



Universidad nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Iztacala

BIODISTRIBUCIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO RETOS Y
OPORTUNIDADES

T E S I N A

Para obtener título de

BIÓLOGO

PRESENTA:

SERGIO FERNÁNDEZ CERVANTES

TUTOR:

Dr. José Andrés de la Cruz Rodríguez Galván



Los Reyes iztacala, Tlalnepantla de Baz, Estado de México

2022



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.

BIODISTRIBUCIÓN DE NANOTUBOS DE CARBONO RETOS Y OPORTUNIDADES

ÍNDICE

1. Introducción.....	4
2. Objetivos.....	12
3. Hipótesis.....	13
4. Metodología.....	13
5. Resultados y discusión.....	15
5.1 Biodistribución de CNTs.....	48
5.1.1 Principales hallazgos sobre biodistribución de CNTs.....	50
5.1.1.1 Nanotubos de carbono prístinos y modificados vía no covalente	51
5.1.1.2 Nanotubos de carbono modificados vía covalente ...	55
5.2 Efecto citotóxico de los CNTs en Modelos <i>In vivo</i>	68
5.2.1 Principales hallazgos sobre la toxicidad de CNTs.....	69
5.2.1.1 Efecto del diámetro y la longitud de los CNTs.....	71
5.2.1.2 Efecto de la agregación de los CNT.....	73
5.2.1.3 Efecto de la funcionalización de los CNT.....	75
5.2.1.4 Vías de exposición.....	78
6. Retos y oportunidades.....	81
7. Conclusiones.....	85
8. Referencias.....	86
9. Apéndice.....	102

AGRADECIMIENTOS:

A mi familia, maestros y amigos que me guiaron con sus enseñanzas y su ejemplo para forjar mi propio camino.

Agradezco especialmente a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala que me dió la oportunidad de formar parte de su comunidad.

Al Dr. José Andrés de la Cruz Rodríguez Galván por ser mi tutor de Licenciatura.

A mi madre Marisol, mi padre Sergio y hermana Samara por estar siempre alentándome a seguir superándome y creciendo bajo su amor incondicional.

Con enorme gratitud para mis compañeros, amigos y profesores que formaron parte de mi vida académica en una época muy difícil donde enfrentamos circunstancias adversas por consecuencia de una pandemia que sacudió el mundo, y que aun así, logramos superarlo como una comunidad.

Agradezco a mi comité asesor:

Dr. Ignacio Peñalosa Castro

Dr. Vladimir A. Basiuk

Dr. Ricardo Mejía Zepeda

Biól. Erick José López Arredondo

1. Introducción

El prefijo "nano", deriva del griego "nanos" que significa diminuto, enano o muy pequeño. Este prefijo se utiliza en el nanómetro (nm), que es una unidad de longitud del sistema internacional de unidades (SI) para indicar un factor de 10^{-9} m (es decir, la mil millonésima parte de un metro) (Calle-Kantuta, 2010). El uso del prefijo "nano" es cada vez más común en ciencia y en la sociedad. Esto se debe a que en la última década se han desarrollado un gran número de tecnologías que se encuentran actualmente disponibles con componentes en la escala nano. Toda esta idea "reduccionista" surgió del físico Richard Feynman (premio Nobel de física 1965), quien durante una conferencia explicó las grandes ventajas que tienen las células de producir y crear sustancias a una escala muy pequeña, por lo cual planteó la pregunta: "¿Qué pasaría si pudiéramos ordenar los átomos uno a uno como quisiéramos?". (Mejías-Sánchez et al., 2009; Buzea et al., 2007).

Entre los sueños de Feynman se encontraba el poder manipular los átomos de forma individual y crear sistemas a medida en la escala nanométrica. Las ideas de Feynman impactaron en el desarrollo del área denominada nanotecnología, a la cual, se le puede definir como una disciplina centrada en el estudio, diseño, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales, a través del control de la materia a nanoescala y la explotación de fenómenos y propiedades de la materia a esa misma escala (Calle-Kantuta, 2010).

Aunque fue relativamente hace poco cuando surgió la idea de manipular la materia y fabricar sistemas en la escala nanométrica, se sabe que en la naturaleza ya existían sistemas con tamaños nanométricos. Los ejemplos más representativos son las proteínas, lípidos o ácidos nucleicos, entre otros. De igual forma se sabe que pueden aparecer en procesos geoquímicos, un ejemplo de esto es el alofán, el cual es una nanopartícula natural presente en suelos de origen volcánico como los andisoles o suelos negros, que se encuentran distribuidos alrededor de todo el mundo en países con actividad volcánica (Silva-Yumi et al., 2021; Nishikiori y et al., 2012).

Independientemente de su origen, ya sea biológico, geológico o de origen incidental, a las partículas con dimensiones en la escala nanométrica se les denomina como

nanopartículas (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015).

Las nanopartículas son entonces partículas que tienen al menos una de sus dimensiones inferior a 100 nanómetros; sin embargo, algunos autores por cuestiones prácticas las consideran hasta los 1000 nm (Buzea et al., 2007)

Dentro de estas nanopartículas se encuentran los nanomateriales, los cuales, al igual que las nanopartículas tienen al menos una de sus dimensiones en la escala nanométrica, aproximadamente de 0.1 a 100 nanómetros (nm) (Figura 1). La gran diferencia entre estos dos radica en que a los nanomateriales, sus dimensiones nanométricas les confieren propiedades superiores a las del bulto (partículas con dimensiones superiores a la escala nanométrica) (Kreyling et al., 2010; Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015). Estas propiedades superiores pueden ser químicas, físicas, eléctricas o mecánicas, las cuales, son aprovechadas para crear materiales, aparatos y sistemas novedosos y poco costosos con propiedades únicas.

Las propiedades de los nanomateriales se deben como se mencionó a sus dimensiones en la nanoescala, también a su gran área de superficie con respecto a su volumen y efectos cuánticos, por ejemplo el confinamiento cuántico de los electrones, que aparecen a esa pequeña escala pero que no se observan a gran escala. (Buzea et al., 2007; SCENIHR, 2006; Drexler y Minsky, 1986; Roduner, 2006).

