *et al.*, 2010).

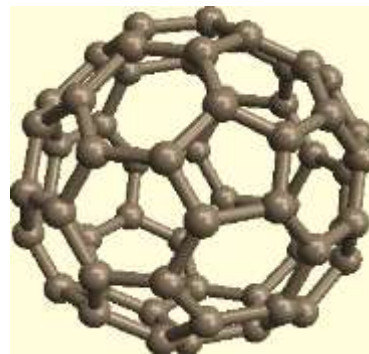


Figura 5. Representación esquemática de un fullereno de C₆₀.

Si los fullerenos se incorporan a NTC se modifica el comportamiento eléctrico de los fullerenos, creando regiones con propiedades semiconductoras variadas,

además de ofrecer aplicaciones potenciales en nanoelectrónicos. Sus propiedades ópticas varían de acuerdo a su longitud de onda, encontrándose aplicaciones en telecomunicaciones. Como los fulerenos son estructuras vacías con dimensiones similares a varias moléculas biológicas activas, pueden ser llenados con diferentes sustancias y encontrar aplicaciones médicas, particularmente en la terapia contra el cáncer o VIH (Ostiguy *et al.*, 2010).

5.3.1.2.1. Aplicaciones

Los fulerenos y sus derivados tienen actividad antiviral, la cual tiene una fuerte implicación en el tratamiento contra la infección de VIH, esta actividad antiviral deriva de diversas propiedades, incluyendo su arquitectura molecular única y su actividad antioxidante (Bakry *et al.*, 2007).

Los fulerenos han sido aplicados satisfactoriamente en imagenología fotoacústica y tratamientos fotodermales de tumores, se cree que esta alternativa ha incrementado su eficacia a la vez que reduce la toxicidad del tratamiento tradicional (Berger, 2010).

5.3.1.2.2. Efectos tóxicos

Los fulerenos son internalizados pro endocitosis, se ha demostrado que estos NMs se acumulan en las mitocondrias y en los lisosomas y promueven la generación de ROS (Dellinger *et al.*, 2010).

5.3.1.3. Nanotubos de carbono

Los NTC son cilindros fabricados a partir de una lámina grafeno enrollado con diámetros que varían desde 0.4-30 nm, son un grupo heterogéneo de NMs de los

cuales su producción industrial y el número de aplicaciones se están incrementando rápidamente (Eatemadi *et al.*, 2014).

Se producen varios tipos de nanotubos de carbón (NTC); los más comunes son: 1) NTC compuestos de un solo cilindro, los cuales son conocidos como nanotubos de carbón de pared simple (SWCNT); 2) NTC compuestos de dos capas conocidos como nanotubos de carbón de pared doble (DWCNT); y NTC compuestos de varias capas conocidos como nanotubos de carbón de paredes múltiples (Figura 6) (Jackson *et al.*, 2013).

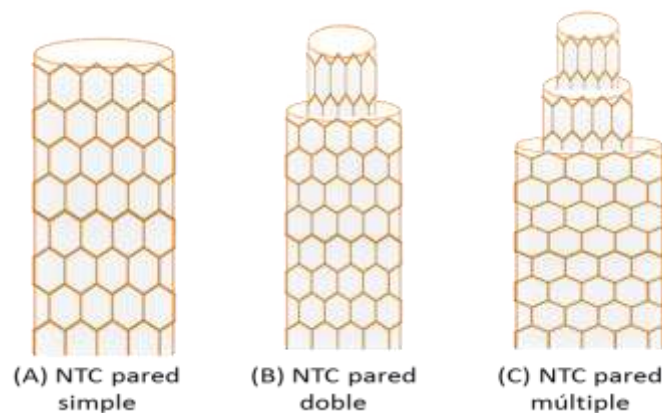


Figura 6. Nanotubos de carbono (NTC). Los NTC son delgados y largos, compuestos de una, dos o múltiples capas de grafeno enrollado. Los nombres derivan del número de cilindros, como los nanotubos de pared simple (A), de pared doble (B) o de paredes múltiples (C).

Los NTC poseen diferentes características fisicoquímicas y propiedades tanto eléctricas, mecánicas, ópticas, térmicas, conductividad, flexibilidad y reactividad química, además son insolubles en medios acuosos, lo cual no es muy útil en aplicaciones biológicas; sin embargo esto puede ser solucionado mediante una funcionalización. La funcionalización de NMs es un proceso que permite la conjugación de varias moléculas en la superficie de las NPs, lo cual le confiere solubilidad (Vardharajula *et al.*, 2012).

5.3.1.3.1. Aplicaciones de los NTC

Los NTC tienen aplicaciones biomédicas, incluyendo la entrega de fármacos, sensores de DNA y proteínas (Zhao *et al.*, 2001).

Las propiedades de los nanotubos son muy interesantes, en los últimos años varios estudios han sugerido potenciales aplicaciones de los NTC y han mostrado innumerables aplicaciones que pueden ser prometedoras cuando estas NPs son combinadas con otros productos. Las aplicaciones de los NTC incluyen diversos campos y disciplinas como medicina, manufactura, construcción, electrónicos y otros más.

Muy a menudo los implantes pueden ser rechazados por el cuerpo, y para evitar este rechazo se han incorporado nanotubos a dichos implantes con proteínas y aminoácidos. Además, los NTC también pueden actuar como sustitutos de huesos y como implantes con calcio (Eatemedi *et al.*, 2014).

5.3.1.3.2. Efectos tóxicos de los NTC

La toxicidad de los CNT es atribuida a sus propiedades fisicoquímicas, incluyendo su estructura, longitud, superficie, grado de agregación, concentración y dosis en células u organismos; la toxicidad puede presentarse por daño a la membrana celular, al DNA, estrés oxidativo, cambios en las actividades mitocondriales, alteración de las rutas metabólicas y síntesis de proteínas. El mecanismo más común de citotoxicidad de los CNT resulta en apoptosis y necrosis (Jackson *et al.*, 2013).

Uno de los primeros estudios sobre toxicidad de los SWCNT en queratinocitos epidermales humanos reveló que la exposición a estas NPs puede elevar el estrés oxidativo, expresar citocinas y reducir la viabilidad celular. Aún purificados los SWCNT muestran toxicidad celular (Siegrist *et al.*, 2014).

Se ha reportado que los MWCNT con largos diámetros son más tóxicos comparados como los que tienen un diámetro menor, así mismo se ha demostrado

que la toxicidad es dosis y tiempo dependiente. La modificación de la superficie reduce la muerte celular (Siegrist *et al.*, 2014).

5.3.1.4. Nanodiamantes

Los NDs son estructuras cristalinas compuestas de carbón (Figura 7) que han atraído un gran interés científico y tecnológico debido a sus propiedades únicas estructurales, químicas, biológicas, mecánicas térmicas y ópticas (Wahab *et al.*, 2015).

Basado en sus tamaños primarios, Shenderova y McGuire clasificaron a los NDs en: partículas nanocristalinas (10 >150 nm), partículas ultrananocristalinas (2-10 nm) y diamonoides (1-2 nm). Las partículas de diamante ultrananocristalinas son de particular interés en aplicaciones biomédicas (Kaur & Badea, 2013).