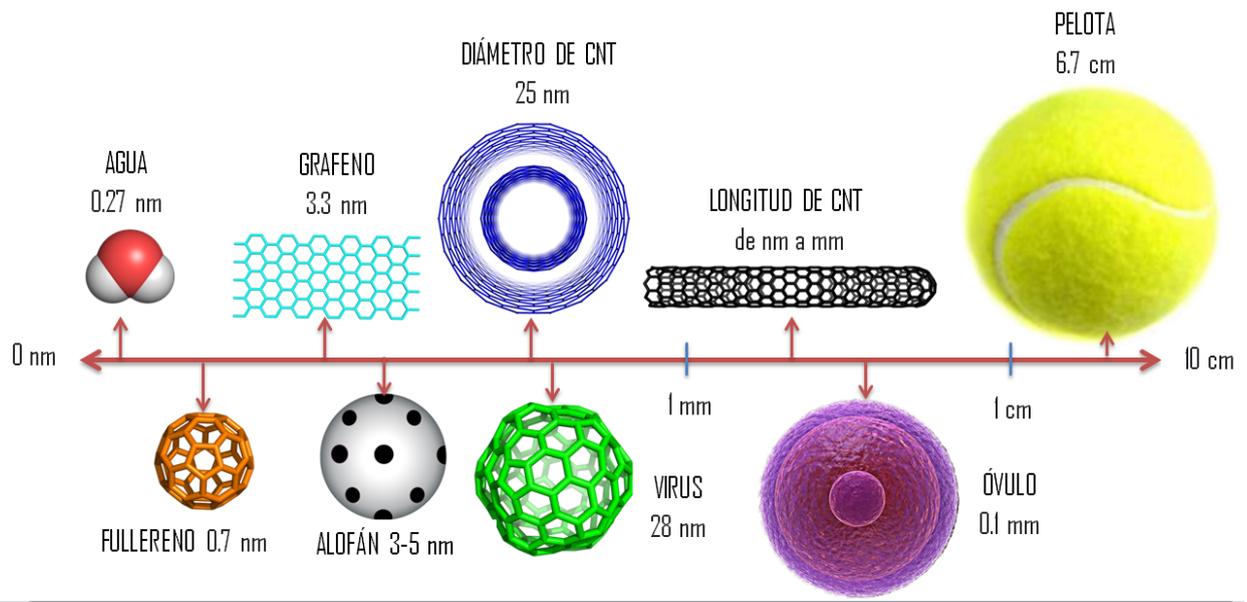


Figura 1. Tamaño de las nanopartículas y nanomateriales.

Actualmente las aplicaciones de los nanomateriales y las nuevas nanotecnologías son tan diversas y complejas que los expertos prefieren referirse a ellas como “nanotecnologías”. Por ejemplo, en la exploración espacial; tecnologías de la comunicación e informática; sector energético; ingeniería automotriz; medioambiente; industria textil; construcción; arquitectura y biomedicina, son algunas de las áreas que se espera sean beneficiadas de las nanotecnologías (Záyago-Lau y Foladori, 2010; Calle-Kantuta, 2010; Pérez-Zamorano y Torres-González, 2017).

Los beneficios previstos de las nanotecnologías para hoy en día o en un futuro continúan siendo muy prometedores. Tan sólo la Fundación Nacional de Ciencia de Estados Unidos (NSF) estimó que el mercado de las nanotecnologías ascendió a 700.000 millones de dólares en 2008 y más de un billón de dólares en 2015. (SCENIHR, 2006; Castillo-López, 2016).

Aunado a esto, un inventario informático llamado el Nanotechnology Consumer Product Inventory (NCPI), fue creado en el 2005 con el propósito de registrar productos de consumo con nanomateriales. Para 2015 se registró un total de 1,814 productos, de los cuales, el 47% (846 productos) anuncian la composición de al menos un componente de nanomaterial. Por desgracia, el otro 49% de los productos incluidos en el NCPI (891 productos) no presentan la composición, ni una descripción

detallada del nanomaterial utilizado. Existen 39 tipos diferentes de componentes de nanomateriales enumerados en el NCPI, sin embargo, para mejorar su comprensión se han agrupado en cinco categorías: metales, carbonosos, silicio, no anunciado y otros (Figura 2) (Vance et al., 2015).

De los 846 productos que indican contener nanomateriales, los fabricantes mencionan que tienen al menos un nanomaterial, en estos productos los nanomateriales basados en metales son los más empleados y representan casi el 78% de los productos (660 productos). Los metales que se pueden encontrar en estos productos pueden ser nanopartículas de plata u oro, dióxido de titanio, óxido de zinc. De igual forma, los productos con nanomateriales carbonosos representan aproximadamente un 10% (89 productos). Siendo las nanopartículas de carbono, nanotubos de carbono, fullerenos y grafenos los nanomateriales carbonosos más frecuentemente usados (vea figura 2).

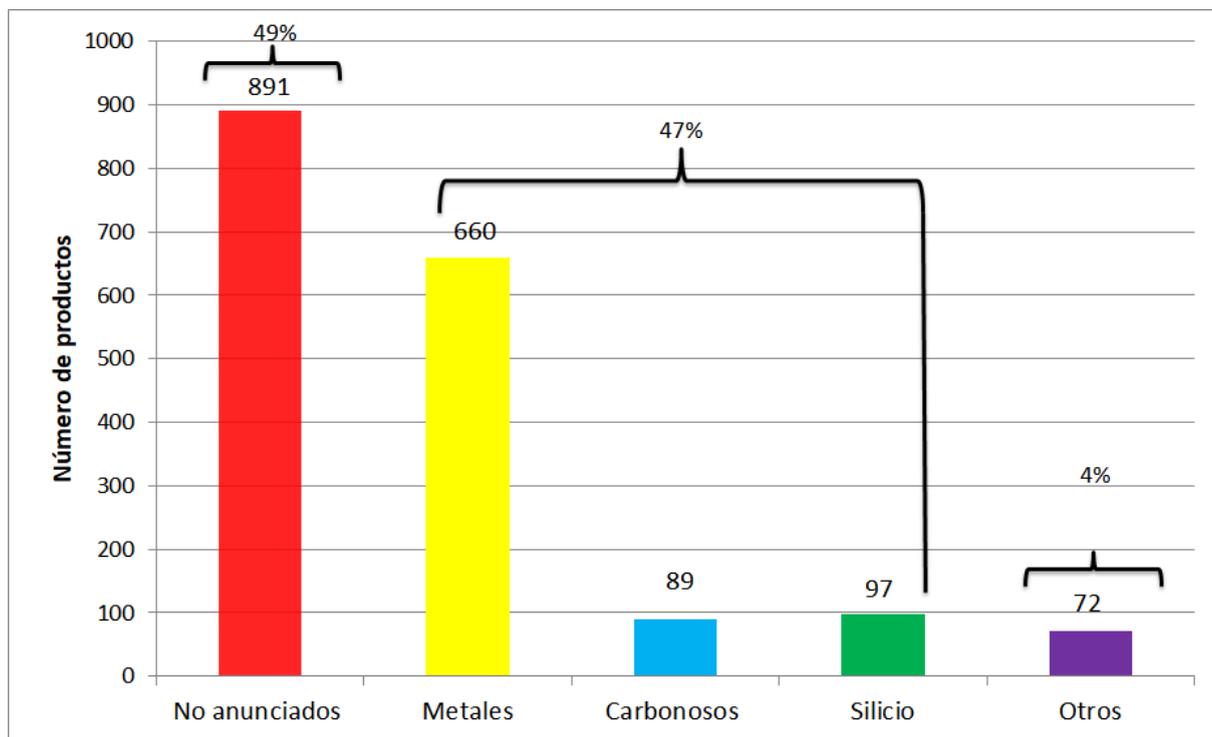


Figura 2 . Número de productos a base de nanomateriales enumerados en el CPI (gráfica modificada de Vance et al., 2015)

Actualmente, existe un crecimiento de los productos a base de nanomateriales carbonosos en el inventario CPI, lo cual, indica una transición exitosa de la nanotecnología desde la mesa de laboratorio hasta el mercado comercial (Vance et al., 2015).