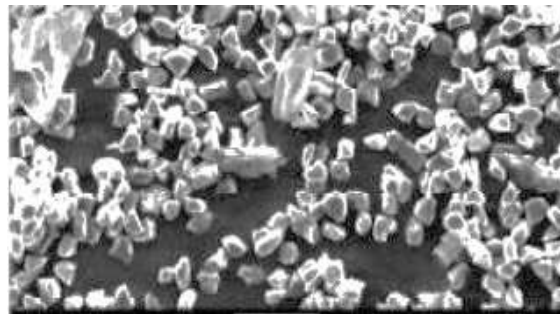


Figura 7. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanodiamantes.

5.3.1.4.1. Aplicaciones de los NDs

Los NDs han emergido como biomarcadores, han sido utilizados como marcadores ópticos, sensores magnéticos, agentes contrastantes en imágenes por resonancia magnética (MRI), monitores de división celular, vectores de entrega de fármacos y material genético, para el rastreo de moléculas sencillas en células. La fluorescencia puede ser mejorada al implantar centros de nitrógeno vacante (NV-) para habilitar las imágenes ópticas (Zurbuchen *et al.*, 2013).

5.3.1.4.2. Efectos tóxicos de los NDs

La biocompatibilidad ha sido demostrada en macrófagos, queratinocitos y células PC-12. Considerando la actividad mitocondrial como un factor clave para la determinación de la viabilidad celular, los NDs en concentraciones mayores a 100µg/mL demostraron no ser citotóxicos después de un periodo de incubación de 24 horas, además los NDS muestran mayor biocompatibilidad que los NTC (Kaur & Badea, 2013).

Numerosos estudios han demostrado la habilidad de los NDs de internalizarse en las células, Faklaris *et al* demostró que los NDs de 46 nm se internalizan en células HeLa por endocitosis mediada por clatrina después de 2 horas de incubación, además NDs de 100 nm se encontraron en células de cáncer y en células madre después de 4 horas de exposición vía macropinocitosis (Kaur & Badea, 2013).

5.3.2. Óxidos metálicos

El uso industrial de las NPs de óxidos metálicos en una amplia variedad de aplicaciones se ha expandido rápidamente en la última década, por lo que se ha incrementado la exposición ambiental en humanos y otras especies, siendo el TiO₂, el ZnO y el SiO₂ los primeros tres lugares de producción mundial (Lai *et al.*, 2008).

5.3.2.1. Dióxido de titanio

El TiO₂ es un material químicamente inerte, semiconductor, que además exhibe actividad fotocatalítica en la presencia de luz (Skocaj *et al.*, 2011).

Las NPs de dióxido de titanio son generalmente sintetizadas con una estructura cristalina como anatasa, rutilo, brookita, de las cuales cada una tiene propiedades únicas (Weir *et al.*, 2012).

En 2005 la producción mundial de NPs de TiO_2 fue estimada a 2000 toneladas; aproximadamente 1300 toneladas fueron usados en productos de cuidado personal, como protectores solares y cosméticos. Para el 2010 la producción incrementó a 5000 toneladas por metro, y se espera que el incremento continúe al menos hasta el 2025 (Shi *et al.*, 2013).

Como ya se ha mencionado las propiedades fisicoquímicas de las NPs dependen de su tamaño, así que a una escala nanométrica los materiales son químicamente más reactivos. Esto puede considerarse como una muy buena propiedad en catálisis, sin embargo estos materiales pueden poseer también propiedades no muy convenientes, como la penetración de las barreras celulares o inducción de estrés oxidativo (Skocaj *et al.*, 2012).

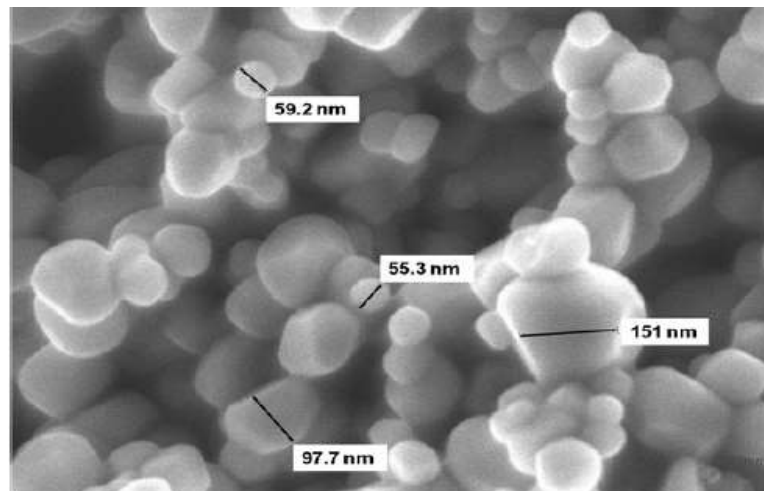


Figura 8. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de TiO_2 (Márquez *et al.*, 2012).

5.3.2.1.1. Aplicaciones del TiO_2

El TiO_2 es ampliamente utilizado para conferir blancura y opacidad a productos como pinturas, plásticos, papel, colorantes para alimentos, pastas dentales y productos de cuidado de la piel (Freyre *et al.*, 2011).

En años recientes las NPs de TiO_2 han sido ampliamente usadas en diversos productos debido a su fuerte actividad catalítica. Este incremento en la actividad

catalítica ha sido atribuido a su tamaño. El TiO_2 es usado principalmente como pigmento debido a su brillo, alto índice de refracción y resistencia a la decoloración. (Shi *et al.*, 2013).

Las NPs de TiO_2 pueden ser utilizadas en reacciones catalíticas, como un semiconductor en la fotocatalisis en el tratamiento de aguas contaminadas con productos industriales tóxicos, también se utiliza en celdas solares nanocristalinas como material fotoactivo (Skocaj *et al.*, 2011).

Las industrias han utilizado este efecto fotocatalítico en muchas otras aplicaciones, especialmente con propósitos de limpieza y antiempañamiento como en limpiadores de ventanas, limpiadores de textiles y antiempañantes para espejos de autos (Shi *et al.*, 2013).

5.3.2.1.2. Efectos tóxicos del TiO_2

Debido a la amplia aplicación del TiO_2 se han estudiado diferentes vías de exposición, incluyendo la dermal, oral y pulmonar. Particularmente, después de la inhalación de NPs de TiO_2 , su internalización se lleva a cabo por endocitosis mediada por clatrina, endocitosis mediada por caveolina y macropinocitosis en células fagocíticas y no fagocíticas (Freyre *et al.*, 2011).

La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC), ha clasificado al TiO_2 como carcinógeno Grupo 2B, posiblemente carcinogénico en humanos (Shi *et al.*, 2013).

Algunos estudios indican que el dióxido de titanio tiende a ser menos tóxico en los organismos, comparado con otros NMs como los nanotubos de carbono y las NPs de ZnO (Weir *et al.*, 2012).

Estudios de toxicidad reportan riesgo a las NPs de TiO_2 debido a la inhalación (inflamación y posiblemente asma), pero el titanio también ha sido relacionado con la enfermedad de Chrons por exposición gastrointestinal (Weir *et al.*, 2012).