Los beneficios de esta transición exitosa han impactado de manera profunda en la sociedad, ciencia y economía (SCENIHR, 2006; Castillo-López, 2016; Vance et al., 2015). Sin embargo, aún hay escepticismo y se considera particularmente que los productos obtenidos a partir de nanomateriales carbonosos podrían ser la próxima burbuja que llegue a tener mucha inversión, para luego explotar por el exceso de expectativas (Lizcano-Alvarez, 2002).

Adentrándonos en los nanomateriales carbonosos, los nanotubos de carbono (CNTs, por sus siglas en inglés) han tomado gran relevancia en los últimos años por sus propiedades únicas (Dresselhaus et al., 1996).

Conociendo un poco más a los CNTs podemos describirlos como una estructura cilíndrica hueca formada por una red bidimensional de átomos de carbono unidos covalentemente mediante un enlace de hibridación sp^2 y ordenados en un patrón hexagonal (Grobert, 2007) (Figura 3).

Dependiendo del número de capas que pueda tener el nanotubo, se pueden clasificar en dos categorías: de una sola capa SWCNT (Single Walled Carbon Nanotubes, por sus siglas en inglés) y de múltiples capas MWCNT (Multi Walled Carbon Nanotubes) (Aquel et al., 2012) (Figura 3)

El diámetro de los nanotubos de carbono varía dependiendo del número de capas, en el caso de los SWCNTs pueden tener un diámetro de 0.4 a 2 nm y sus extremos pueden estar cerrados por media esfera de fullereno o pueden estar abiertos. En tanto los MWCNT, su diámetro puede ser de 2 a 25 nm y la separación entre cada nanotubo puede ser de 0.36 nm aproximadamente (Ajayan y Ebbesen, 1997; Bethune et al., 1993). Las longitudes de los nanotubos SWCNTs y MWCNTs generalmente rondan los micrómetros o milímetros (Figura 3).

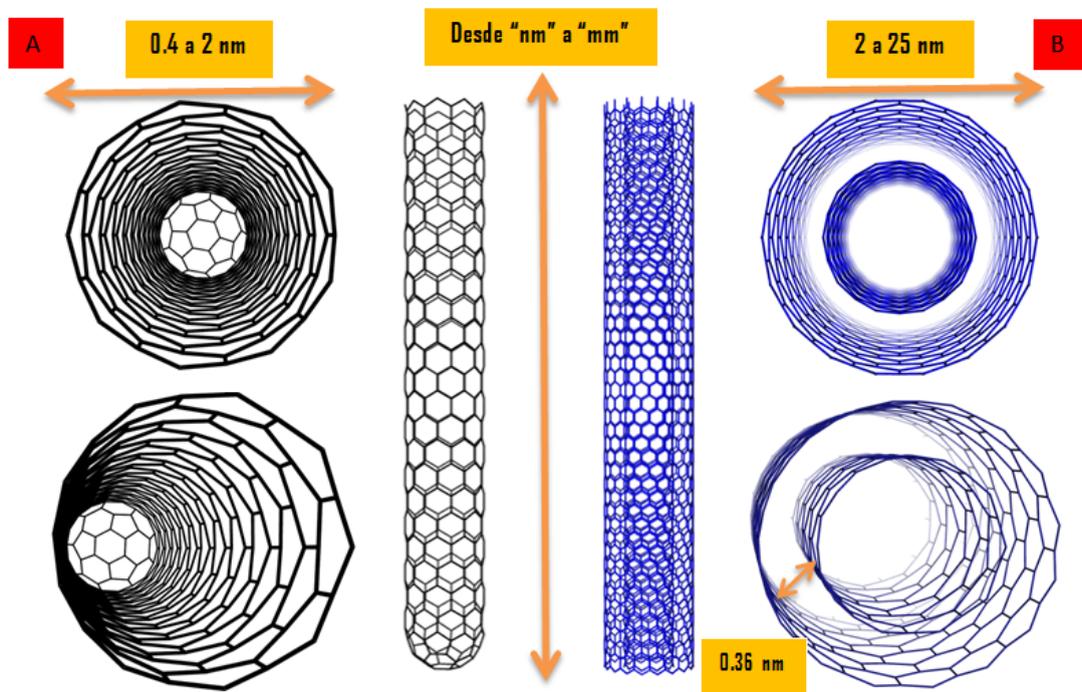


Figura 3. Nanotubos de carbono de (A) pared simple y (B) pared múltiple. Imagen modificada de (Castillo-León et al., 2011).

Los CNTs tienen una gran área de superficie y novedosas propiedades mecánicas (alta dureza, tenacidad/resistencia, flexibilidad/elasticidad y ligereza), eléctricas (alta conductividad) y térmicas (estabilidad a altas temperaturas y alta conductividad térmica en dirección de su eje) (Maubert et al., 2009; Buzea et al., 2007; SCENIHR, 2006; Drexler y Minsky, 1986; Roduner, 2006).

Particularmente, el tamaño nanométrico de los CNTs y sus propiedades los hacen los candidatos perfectos para aplicaciones biomédicas. Esto se debe a que debido a su tamaño pueden interactuar con las biomoléculas como ADN, proteínas o receptores de membrana, entre otros (Figura 4) (Assali, 2012). Sin embargo, uno de los mayores problemas es que son muy hidrofóbicos, lo que es una dificultad para estas aplicaciones biomédicas (Rosario-Castro et al., 2005).

Este problema se ha explorado mediante la funcionalización con átomos o moléculas

en las paredes (exteriores o interiores) de los CNTs, así como en sus extremos (puntas) (Andrade-Cuel et al., 2012). Se ha visto que además de favorecer su dispersión en soluciones acuosas, la funcionalización, permite el anclaje de estructuras químicas como polímeros, fármacos, antígenos, genes u otros nanomateriales con la finalidad de obtener materiales híbridos con propiedades emergentes capaces de ser utilizadas en diversas aplicaciones de importancia médica (Bianco et al., 2005; Andrade-Cuel et al., 2012).

Estas propiedades nuevas de los híbridos de CNTs tienden a mejorar su solubilidad y biocompatibilidad en organismos, así como aumentar la tendencia a la encapsulación para la administración multimodal de fármacos y/o medios de contraste para diagnóstico y terapia (Figura 4) (Liu et al., 2009), dando como consecuencia una mayor interacción con moléculas biológicas, y por lo tanto, ser aspirantes para aplicaciones biomédicas (Enyashin e Ivanovskii, 2007; Bianco et al., 2005).

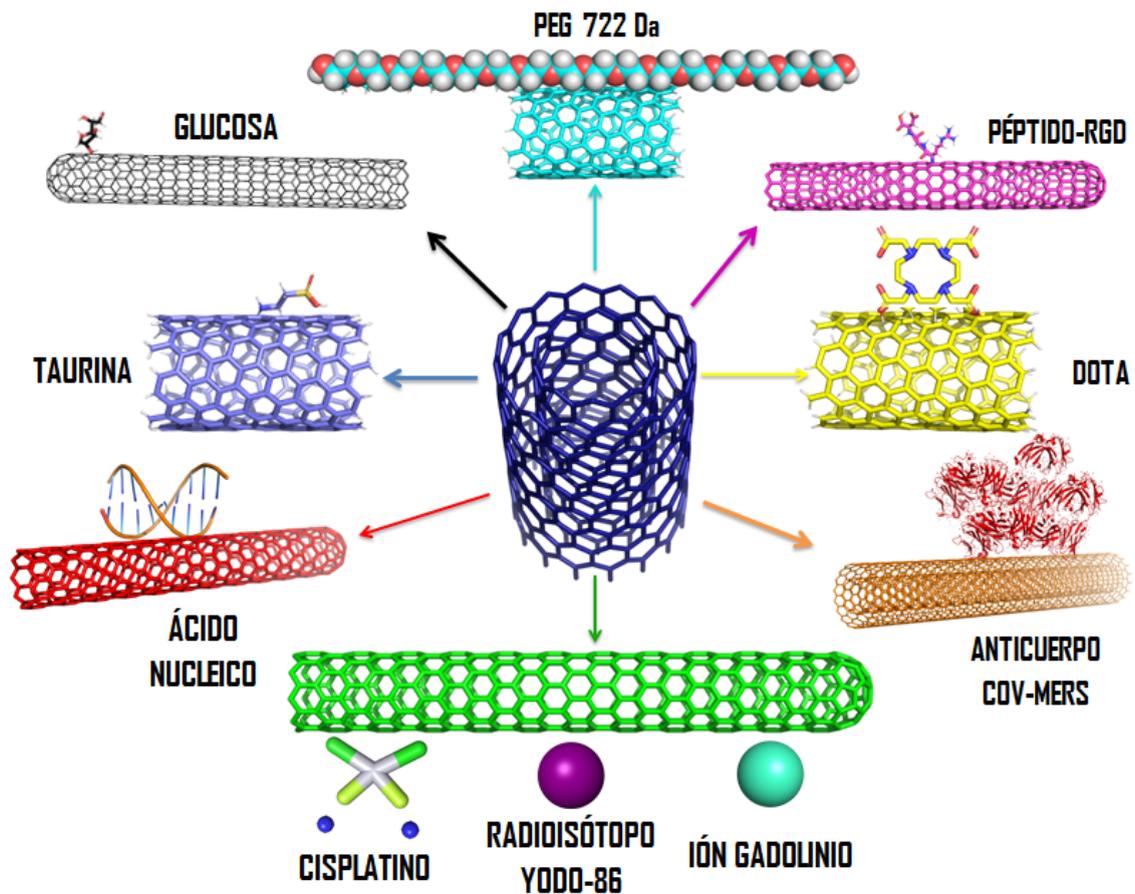


Figura 4. Funcionalización de CNTs con diferentes moléculas para aplicaciones biomédicas.

Actualmente existen estudios sobre las aplicaciones biomédicas de los CNTs, entre los que destacan: imagen molecular en diagnóstico, liberación de fármacos, biosensores o como agentes con propiedades antibacterianas, entre otras (Záyago-Lau y Foladori, 2010; Calle-Kantuta, 2010; Pérez-Zamorano y Torres-González, 2017). Aunque todas estas aplicaciones parecen ser de gran utilidad en la medicina actual, existe una controversia sobre la toxicidad de los nanotubos de carbono (González et al., 2008; Rodríguez et al., 2017).

Diversos estudios *in vivo* han observado la acumulación y retención de CNTs en órganos vitales como hígado, páncreas, pulmones y riñones, entre otros (Kobayashi et al., 2017; De Matteis, 2017). Por lo tanto, existe una creciente necesidad de comprender su absorción, distribución, metabolismo, excreción, y sus propiedades farmacológicas y toxicológicas de los CNTs en modelos *in vivo* (Yang et al., 2007; Lin et al., 2013).

Los estudios de biodistribución son obligatorios por autoridades regulatorias para confirmar la seguridad de fármacos o tratamientos. Estudios de la biodistribución de CNTs ayudará a entender su destino después de su administración. Esto con el fin de tener un mejor entendimiento de su bioseguridad y toxicidad en los humanos (Liu et al., 2010).

Por lo anterior, en este trabajo se realizó una revisión de la literatura actual de la biodistribución de los CNTs. Primero se enlistan los artículos revisados con sus respectivos resúmenes. Después se revisaron las diversas aplicaciones de los CNTs en la biomedicina, su biodistribución y su citotoxicidad. Luego se detallan los retos y oportunidades detectadas con base en los trabajos revisados, de igual forma se da una breve conclusión.

Finalmente, para una mejor comprensión realizó un apéndice donde se adjunta una introducción de los alótropos de carbono y se describieron los cuatro diferentes alótropos del carbono, sus síntesis y sus aplicaciones en la biomedicina.

2. Objetivos

General

- Realizar una revisión y análisis de literatura publicada acerca de la biodistribución de los nanotubos de carbono.

Particulares

- Realizar una búsqueda y lectura de artículos de investigación que en su título contengan las palabras nanotubos de carbono y biodistribución.
- Realizar una búsqueda y lectura de artículos de investigación que en su título contengan las palabras nanotubos de carbono y toxicidad.
- Realizar una lectura rápida de los resúmenes de los artículos encontrados para seleccionar los artículos que cumplan con los siguientes criterios:
 - Que indiquen el tipo de nanotubo de carbono empleado.
 - Que indique que se trabajó en un modelo *in vivo* para el tema de biodistribución o *in vitro* para el caso de toxicidad.

- Que indiquen los órganos donde se observó una acumulación.
- Que indiquen las concentraciones de nanotubos de carbono empleadas en sus estudios.