La toxicidad de las NPs depende de su tamaño y forma, por ejemplo en las NPs de TiO_2 la forma cristalina de la anatasa es 100 veces más tóxica que el rutilo

(Weir *et al.*, 2012). Sayes *et al.* reportó que las NPs de anatasa generan 6 veces más especies reactivas de oxígeno que el rutilo, después de irradiar con luz UV. Se ha sugerido que el TiO₂ en su forma cristalina anatasa tiene un mayor potencial tóxico que el TiO₂ en su forma cristalina de rutilo. Sin embargo, la anatasa no genera ROS bajo condiciones de luz ambiental (Shi *et al.*, 2013).

Algunos estudios muestran que las NPs de TiO₂ inducen efectos genotóxicos, incluyendo la formación de micronúcleos, que es un indicativo de aberraciones cromosomales en diferentes líneas celulares (Skocaj *et al.*, 2011).

Estudios recientes en animales han señalado la posibilidad de que la inhalación y otras exposiciones del pulmón a las NPs de TiO₂ pueden inducir respuestas inflamatorias en tejidos pulmonares, además de citotoxicidad (Lai *et al.*, 2008).

Los pocos estudios sobre los efectos citotóxicos de las NPs de TiO₂ en tipos celulares humanos se han centrado en las células del pulmón o células epiteliales del mismo. Por ejemplo, Stearns y colaboradores (2011) demostraron que células epiteliales humanas A549 eran capaces de absorber NPs de TiO₂ (50nm) por endocitosis cuando eran expuestas a concentraciones de 40µg/mL. A su vez, Singh y colaboradores (2007) encontraron que esta misma línea celular era capaz de absorber TiO₂ NPs (20-300 nm) y la exposición a estas NPs desencadena la respuesta inflamatoria de las células.

5.3.2.2. Óxido de zinc

El ZnO es uno de los materiales más utilizados en diversos campos industriales como pinturas, tintes, pigmentos, aditivos metalúrgicos, goma, aleaciones, cerámica, fibras químicas, electrónicos, catalizadores, diagnósticos médicos, protectores solares, cosméticos, productos de cuidado personal y aditivos en alimentos, su amplia gama de aplicaciones es atribuida a sus características únicas, incluyendo sus propiedades semiconductoras, eléctricas, ópticas, catalíticas, magnéticas, antimicrobianas y absorción de luz ultra violeta (Taccola *et al.*, 2011)

Las NPs de ZnO son usadas ampliamente por sus propiedades antimicrobianas y se incorporan a suplementos alimenticios como multivitamínicos (Cho *et al.*, 2013).

Mientras más pequeñas son las NPs de ZnO, su reactividad química, transparencia, eficacia filtradora de UV, y propiedades de dispersión aumentan, lo cual es favorable para aplicaciones comerciales (Baek *et al.*, 2012).

Las NPs de ZnO tienen una producción anual de 50 toneladas, clasificándolas en el tercer lugar de producción después del SiO₂ (5550 ton) y el TiO₂ (3000 ton) (Aravantinou *et al.*, 2015).

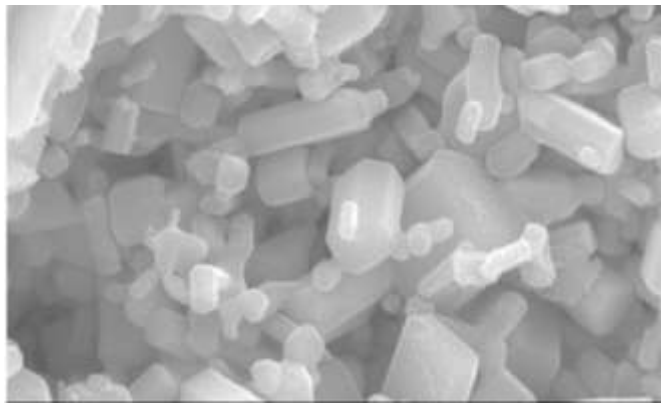


Figura 9. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de ZnO (Cho *et al.*, 2013).

5.3.2.2.1. Aplicaciones del ZnO

Las NPs de ZnO han sido utilizadas en una variedad de productos incluyendo semiconductores, catálisis y pinturas. Además, estas partículas se encuentran en productos como, bloqueadores solares, por sus propiedades de absorción de UV (Choi *et al.*, 2015).

Las NPs de ZnO son usadas como aditivos absorbentes de la luz UV en protectores solares, pasta de dientes y productos de belleza, así como para la producción de celdas solares y LCD, pigmentos, fibras químicas, electrónicas y textiles. Finalmente también han sido utilizadas como agentes antimicrobianos (Aravantinou *et al.*, 2015).

En el campo biotecnológico y de la nanomedicina las NPs de ZnO se utilizan en biosensores, además del desarrollo de NMs para el tratamiento del cáncer y acarreadores de fármacos (Wilhelmi *et al.*, 2013).

5.3.2.2.2. Efectos tóxicos del ZnO

El ZnO es considerado, generalmente, un material con baja toxicidad, debido a que el zinc es un elemento esencial para el cuerpo humano y está comúnmente presente en alimentos o como suplemento alimenticio, así que el zinc no atrae mucha atención durante los estudios de toxicidad de NPs. Sin embargo, debe notarse que las NPs tienden a ser más reactivas que el material en su forma natural (Baek *et al.*, 2012).

Por su amplia aplicación en la industria alimenticia, las NPs de ZnO interaccionan intencional o no intencionalmente con el cuerpo humano por diversas rutas, incluyendo la ingestión oral, inhalación, inyección intravenosa, y penetración dermal (Baek *et al.*, 2012).

Varios estudios sugieren que las NPs de ZnO incrementan la producción de ROS e inducen genotoxicidad en queratinocitos epidérmicos primarios en humanos, además de promover citotoxicidad. SE ha reportado que estas NPs aumentan la producción de citocinas inflamatorias en macrófagos murinos e inducen estrés oxidativo y genotoxicidad en células de hígado humano (Baek *et al.*, 2012).

5.3.2.3. Dióxido de silicio

Las SiO₂ NPs se están involucrando cada vez con mayor frecuencia en nuestra vida diaria, son producidas a escala industrial como aditivos en cosméticos, fármacos y alimentos (Izak-Nau *et al.*, 2013).

Las NPs de SiO₂ están caracterizadas por incrementar las propiedades físicas, mecánicas y ópticas de polímeros orgánicos y confieren resistencia al agrietamiento y envejecimiento causado por el estrés ambiental. Las NPs de SiO₂ se pueden usar en forma de compuestos líquidos en muchas matrices orgánicas en materiales de recubrimiento, confieren propiedades interesantes como resistencia a la abrasión y al rayado, al mismo tiempo que transparencia, además pueden ser combinados con fluoróforos para producir NPs fluorescentes (Petrick *et al.*, 2014).