- Realizar una lectura y análisis de los artículos de investigación que se seleccionaron para el tema de biodistribución.
- Realizar el análisis de los retos y oportunidades de la biodistribución de los nanotubos de carbono.

3. Hipótesis

La revisión y análisis de literatura publicada de la biodistribución de nanotubos de carbono ayudará a dilucidar los retos y oportunidades que tienen los productos y aplicaciones médicas basadas en CNTs.

4. Metodología

Búsqueda de artículos: Se realizó una búsqueda exhaustiva, similar a la propuesta por McKee et al., 2019, en bases de datos con las siguientes palabras claves: nanotubos de carbono, nanotubos de carbono + biodistribución, nanotubos de carbono + toxicidad.

Se utilizaron las siguientes bases de datos: PubMed, Google Scholar, Biblioteca Digital de la UNAM.

Para la búsqueda de artículos con relación a la biodistribución, citotoxicidad y aplicaciones biomédicas de los nanotubos de carbono se limitó de 2000-2021 (Tabla 1) y únicamente se leyeron las primeras 20 páginas de cada base de datos.

Selección de artículos: Se seleccionaron los artículos que tanto en su título como en el resumen tratan sobre biodistribución o citotoxicidad de los nanotubos de carbono. Dentro de los artículos se buscaron; 1) artículos de revisión para extender la búsqueda sobre las referencias originales; 2) artículos que obtuvieron resultados

concretos como los principales órganos de biodistribución de los CNTs, sus mecanismos de eliminación y su tiempo de circulación sanguínea.

Los criterios de exclusión fueron; 1) Artículos que informaban sobre la síntesis o funcionalización de los nanotubos de carbono pero no de su toxicidad o biodistribución; 2) artículos que hablan sobre utilizar a los nanotubos de carbono como dispositivos biomédicos sin mencionar su biodistribución o toxicidad. Todos los conflictos que surgieron durante el proceso de selección fueron expuestos a una revisión de sus resultados y discusión para analizar si era necesario aceptarlos. Por último, cabe aclarar que no se leyeron todos los artículos que aparecieron en los resultados de las bases de datos (61, 693 artículos), únicamente se leyeron los encontrados en las primeras 20 páginas de cada base de datos (Figura 5).

Tabla 1. Listado de las bases de datos que se utilizaron para la revisión bibliográfica con su respectivo número de artículos encontrados.

Base de datos	Palabras clave	No. de artículos
PubMed	CNTs + biodistribución CNTs + citotoxicidad	134 2, 952
Google Scholar	CNTs + biodistribución CNTs + citotoxicidad	17, 400 38, 500
Biblioteca Digital de la UNAM	CNTs + biodistribución CNTs + citotoxicidad	163 2, 544

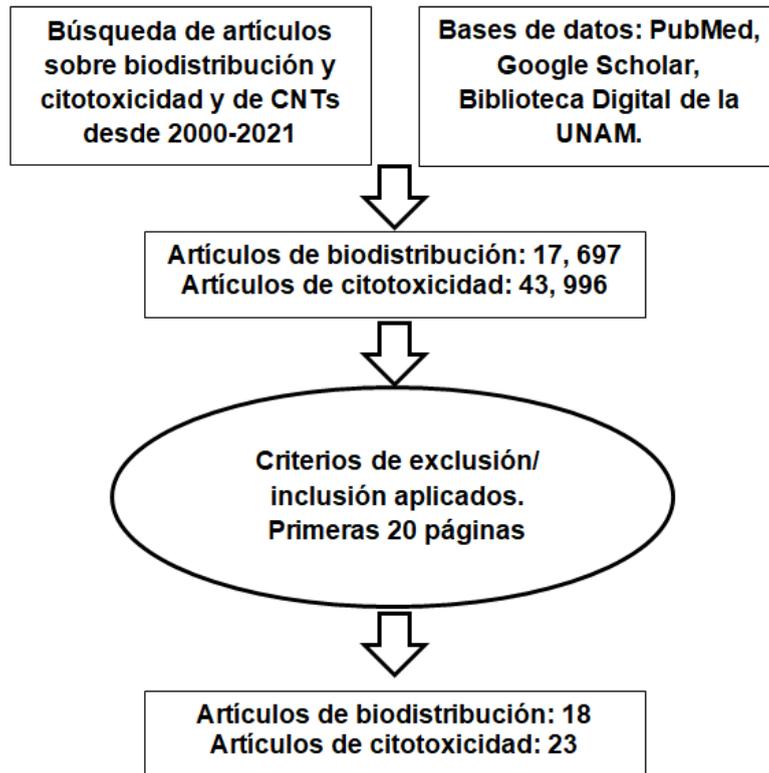


Figura 5. Estrategia de búsqueda y resultados, a través de un diagrama de flujo.

5. Resultados y discusión

Se revisaron un total de 41 artículos sobre los CNTs, de los cuales, 18 correspondieron específicamente a la biodistribución de CNTs y 23 referentes a la toxicidad de CNTs.

En este apartado se presenta un listado de los artículos revisados con su respectivo resumen (Tabla 2), y posteriormente se analizan dichos artículos.

Tabla 2. Lista de los artículos relevantes, corresponden a los artículos sobre biodistribución y toxicidad de CNTs

Autores/ Tema	Dosis/ metodología	Funcionalización/ dimensiones	Resultados destacables
Yang et al., 2007 Biodistribución de SWCNTs PRÍSTINOS	^{13}C -SWCNT (200 μg / 200 μL) única inyección en la vena de la cola. 600 μg de ^{13}C -SWNT y se sacrificaron 1 día después de la exposición para muestra TEM 2 mg de SWNT y se sacrificaron 1 día después de la exposición	SWCNTs esqueléticos enriquecidos con ^{13}C para usar la abundancia isotópica (relación $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$) determinada por espectroscopía de masas de relación isotópica. Nanotubos de 10-30 nm de diámetro y 2-3 μm de largo Síntesis: ablación con láser	Viajaron por torrente sanguíneo y se acumularon principalmente en los pulmones, el hígado y bazo por 28 días. SWNT son estables frente a la biotransformación CNT atrapados en célula de Kupffer

<p>Singh et al., 2006</p> <p>Biodistribución de SWCNTS</p> <p>FUNCIONALIZADOS</p>	<p>60 µg por cada animal (biodistribución)</p> <p>400 µg (observar excreción renal)</p> <p>Inyección intravenosa, vena de la cola</p> <p>circulación sanguínea y la vida media de aclaramiento, así como la biodistribución tisular de dos tipos de CNT de pared simple funcionalizados radiomarcados (f-SWNT) después de i.v. administración.</p>	<p>SWCNTS y MWCNT funcionalizados con amonio a través del método de cicloadición 1,3-dipolar se funcionalizó covalente con dianhídrido de dietilentriaminopentaacético (DTPA) quelante para el radioisótopo (¹¹¹In).</p> <p>SWCNT diámetro 1 nm, longitud 300-1000 nm</p> <p>MWCNT diámetro 20-30 nm, longitud 0,5-2 µm.</p>	<p>Presencia de SWCNT en todos los órganos examinados 30 min después de la administración</p> <p>Alta radiactividad en el músculo, piel, riñón y sangre</p> <p>30 min: la afinidad tisular indica que el 20% de la dosis inyectada de [¹¹¹In] DTPA-SWCNT se puede encontrar por gramo de tejido en los riñones de ratones (eliminación a través de la vía de excreción renal, CNTs intactos).</p> <p>Vida media en la circulación sanguínea de 3 a 3.5 h</p>
<p>Liu et al., 2010</p> <p>Biodistribución de CNTs</p> <p>REVISIÓN</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>Los CNTs, tienen una tendencia general a ser capturados en gran medida por el sistema reticuloendotelial (RES).</p> <p>Esta captura puede reducirse mediante la funcionalización química de la superficie de CNT para resistir la absorción de las proteínas en la sangre</p>

<p>Cherukuri et al. 2006</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN NO COVALENTE</p>	<p>La dosis de SWCNT fue de 75 µg, correspondiente a 20 µg por kg de masa corporal</p> <p>Utilizaron la fluorescencia intrínseca de infrarrojos cercanos, que es una propiedad solo de los SWNT individualizados, para medir su cinética de eliminación de sangre en conejos e identificar los órganos en los que se concentran</p>	<p>Se dispersaron ultrasónicamente CNTs en bruto en una solución del tensioactivo artificial 1% de Pluronic F108 y luego se ultracentrifugó, obteniendo una concentración de 10 µg / ml</p> <p>SWCNT de 1 nm de diámetro y 300 nm de largo</p> <p>Síntesis por el método de monóxido de carbono a alta presión.</p> <p>Se inyectaron cuatro conejos normales de Nueva Zelanda con un bolo de 7,5 ml de esta suspensión SWNT a través de catéteres implantados en la vena yugular</p>	<p>Entre 0,5 y 24 h después de la inyección, se recolectaron muestras de sangre de 1 ml de cada animal</p> <p>Observaron una agregación de proteínas séricas en una suspensión de Pluronic de SWNT, produciendo cambios espectrales casi completos dentro de un tiempo experimental de 0.7 s.</p> <p>Motivo: Desplazamiento del recubrimiento Pluronic de los CNTs por las proteínas sanguíneas. Proteínas en el suero sanguíneo por un factor de 10^4</p> <p>Vida media de 1 h</p> <p>A las 24 h después de la administración i.v. inyección, la única concentración significativa de SWNT se encuentra en el hígado</p> <p>No se observaron anomalías importantes en los órganos</p>
---	---	--	---

<p>Liu et al., 2006</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN NO COVALENTE CÁNCER</p>	<p>Dosis: 1 mg de SWNT (30 nM) en 150-200 ml de PBS con 200-300 mCi de ⁶⁴Cu se inyectaron en cada ratón en la vena de la cola</p> <p>SWNT-PEG5400-RGD (0,5 mg/kg) obtuvieron imágenes PET pero luego murió el ratón</p> <p>Control SWNT-PEG 2 mg/kg (ratón sin obvia toxicidad por varios meses)</p>	<p>1: Funcionalizados no covalentemente con fosfolípido-PEG (PL-PEG), PEG una de dos longitudes diferentes (peso molecular de las cadenas de PEG ¼ 2000 y 5.400, respectivamente)</p> <p>1.1: Funcionalización de PEG con agente quelante macrocíclico DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano 1,4,7,10-tetraacético) unido a los extremos de las cadenas de PEG y se utilizó para conjugar el radionúclido ⁶⁴Cu emisor de positrones (semivida de desintegración de radio t_{1/2} ¼ 12,7 h).</p> <p>1.2: Funcionalización de PEG con un péptido arginina-glicina-ácido aspártico (RGD)</p> <p>Los diámetros y longitudes de los SWCNT funcionalizados con PL-PEG fueron de 1 a 5 nm y de 100 a 300 nm, respectivamente</p>	<p>Exploraciones microPET en múltiples puntos de tiempo (hasta 24 h), mostraron que ambos de SWCNT exhibieron una mayor captación en el hígado, con una captación menor para SWNT-PEG5400 que SWNT-PEG2000.</p> <p>SWNT-PEG5400 exhibió un tiempo de circulación sanguínea mucho más largo (t_{1/2}=2 h) que SWNT-PEG2000 (t_{1/2}=0.5 h)</p> <p>La biodistribución en varios órganos después de matar a los ratones a las 24 h, reveló una captación prominente de SWCNT en el hígado y el bazo (30 %IDg⁻¹. y 10%IDg⁻¹. respectivamente) y en menor medida en el tumor, músculo, hueso, piel y otros órganos.</p> <p>Pocas radioetiquetas libres no conjugadas de ⁶⁴Cu-SWCNT (no observaron una rápida expresión)</p> <p>SWNT-PEG5400-RGD exhibió una alta captación tumoral de 10 a 15% de la dosis inyectada ID g⁻¹. La alta acumulación de tumores fue el resultado del largo tiempo de circulación sanguínea, la alta afinidad específica de unión a tumores de SWNT-PEG5400 funcionalizado con RGD y el efecto de multivalencia (múltiples RGD a lo largo de un SWNT que se unen a múltiples integrinas avb3 simultáneamente)</p> <p>PEGilación por PL-PEG5400 impartía a los SWCNT una alta hidrofiliidad y resistencia a la unión no específica de proteínas (osponización)</p>
---	---	---	---