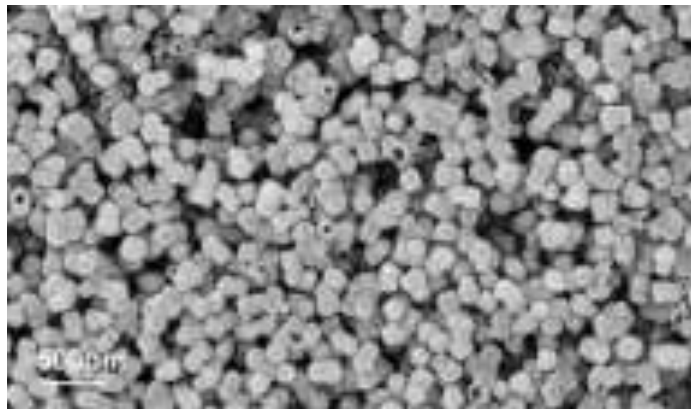


Figura 10. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de SiO₂ (Yan *et al.*, 2013).

5.3.2.3.1. Aplicaciones del SiO₂

Las NPs SiO₂ se han utilizado como aditivos en fármacos, cosméticos, barnices y alimentos. En años recientes el uso de las NPs de SiO₂ se ha extendido a los campos de la biomedicina y biotecnología, como biosensores para ensayos simultáneos de niveles de glucosa, lactato, L- glutamina e hipoxantina en cuerpo estriado de rata, biomarcadores para la identificación celular de leucemia usando microscopia óptica, terapia contra el cáncer, entrega de DNA e inmovilización enzimática (Lin *et al.*, 2006 & Izak-Nau *et al.*, 2013).

Debido a sus especiales propiedades, estos NM se usan principalmente en recubrimientos cuyas características no se pueden conseguir con medios convencionales, o bien únicamente con múltiples capas. Los nanocompuestos de sílice son los preferidos cuando se necesita alta resistencia a la abrasión y al rayado (Berguer *et al.*, 2013).

5.3.2.3.2. Efectos tóxicos del SiO₂

En modelos *in vivo* las NPs de SiO₂ inducen cambios fisicoquímicos y patológicos en ratones y ratas. Estas alteraciones incluyen inflamación pulmonar e incremento de los niveles de citocinas IL-1 β y TNF- α , además de acumularse en el hígado (Berg *et al.*, 2013).

Por otro lado estudios *in vitro* han reportado estrés oxidativo intracelular como mecanismo primario de degradación celular (Berg *et al.*, 2013).

La exposición a estas NPs se ha asociado con el desarrollo de algunas enfermedades autoinmunes como esclerosis sistémica, artritis reumatoide, lupus, enfermedad crónica renal, además estos NMs pueden llevar al desarrollo de cáncer de pulmón por inhalación (Lin *et al.*, 2006).

5.3.3. Nanomateriales con base metálica

5.3.3.1. Nanopartículas de oro

Las NPs de metales nobles y, más específicamente, las Au NPs, exhiben excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas. Además las Au NPs pueden ser producidas en distintos tamaños y formas y pueden ser fácilmente funcionalizadas con ligandos (anticuerpos, polímeros, sondas de diagnósticos, fármacos, material genético). Todo esto hace que las Au NPs despierten un gran

interés en una multitud de campos, pero específicamente en los sectores biomédico y alimenticio (Yang *et al.*, 2012 & Lee *et al.*, 2014).

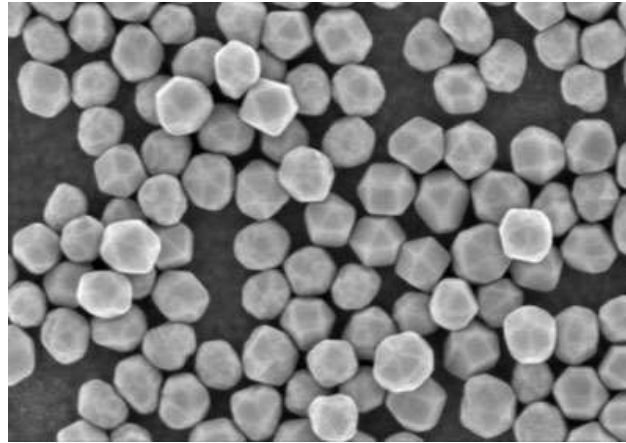


Figura 11. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de oro

5.3.3.1.1. Aplicaciones de las Au NPs

Las Au NPs están hechas de diferentes tamaños, formas y estructuras, estas características influyen en su aplicación. Son útiles en imágenes biomédicas sus aplicaciones incluyen microscopía y otras propiedades ópticas (Li *et al.*, 2015).

Hoy en día, las Au NPs destacan especialmente por sus propiedades fototerapéuticas. En presencia de luz láser las Au NPs se activan y desprenden calor, siendo muy útiles en el tratamiento selectivo de células tumorales. Por ello, en los últimos años se han realizado notables esfuerzos en la investigación y en la aplicación de las Au NPs para la detección temprana, el diagnóstico y el tratamiento del cáncer (Zhang 2013).

Además de su extraordinario potencial como agentes fototerapéuticos, estas NPs pueden utilizarse en la elaboración de partículas nanoestructuradas para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas, así como en terapia génica (vehiculización de plásmidos, DNA y RNA), además presentan una fuerte absorción fotoeléctrica, causada por rayos gamma o rayos X, lo cual puede acelerar rompimiento de cadenas en el DNA, por lo que son muy utilizados en radioterapia (Zhang *et al.*, 2010).

Las Au NPs han sido empleadas satisfactoriamente en la inducción localizada de hipertermia para la destrucción de tumores o radioterapia de cáncer, terapia fotodinámica, imágenes tomográficas computarizadas, como acarreadores de fármacos a tumores, bio-etiquetamiento a partir de la detección de partículas sencillas por microscopía electrónica y microscopía fotodermal (Aravantinou *et al.*, 2015).

Otro importante campo de la aplicación de las Au NPs es la industria de los alimentos, donde se utilizan como parte importante de nanocompuestos poliméricos. Éstos (que además del oro pueden contener otras NPs como plata, óxido de zinc u óxido de aluminio) se utilizan en la fabricación de envases con propiedades antimicrobianas o para incrementar la resistencia a la abrasión de los envases (Aravantinou *et al.*, 2015).

5.3.3.1.2. Efectos tóxicos de las Au Nps

La toxicidad de las Au NPs depende de sus dimensiones físicas, como forma y tamaño, así como la superficie química. Se ha reportado que las Au NPs de 5-15 nm tienen una mayor distribución en los órganos que las NPs de 50-100 nm, además de que el hígado es el órgano más afectado (Zhang *et al.*, 2010).

Estudios *in vivo e in vitro* han demostrado toxicidad celular, aumento de citocinas, apoptosis y necrosis (Jain *et al.*, 2010).

5.3.3.2. Nanopartículas de plata

Las Ag NPs son conocidas por tener un efecto antibacterial, contienen de 20-15,000 átomos de plata, y exhiben inusuales propiedades físicas, químicas y biológicas (Bao *et al.*, 2015).

Comparado con otros metales, la plata muestra mayor toxicidad en microorganismos como: bacterias, hongos y virus, mientras que es menos tóxico en células de mamífero (Bao *et al.*,2015).

Basado en los datos del PEN, las Ag NPs aparecen como uno de los NMs más utilizados en los productos manufacturados más comunes en la actualidad. Más del 25% de los productos incluidos en el inventario del PEN, incluyendo cosméticos, pastas y cepillos de dientes, superficies de cocina, equipo médico, están enlistados como contenedores de Ag NPs (Rina *et al.*, 2015).

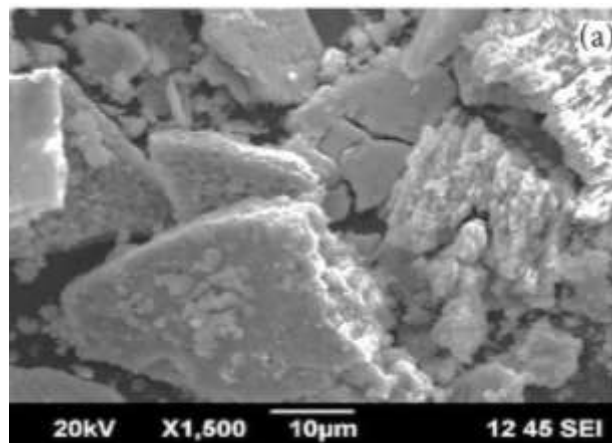


Figura 12. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de nanopartículas de plata

5.3.3.2.1. Aplicaciones de las Ag NPs

Las Ag NPs han sido incorporadas como agentes antimicrobianos/antifúngicos en dispositivos médicos, ingeniería textil, tratamiento de aguas, y han sido integradas a las superficies de los contenedores para almacenar comida (Shannahan *et al.*, 2013).

Debido a sus propiedades antibacterianas y combatientes de olor, las Ag NPs son usadas ampliamente en un gran número de productos comerciales como detergentes o recubrimientos antimicrobianos (Lu *et al.*, 2010).

Estas NPs tienen propiedades ópticas, eléctricas y termales y están siendo utilizadas en diagnósticos moleculares y aparatos fónicos, el uso más común es el

de recubrimientos antimicrobianos en textiles y aparatos médicos que protegen contra bacterias.

5.3.3.2.2. Efectos tóxicos de las Ag NPs

Estudios toxicológicos *In vitro* han demostrado que la exposición a las Ag NPs puede resultar en daño mitocondrial, producción de especies reactivas de oxígeno, arresto celular, apoptosis y citotoxicidad. Estudios en animales han mostrado que las NPs inducen la expresión de genes inflamatorios, producción de citocinas y alteran el estado antioxidante (Shannahan *et al.*, 2013).

Para la mayoría de las células, la internalización por endocitosis de las Ag NPs es dependiente de la dosis, tamaño y energía, además que los organelos más afectados son los endosomas y los lisosomas. Las NPs pueden inducir ROS al momento de exposición al ambiente ácido de los lisosomas (Gilga *et al.*, 2014).

La producción de ROS resulta en daño oxidativo a las proteínas y al DNA, e induce disfunción mitocondrial. Las Ag NPs interactúan con los grupos tiol de las moléculas presentes en el citoplasma, membrana celular y la membrana de la mitocondria, la cual puede desencadenar el incremento de la permeabilidad de la membrana celular y sistemas mitocondriales. El daño a la membrana celular resulta en vaciamiento del contenido citoplasmático y posteriormente necrosis, la ruptura de membranas lisosomales activa la apoptosis. Además se ha reportado que las Ag NPs puede entrar por difusión y translocarse al núcleo a través de poros nucleares lo cual induce la formación de ROS, lo que a su vez desencadena daño en el DNA y anormalidades cromosomales (Wei *et al.*, 2015).

5.3.4. Quantum dots

Los QDs, usualmente conocidos como átomos artificiales, exhiben niveles discretos de energía, son cristales semiconductores nanométricos, compuestos

por elementos de los grupos II al IV o del III al V y son definidos como partículas con dimensiones físicas más pequeñas que el radio de Bohr (Valizadeh *et al.*, 2012).

Una de las propiedades más valiosas de los QDs es su espectro de fluorescencia, el cual proporciona fluorocromos óptimos para las imágenes biomédicas. Además, los QDs fluorescentes pueden ser conjugados con fragmentos bioactivos, como los anticuerpos para llegar a estructuras celulares específicas para el etiquetamiento de células neoplásicas, peroxisomas o receptores de la membrana celular (Hardman, 2005).

Los QDs son por naturaleza hidrofóbicos y no son muy útiles biológicamente, dado a su capa formada de una cubierta metaloide durante su síntesis. Para proporcionarles una compatibilidad biológica a los nuevos QDs se les agrega una segunda cubierta, la cual les confiere solubilidad. Por ejemplo, las cubiertas pueden ser grupos de polietilenos de glicol hidrofílicos (PEG), para brindarles biocompatibilidad (Hardman, 2005).

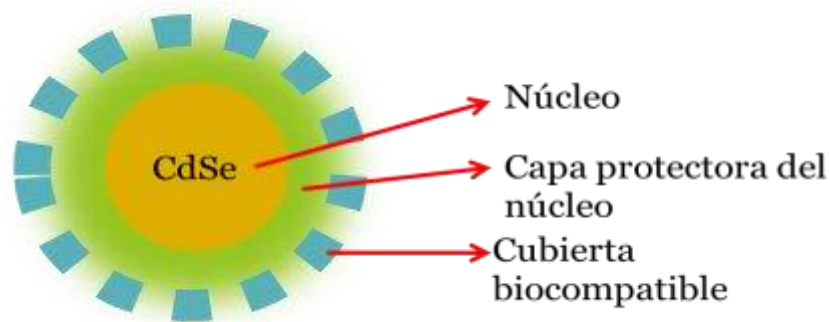


Figura 13. Los QDs consisten de un núcleo, una capa protectora y una capa que la recubre y le confiere biocompatibilidad. La adición de cubiertas biocompatibles o grupos funcionales puede proporcionar una bioactividad deseable en los QDs.

5.3.4.1. Aplicaciones de los QDs

Los QDs muestran alto potencial en aplicaciones biológicas, debido a sus propiedades ópticas, son buenos candidatos para el etiquetamiento celular tanto en células vegetales como en animales (Valizadeh *et al.*, 2012).

Los QDs son excelentes candidatos para biosensores, ya que poseen propiedades físicas y ópticas únicas, además de que tienen la posibilidad de unir varias moléculas en su superficie. Algunos estudios han demostrado que los QDs mejoran los métodos de detección de proteínas y DNA (Drbohlavova *et al.*, 2009).

Estos NMs pueden ser utilizados como marcadores en células cancerosas o en imagenología por sus propiedades de fluorescencia (Drbohlavova *et al.*, 2009).

Los QDs se utilizan mucho como marcadores de células o de paredes celulares en plantas, por ejemplo los CdSe QDs se unen a la celulosa y se alinean en la pared celular (Valizadeh *et al.*, 2012).

5.3.4.2. Efectos tóxicos de los QDs

Los QDs son internalizados por endocitosis y son retenidos en los lisosomas. (Jozenas *et al.*, 2008). La degradación de la cubierta puede conducir al incremento de la toxicidad de los QDs. Además, se ha encontrado que algunos materiales que cubren a los QDs son citotóxicos, como el ácido mercaptoacético (MAA). Las propiedades fisicoquímicas de los QDs son fundamentales para comprender su toxicidad; es la estabilidad de las cubiertas bioactivas de los QDs que pueden ocasionar daños potenciales, además de que se ha encontrado que los QDs se degradan bajo condiciones fotolíticas y oxidativas (Hardman, 2005).