<p>Liu et al., 2008</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN NO COVALENTE CÁNCER</p>	<p>inyectado en ratones a través de la vena de la cola una vez cada 6 días. Las dosis inyectadas se normalizaron a 5 mg / kg de PTX.</p> <p>Se utilizaron otros tratamientos:</p> <p>Taxol, PEG-PTX y DSPE-PEG-PTX y SWCNT-PTX (unido el PTX a un PEG funcionalizados no covalente a SWCNT). En todos los tratamientos se uso la misma dosis a 5 mg / kg de PTX.</p> <p>Se informa que la dosis máxima tolerable de Taxol para ratones BALB / c está en el rango de 20 a 50 mg / kg</p>	<p>1: SWNT con recubrimiento de polietilenglicol (PEG) ramificado con fosfolípidos no covalentes. La funcionalización se dio con 0,2 mg / ml de SWCNT prístinos sometidos a ultrasonidos en una solución de 0,2 mmol / L de DSPE-PEG5000-4-arm-(PEG-amine)</p> <p>2: Después Se hicieron reaccionar SWCNT (0.05 mg / mL) con funcionalización de PEG-NH2 ramificado con 0.3 mmol / L de PTX modificado. PTX se conjugó en la posición 2'-OH al grupo amina terminal del PEG ramificado en el SWNT mediante un enlace éster</p> <p>Longitud de los SWNT fue de 20 a 300 nm con una media de aproximadamente 100 nm</p>	<p>La carga de PTX en SWCNT se caracterizó en aprox. 150 moléculas de fármaco por cada SWCNT</p> <p>Tamaño del SWCNT-PTX era de aprox. 132.2 nm, sugiere que no hay agregación significativa de nanotubos.</p> <p>El conjugado SWNT-PTX se encontró estable en buffers fisiológicos con poca liberación de fármaco en 48 h.</p> <p>Biodistribución de SWCNT-PTX a las 2 horas: principalmente en RES (hígado / bazo), intestino, tumor y sangre.</p> <p>Vida media: SWNT-PEG de 3.3 h; SWCNT-PTX de 1.3 h</p> <p>El SWCNT-PTX exhibía una toxicidad en las pruebas de toxicidad celular in vitro realizadas con una línea celular de cáncer de mama murino 4T1</p> <p>Los tumores mostraron volúmenes tumorales fraccionarios promedio (V/V0) a los 22 días: Control SWCNT= 10.1 ± 1.7; Taxol= 7.3 ± 1.5; PEG-PTX =8.0 ±1.6; DSPE-PEG-PTX =8.6 ± 0.9 y SWCNT-PTX = 4.1 ± 1.1. El SWCNT-PTX representa una Inhibición del crecimiento tumoral del 59,4%, que es significativamente más eficaz que Taxol, PEG-PTX y DSPE-PEG-PTX</p> <p>alto nivel de apoptosis (70%) en el tumor tratado con SWCNT-PTX, esta eficacia del tratamiento de SWNT-PTX se debe a la PTX transportada a los tumores por nanotubos</p> <p>No se observaron efectos secundarios tóxicos para los órganos normales y el bienestar general de los ratones BALB / c</p>
---	---	---	---

<p>Owens et al., 2006</p> <p>Biodistribución</p> <p>Opsonización</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>La opsonización es el proceso por el cual un organismo o partícula extraña se cubre con proteínas de opsonina, lo que la hace más visible para las células fagocíticas. Estos macrófagos, que son típicamente células de Kupffer (macrófagos del hígado), no pueden identificar directamente las nanopartículas en sí mismas, sino que reconocen proteínas opsoninas específicas unidas a la superficie de las partículas. Las opsoninas más comunes son: proteínas del complemento como C3, C4 y C5 y las inmunoglobulinas.</p> <p>Se cree que las opsoninas entran en contacto con nanopartículas debido al movimiento browniano aleatorio. Sin embargo, una vez que está lo suficientemente cerca de la superficie de una partícula, mediante interacciones como fuerzas de van der Waals, electrostática, iónica, hidrófoba / hidrófila, unen a las opsoninas con la superficie de la nanopartícula. Las nanopartículas con mayor hidrofobicidad y con carga son más susceptibles a la opsonización. Una vez unida, la opsonina cambia su conformación estructural y promueve un reconocimiento por parte de los receptores superficiales de los macrófagos</p> <p>Si los macrófagos no pueden degradar a las nanopartículas, se verán obligados a secuestrarlas en los órganos del sistema fagocítico mononuclear o RES</p>
--	---	---	---

<p>Yang et al., 2009</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>Los ratones se inyectaron por vía intravenosa con 0.3 ml de la solución de SWCNT-PEG (600 µg de carbono equivalente) por ratón.</p> <p>Los ratones se sacrificaron 1 día, 1 semana, 4 semanas y 8 semanas después de la exposición. Los hígados y bazo de los grupos expuestos y de control se recogieron.</p>	<p>Se usaron SWCNT enriquecidos con ¹³C PEGilados (330 mg). El poli(etilenglicol) terminado en bis(3-aminopropilo) de peso molecular ~ 1500 (PEG1500N).</p> <p>Método de producción de descarga de arco.</p> <p>Longitud típica de nanotubos del orden de 300 nm a 1 µm más o menos</p>	<p>Observaron pocos SWCNT funcionalizadas o incluso "libres" en la muestra de hígado recolectada 4 semanas después de la exposición.</p> <p>Debido a que la cadena de PEG es generalmente estable frente a la biotransformación, la desfuncionalización debe estar en los enlaces amida entre los grupos funcionales de PEG y los CNTs.</p> <p>Mecánicamente, es posible que PEG-SWCNT ingrese a las células fagocíticas hepáticas a través de endocitosis, dentro de los lisosomas de las células, podría haber reacciones de escisión iniciada por radicales o de hidrólisis ácida en un ambiente celular de este tipo que sea responsable de la biodefuncionalización observada en el hígado.</p> <p>La biodefuncionalización estuvo ausente para los SWNT PEGilados en el bazo</p>
--	---	--	--

<p>Yang et al., 2008</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>Cada ratón se expuso por vía intravenosa a PEG-SWCNT a una dosis única de 2,4 mg de SWNT equivalente / kg de peso corporal (60 mg de SWNT equivalente en 200 ml). Los ratones se sacrificaron 1 h, 1 día, 3 días y 7 días después de la exposición y sus tejidos fueron recolectados.</p> <p>Los nanotubos funcionalizados eran 25% SWNT y 75% PEG en peso, lo que corresponde a una molécula de PEG1500N para aproximadamente 42 nanotubos.</p>	<p>SWCNTs esqueléticos enriquecidos con ¹³C (producidos por ablación con láser, contenido de ¹³C fue de 26.12%) se funcionalizaron covalentemente con oligómeros de PEG terminados en diamina (peso molecular medio 1500, PEG1500N).</p> <p>Longitud típica de los nanotubos era del orden de 300 nm a un micrómetro</p> <p>La TEM mostró haces delgados de 10 a 20 nm de diámetro y 1–1.5 μm de longitud</p>	<p>Aproximadamente el 30% de la dosis inyectada (% ID) permaneció en la circulación sanguínea el día 1 después de la exposición ($t_{1/2}$=15.3 horas).</p> <p>PEG-SWNT se distribuyeron en la mayoría de los órganos en una hora. Los órganos con mayor captación y retención ((hasta 7 días) fueron el hígado y el bazo, 19,1% ID / g y 25,9% ID / g respectivamente</p> <p>No se pudo detectar una captación significativa de PEG-SWNT en el cerebro, el intestino y el músculo (el valor p que define la significación estadística > 0,05)</p> <p>Ningún animal mostró ningún signo de respuesta toxicológica aguda, incluso a una alta dosis de exposición de 24 mg de equivalente de SWNT / kg de peso corporal.</p> <p>Se observó una excreción lenta de SWNT a través de la orina</p>
--	---	---	---