Para revisar la toxicidad de los QDs se debe aclarar que no todos son similares, cada tipo individual de QD posee propiedades fisicoquímicas únicas, las cuáles a su vez determinan el potencial tóxico de éste. Existen muy pocos estudios específicamente diseñados para ensayos de toxicidad (dosis, duración, frecuencia de exposición mecanismos de acción). El tamaño, carga, concentración, cubierta, estabilidad oxidativa, fotolítica y mecánica son factores determinantes en la

toxicidad de los QDs. Por ejemplo, se ha encontrado que en algunos casos los QDs son citotóxicos solo después de una degradación oxidativa o fotolítica de su cubierta.

5.3.5. Dendrimeros

Los dendrimeros son una clase de polimeros sinteticos ramificados que forman macromoleculas esfericas, los cuales pueden ser sintetizados de tamanos especificos y son altamente reproducibles (Barrtett *et al.*, 2009).

Los dendrimeros son de clase unica debido a que son sintetizados paso a paso y como consecuencia su arquitectura molecular puede ser disenada y controlada precisamente. La estructura tipica de una molecula de dendrimero contiene tres partes (Figura 14): 1) Un nucleo central para definir el tamaño y el número de ramificaciones y la dirección, 2) las unidades ramificadas repetitivas para regular la generación, el tamaño molecular y la flexibilidad, 3) los grupos terminales para presentar las propiedades químicas y la posibilidad de interacción (Wu *et al.*, 2013).

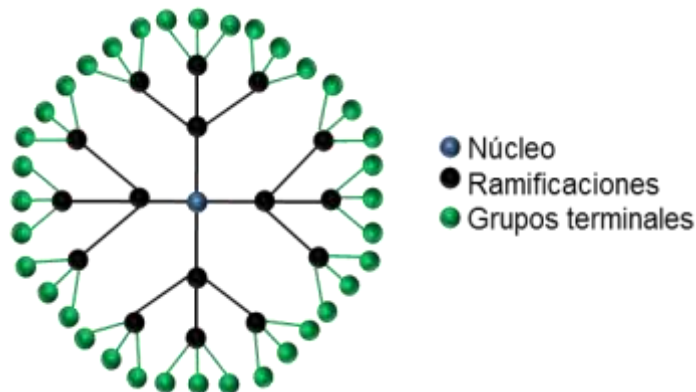


Figura 1. Los dendrimeros constan de tres partes esenciales, un núcleo central, las ramificaciones repetitivas y los grupos terminales, los cuales le confieren biocompatibilidad.

En 1985, Tomalia *et al.*, reportó por primera vez la síntesis y caracterización de los dendrimeros poli (amidoamina) (PAMAM), usando amonio (NH_3) o etilendiamina

(EDA) como el núcleo. Los dendrímeros PANAM son en la actualidad, la familia de dendrímeros más importantes y se han desarrollado varios tipos con diferentes núcleos y grupos terminales (Wu *et al.*, 2013).

5.3.5.1. Aplicaciones de los dendrímeros

Los dendrímeros son muy estudiados como vectores de entrega de DNA y siRNA en aplicaciones de transferencia o silenciamiento de genes, debido a sus propiedades únicas basadas en sus bien definidas y multivalentes estructuras (Wu *et al.*, 2013).

Los dendrímeros tienen un papel importante en el desarrollo del campo médico y la nanotecnología. Los dendrímeros se han desarrollado para su uso como agentes de contraste en las imágenes médicas. Los grupos exteriores amina primarios pueden ser funcionalizados, permitiendo la fijación de agentes contrastantes para las tomografías computarizadas, medicina nuclear, imágenes ópticas e imágenes en resonancias magnéticas (Barrett *et al.*, 2009).

5.3.5.2. Efectos tóxicos de los dendrímeros

Conocer la toxicidad de los dendrímeros es de suma importancia ya que estos son utilizados principalmente en aplicaciones biomédicas (Sebestik *et al.*, 2012).

Los dendrímeros son absorbidos por endocitosis, la toxicidad de los dendrímeros es atribuida a las interacciones de la superficie catiónica de los dendrímeros con las membranas cargadas negativamente en las membranas de sistemas in vivo, la interacción de estos resulta en permeabilidad y ruptura de la membrana (Jain *et al.*, 2010).

Cabe mencionar que los dendrímeros cargados negativamente se repelen con las membranas biológicas y no existe hasta el momento un reporte de citotoxicidad (Sebestik *et al.*, 2012).

6. Conclusiones

Es conveniente generar y estandarizar una clasificación específica de los NMs, en especial basándose en su composición química, ya que no existe una clasificación definitiva para los NMM. Una forma de clasificarlos, podría ser la utilizada en este

trabajo, basada en la sugerida por la ISO, con la cual se toma en cuenta la composición química y esto puede ser útil ya que se podrían predecir la toxicidad o propiedades que pueda tener un NM en relación con el grupo en el que se encuentren.

Las aplicaciones de la NT así como el desarrollo de nuevos NMs irá en aumento con el paso de los años, una de las áreas que más impacto y desarrollo tendrá con el uso de los NMs será la biomedicina, lo cual permitirá la creación de nuevos tratamientos y la capacidad de diagnosticar de manera temprana algunas enfermedades como el cáncer. Por lo que es fundamental tomar medidas para lograr la creación de NMs que presenten menor riesgo de toxicidad pero conservando las propiedades y mejoramiento que confiere a los materiales.

Es importante destacar que cada NM es diferente, tanto en propiedades morfológicas, como fisicoquímicas, por lo tanto es de esperarse que los efectos tóxicos que pueden generar también serán individuales, por lo que es indispensable conocer las características y capacidad de interacción de las NMs con los sistemas biológicos en especial aquellos que afectan directamente a los seres humanos, como aquellos utilizados en biomedicina o en alimentos.

Es muy importante realizar más estudios de toxicidad que se encuentren mejor controlados, es decir, tomando en cuenta las propiedades únicas de cada NM para conocer a detalle los efectos de los NMs en los sistemas biológicos y los resultados de su exposición y su posible acumulación

7. Perspectivas

Es necesario estudiar más a fondo la funcionalización de los NMs ya que es posible que el uso de las NPs pueda seguir como hasta la fecha, pero dándoles mayor seguridad y menor capacidad de generar efectos tóxicos. Por lo que estas

cubiertas son la mejor opción, hasta el momento, para lograr una interacción menos tóxica de los NMs con los sistemas biológicos, permitiendo el uso de estos directamente en humanos, como por ejemplo en la biomedicina

Se debe llegar a una conexión entre las propiedades de los NMs con su toxicidad, esto podría permitir la predicción de los peligros de los NMs y podría también facilitar el diseño de éstos para mantener sus novedosas propiedades, disminuyendo su nivel de toxicidad.

8. Referencias

Aravantinou, A. F. Tsarpali, V. Dailianis, S. Manariotis, I. D. Effect of cultivation media on the toxicity of ZNO nanoparticles to freshwater and marine microalgae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015; 114: 10-116.

Baek, M. Chung, H. E. Yu, J. Lee, J. A. Kim, T. H. Oh, J. M. Lee, W. J. Paek, S. M. Lee, J. K. Jeong, J. Choy, J. H. Choi, S. J. Pharmacokinetics, tissue distribution, and excretion of zinc oxide nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 2012; 7: 308-3097.

Bakry, R. Vallant, R. M. Najam-ul-Haq, M. Rainer, M. Szabo, Z. Huck, C. W. Bonn, G. K. Medicinal applications of fullerenes. *International Journal of Nanomedicine*, 2007; 2: 639-649.

Bao, F. Mitragotri, S. Tong, S. Multifunctional Nanoparticles for Drug Delivery and Molecular Imaging. *The Annual Review of Biomedical Engineering*, 2013; 15: 253-282.

Bao, H. Yu, X. Xu, C. Li, X. Li, Z. Wei, D. Liu, Y. New Toxic Mechanism of Silver Nanoparticles: Promoting Apoptosis and Inhibiting Proliferation. *PLoS ONE* 10(3). 2015; e0122535: 1-10.

Barrett, T. Ravizzini, G. Choyke, P. L. Kobayashi, H. Dendrimers Application Related to Bioimaging. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 2009; 28: 12-22.

Basavaraj, K. H. Nanotechnology in Medicine and Relevance to Dermatology: Present Concepts. *Indian Journal of Dermatology*. Medknow Publications, 2012; 57: 169-174.

Bedodes, C. M., Case, C. P. Briscoe, W. H. Understanding nanoparticle cellular entry: A physicochemical perspective. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2015; 218 :48-68.

Berg, M. J. Romoser, A. A. Figueroa, D. E. West, C. S. Sayes, C. M. Comparative cytological responses of lung epithelial and pleural mesothelial cells following in vitro exposure to nanoscale SiO₂. *Toxicology in Vitro*, 2013; 27: 24-33.

Berguian-Grosan, C. Radu, B. A. Coros, M. Pogacean, F. Pruneanu, St. Electrochemical and spectroscopic studies of ssDNA damage induced by hydrogen peroxide using graphene based nanomaterials. 2014; 138: 209-217.

Blanco, B. D. Pérez, T. A. Acuña, P. A. Carreño, C. J. Nanomedicina: aspectos generales de un futuro prometedor. *Revista Habanera de Ciencias médicas*, 2011; 10: 410-421.

Cho, W. Kang, B. Lee, J. K. Jeong, J. Che, J. Seok, S. H. Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration. *Particle and Fibre Toxicology*, 2013; 10: 1-9.

Choi, J. Heyjin, K. Pilje, K. Eunhye, J. Hyun-Mi, K. Moo-Yeol, L. Seon, M. J. Kwangsik, P. Toxicity of Zinc Oxide Nanoparticles in Rats Treated by two different Routes: Single Intravenous Injection And Single Oral Administration. *Journal of Toxicology and Environment Health*, 2015; 78: 226-243.

Dang, Y. Zhang Y., Roco, M. C. Trends in worldwide nanotechnology patent applications: 1991 to 2008. *Journal of Nanoparticle Research*, 2010; 12: 687-706.

De Stefano, D. Carnuccio, R. Chiara, M. M. Nanomaterials Toxicity and cell death modalities. *Journal of Drug Delivery*, 2012; 1-14.

Dellinger, A. Zhou, Z. Norton, S. K. Lenk, R. Conrad, D. Kepley, C. L. Uptake and distribution of fullerenes in human mast cells. *Nanomedicine*, 2010; 6: 575-582.

Drbohlavova, J. Vojtech, A. Kizek, R. Hubalek, J. Quantum dots- Characterization, preparation and usage in biological systems. *International Journal of Molecular Sciences*. 2009; 10: 656-673.

Eatemadi, A. Daraee, H. Karimkhanloo, H. H. Kouhi, M. Zarghami, N. Akbarzadeanifteh, A. Abasi, M. Hanifehpour, Y. Joo, S. W. Carbon Nanotubes: properties, synthesis, purification, and medical applications. *Nanoscale Research Letters*, 2014; 9: 1-13.

Farrera, C. Fadeel, B. It takes two tango: Understanding the interactions between engineered nanomaterials and the immune system. *Eur, J. Pharm. Biopharm.* 2015. 1-8.

Freyre, F. V. Delgado, B. N. L. Gutiérrez, C. E. B. Calderón, T. C. M. Cabellos, A. T. Sánchez, P. Y. Pinzón, E. Torres, I. Molina, J. E. Zazueta, C. Peraza, C. J. García, C. C. M. Chirino, Y. I. Titanium dioxide nanoparticles impair lung mitochondrial function. *Toxicology letters*. 2011; 202: 111-119.

Gluga, A. R. Skoglund, S. Wallinder, I. O. Fadeel, B. Karlsson, H. L. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. *Particle and Fibre Toxicology*, 2014; 11: 2-17.

Hardman, R. A Toxicologic Review of Quantum Dots: Toxicity Depends on Physicochemical and Environmental Factors. *Environ Health Perspect*, 2005; 114: 165-172.

Jackson, P. Raun, J. N. Baun, A. Birkedal, R. Kühnel, D. Alstrup, J. K. Vogel, U. Wallin, H. Bioaccumulation and ecotoxicity of carbon nanotubes. *Chemistry Central Journal*, 2013; 7: 1-21.

Jain, K. Kesharwani P, Gupta U. Jain N. K. Dendrimer toxicity: Let's meet the challenge. *Int J Pharm*, 2010; 94: 122-142.

Jain, S. Hirst, D. G. O'Sullivan, J. M. Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *The British Journal of Radiology*. 2012; 85: 101-113.

Jstrzebska, A. M. Kurtycz P. Olszyna, A. R. Recent advances in graphene family materials toxicity investigations. *J Nanopart Res*, 2012; 14: 203-220.

Kaur, R. Badea, I. Nanodiamonds as novel nanomaterials for biomedical applications: drug delivery and imaging systems. *International Journal of Nanomedicine*, 2013; 8: 203-220.

Kisin, E. R., Murray, A. R., Keane, M. J., Shi, X. C., Castranova, V., Wallace, W. E. Kagan, V. E. Shvedova, A. A. Single-walled carbon nanotubes: geno- and cytotoxic effects in lung fibroblast V79 cells. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 2007; 70: 2071- 2079.

Lar, J. C. K. Lai, M. B. Jandhyam, S. Dukhande, V. V. Bushan, A. Daniels, C. K. Leung, S. W. Exposure to titanium dioxide and other metallic oxide nanoparticles induces cytotoxicity on human neural cells and fibroblasts. *International Journal of Nanomedicine*, 2008; 3: 533-555.

Lee, J. Chatterjee, D.K. Lee, M. H. Krishnan, S. Gold nanoparticles in breast cancer treatment: Promise and potential pitfalls. *Cancer Lett.* 347(1): 46-53. 2014.

Li, J. J. Kawazoe, N. Che, G. Gold nanoparticles with different charge and moiety induce differential cell response on mesenchymal stem cell osteogenesis. *Biomaterials*, 2015; 54: 1-11.

Lin, W. Huang, Y. Zhou, X. Ma, Y. In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2006; 217: 252-259.

Lin, W. Huang, Y. Zhou, X. Ma, Y. In vitro toxicity of silica nanoparticles in human lung cancer cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2006; 217: 252-259.

Lu, W. Senapati, D. Wang, S. Tovmachenko, O. Kumar, S. A. Yu, H. Chandra, R. P. Effect of Surface Coating on the Toxicity of Silver Nanomaterials on Human Skin Keratinocytes. *Chem Phys Lett.* 2010; 487: 1-3.

Magaye, R. Zhao, J. Bowman, L. Ding, M. Genotoxicity and carcinogenicity of cobalt-, nickel- and copper-based nanoparticles. *Experimental and therapeutic medicine*, 2012; 4: 551-561.

Ostiguy, C. Roberge, B. Engineered nanoparticles. Current knowledge about OHS Risk and prevention measures. 2010.

Petrinca, A. R. Pietroiusti, A. Argentin, G. Cicchetti, R. Donia, D. Gabrieli, R. Magrini, A. Diviza, M. The birth of nanotechnologies: new nanomaterials, potential uses, toxic effects and implications for public health, 2009; 65: 169-188.

Quintili, M. Nanociencia y nanotecnología, un mundo pequeño, 2012; 42: 125-155.

Rinna, A. Magdolenova, Z. Hudecova, A. Kruszewski, M. Refsnes, M. Dusinska, M. Effect of silver nanoparticles on mitogen-activated protein kinases activation: role of reactive oxygen species and implication in DNA damage. *Mutagenesis*, 2015; 30: 59-66.

Schwirn, K. Tietjen, L. Beer, I. Why are nanomaterials different and how can they be appropriately regulated under REACH? *Environmental Sciences Europe*, 2014; 26: 1-9.

Sebestik, J. Reinis, M. Jezek, J. Biocompatibility and toxicity of dendrimers. *Adv Drug Deliver Rev*, 2012.111-114.

Shannahan, J. H. Lai, X. Ke, P. C. Podila, R. Brown, J. M. Silver Nanoparticle Protein Corona Composition in Cell Culture Media, 2013; 8: 1-10.

Shi, H. Magaye, R. Castranova, V. Zhao, J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data, 2013; 10: 1-33.

Siegrist, K. J. Reynolds, S. H. Kashon, M. L. Lowry, D. T. Dong, C. Hubbs, A. F. Young, S. Salisbury, J. L. Porter, D. W. Benkovic, S. . McCawley M. Keane, M. J. Mastovich, J. T. Bunker, K. L. Cena, L. G. Sparrow, M. C. Sturgeon, J. L. Dinu, C. Z. Sargent, L. M. Genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes at occupationally relevant doses. *Particle and fibre Toxicology*, 2014; 11: 1-15.

Skocaj, M. Filipic, M. Petkovic, J. Novak, S. Titanium dioxide in our everyday life; is it safe?. *Radiol Oncol*, 2011; 45: 227-247.

Srinivas, P. T. Martin, P. Ross, S. A. Nanotechnology Research: Applications in Nutritional Sciences. *The Journal of Nutrition. American Society for Nutrition*, 2010; 140: 119-124.

Taccola, L. Raffa, V. Riggio, C. Vittorio, O. Iorio, M. C. Vanacore, R. Pietrabissa, A. Cuschieri, A. *International Journal of Nanomedicine*, 2011; 1: 1129-1140.

Valizadeh, A. Mikaeili, H. Samiel, M. Farkhni, S. M. Zarghami, N. Kouhi, M. Akbarzadeh, A. Davaran, S. Quantum dots: synthesis, bioapplications, and toxicity. *Nanoscale Research Letters*. 2012. 7: 1-14.

Vardharajula, S. Ali, S. Z. Eroglu, E. Vig, K. Dennis, V. A. Singh, S. R. Funcionalized carbón nanotubes: biomedical applications. *International Journal of Nanomedicine*, 2012; 7: 5361-5374.

Vardharajula, S. Ali, S. Z. Tiwari, P. M. Eroglu, E. Vig, K. Denis, V. A. Singh, S. R. Functionalized carbon nanotubes: biomedical applications. *International Journal of Nanomedicine*, 2012; 7: 5361-5374.

Wahab, Z. Foley, E.A. Pellechia, P. J. Anneaux, B. L. Ploehn, H. J. Surface functionalization of nanodiamond with phenylphosphonate. *Journal of Interface Science*. 2015; 450: 301-309.

Wei, L. Lu, J. Xu, H. Patel, A. Chen, Z. Chen, G. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discovery Today*, 2015; 00: 1-7.

Weir, A. Westerhoff, P. Fabricius, L. Von Goetz, N. Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products. *Environ Sci Techol*, 2012; 45: 2242-2250.

Wick, P. Louw-Gaume, A. E. Kucki, M. Krug, H. F. Kostarelos, K. Fadeel, B. Dawson, K. A. Salvati, A. Vázquez, E. Ballerini, L. Tretiach, M. Benfenatti, F. Flahaut, E. Gauthier, L. Prato, M. Bianco, A. Classification Framework for Graphene-Based Materials. *Angew. Chem. Int. Ed*. 2014. 7714-7718.

Wilhelmi, V. Fischer, U. Weighardt, H. Schulze-Osthoff, K. Nickel, C. Stahlmecke, B. Kuhlbusch, T. Scherbart, A. Esser, C. Schins, R. Alb, C. rencht Zinc Oxide Nanoparticles Induce Necrosis and Apoptosis in Macrophages in p47phox- and Nrf2- Independent Manner, 2013; 8.

Wu, J. Huang, W. He, Z. Dendrimers as Carriers for siRNA Delivery and Gene Silencing: A Review. *The scientific World Journal*. Article ID 630654, 2013: 1-16.

Yan, N. Wang, F. Chen, Q. Hollow Porous SiO₂ Nanocubes Towards High-performance Anodes for Lithium-ion Batteries. *Scientific Reports*, 2013; 3: 1-19.

Yang, Y. Burkhard, P. Encapsulation of gold nanoparticles into self-assembling protein nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology*, 2012; 10: 1-11.

Zang, X. Gold Nanoparticles: Recent Advances in the Biomedical Applications.

Zhang, X. D. Wu, H. Y. Wu, D. Chang, Y. Y. Zhai, Z. Meng, A. Zhang, L. Fan, F. Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *International Journal of Nanomedicine*, 2010; 5: 771-71.

Zhang, X. Gold nanoparticles: Recent Advances in the Biomedical Applications. *Cell Biochem Biophys*, 2013: 1-5.

Zhang, X. Wu, H. Wu, D. Wang, Y. Chang, J. Zhai, Z. Meng, A. Liu, P. Zhang, L. Fan, F. Toxicologic effects of gold nanoparticles in vivo by different administration routes. *International Journal of Nanomedicine*. 2010; 5: 771-781.

Zhao, J. Castranova, V. Toxicology of nanomaterials used in nanomedicine. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 2011; 14: 593-632.

Zurbuchen, M. A. Lake, M. P. Kohan, S. A. Leung, B. Bouchard, L. S. Subcellular Multimodal Optical Electron Imaging. *Scientific reports*, 2013: 1-5.

Nanowerk

Berguer, M. 2012<http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=24767.php>

Berguer, M. 2014<http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=34184.php>

http://www.epa.gov/risk_assessment/expobox/chemicalclass/nano-type.htm