<p>Bhirdeet al., 2010</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>Se inyectaron a los ratones (vía intravenosa), 200 µl de 0.5 mg / ml(SWCNT-cisplatino-EGF), con aproximadamente 1.33 µM de cisplatino por ml de solución. Se estimaron aproximadamente 10 moléculas de cisplatino y 36 ± 10 moléculas de EGF por 100 nm de longitud de CNT. Los SWCNT de control se prepararon utilizando el mismo procedimiento pero sin EGF.</p> <p>La cantidad de cisplatino se midió mediante la diferencia en la absorbancia ultravioleta de las soluciones de adsorbato antes y después de la unión a los SWCNT.</p> <p>Se sacrificaron 24 h después para la extracción de órganos vitales (pulmón, hígado, riñón y bazo).</p>	<p>SWCNTs funcionalizados covalentemente con PEG 5000 como vehículos de administración del fármaco anticanceroso cisplatino.</p> <p>La dispersión ultrasónica de los SWCNT permitió su conversión de monóxido de carbono a alta presión, en una solución de HNO₃ –H₂SO₄ (en una proporción de 3:1, respectivamente) durante 4 ha 70 ° C. Luego 5 mg de SWCNT oxidado se sonicaron con 1 ml de 2 mg ml⁻¹ amino-PEG (peso molecular 5000 Da. . Posteriormente, EGF humano, junto con cisplatino se agregaron.</p> <p>Diámetros: de 0.8 a 1.4 nm</p> <p>Longitud: de 40 a 400 nm</p>	<p>Los datos sugieren que los PEG-SWCNT no se acumulan en órganos vitales cuando se inyectan por vía intravenosa en ratones</p> <p>Los espectros Raman de las muestras de SWCNT PEGiladas muestran conjugación exitosa de EGF / fármaco en la superficie de SWCNT</p> <p>El análisis histológico a corto plazo de muestras de tejido de animales tratados con PEG-SWCNT no mostró ninguna respuesta inflamatoria adversa in vivo.</p> <p>Las células HN12 de cáncer de cabeza y cuello no mostraron apoptosis cuando fueron tratadas con 0,5 mg ml⁻¹ de PEG-SWCNT in vitro.</p> <p>Los ratones con el xenoinjerto de tumor HN12 inyectados con el SWCNT-cisplatino-EGF mostraron una inhibición del crecimiento tumoral, exhibiendo un crecimiento del volumen tumoral del 6,25% entre los días 0 y 8. En contraste con el control, donde mostró un crecimiento del volumen tumoral del 55% entre los días 0 y 8. En conclusión, el SWCNT-cisplatino-EGF puede retardar eficazmente la progresión</p>
---	---	---	--

<p>Wang et al. 2004</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>A ratones macho (25 g) se les inyectó por vía intraperitoneal (i.p) 100 µl de la solución de ¹²⁵I-SWNTols (3.52X 10⁶ cpm / ml, 15 µg / ml).</p> <p>Se sacrificaron a diferentes intervalos después de la dosificación. Sus tejidos se disecaron inmediatamente y se extrajo sangre</p> <p>La administración fue inyección i.p., inyección subcutánea, intubación del estómago e inyección intravenosa</p>	<p>Los SWNTs purificados y KOH (1:20) se transfirieron a un vial de plástico sellado que contenía pequeñas bolas de acero inoxidable. El vial se agitó vigorosamente durante 1 ha temperatura ambiente. Los SWNTols se marcaron con yodo-125 mediante el método de cloramina T</p> <p>Se obtuvieron SWCNTs múltiples hidroxilados marcados con ¹²⁵I (T_{1/2} = 60.2 días)</p> <p>SWCNT Diámetro de aproximadamente 1.4 nm se preparó mediante el método de carga de arco</p> <p>Longitud aprox. 300 nm</p>	<p>No se observó ninguna banda de iones ¹²⁵I disociados a los 11 días después del radiomarcaje, el enlace covalente C-I es más estable in vivo. Un punto importante es que el yodo-125 etiquetado en SWNTols no cambiaría la naturaleza de SWNTols.</p> <p>En promedio, solo 0.05 átomos de yodo-125 se unen a un SWNTol (300 nm de largo y 1.4 nm de diámetro)</p> <p>Los SWNTols se acumulan fácilmente y se retienen durante largos periodos de tiempo en el hueso.</p> <p>Los SWNTols pueden moverse con libertad y rapidez para alcanzar los objetivos adecuados en todo el cuerpo del ratón, comportándose como pequeñas moléculas típicas. Se distribuyeron principalmente en los riñones, hueso y estómago.</p> <p>El porcentaje de excreción a través de la orina es del 94% y del 6% a través de las heces, por lo que los SWNTols se excretan predominantemente a través de la orina</p> <p>Las semividas de eliminación (T₁ / 2b) de los dos modos de inyección son tan cortas como aproximadamente 50 min</p>
---	---	---	--

<p>Wang et al. 2008</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>Se inyectaron intraperitoneal e intravenosa a ratones Kunming con una dosis de 6 µg / ml con una actividad específica de 4.4x10⁵ cpm / ml (cuentas por minuto / ml, mide radiactividad).</p> <p>Los animales se sacrificaron en varios momentos después de la dosificación (2, 5, 10, 20, 40 y 60 min). Sus tejidos fueron rápidamente disecados y envueltos en papel de aluminio. Cada órgano se pesó y se analizó para determinar la actividad de 131I usando el contador gamma.</p>	<p>Los SWNTs purificados y KOH (1:20) se transfirieron a un vial de plástico sellado que contenía pequeñas bolas de acero inoxidable. El vial se agitó vigorosamente durante 1 ha temperatura ambiente. Los SWNTols se marcaron con yodo-125 mediante el método de cloramina T</p> <p>Se obtuvieron SWCNTs múltiples hidroxilados marcados con el radioisótopo ¹³¹I (vida media de 8.04 días)</p> <p>SWCNT Diámetro de aproximadamente 1.4 nm se preparó mediante el método de carga de arco</p> <p>Longitud aprox. 300 nm</p>	<p>La pureza radioquímica de los 131I-SWNTols ensayados después de 6 h de incubación con suero es de aproximadamente el 85%. No hubo iones libres.</p> <p>El porcentaje de la dosis inyectada por tejido húmedo (% DI / g) de los ¹³¹I-SWNTols están presentes en niveles mensurables en todo el cuerpo, excepto en el cerebro, poco después de 2 minutos.</p> <p>En los órganos como el hígado, el bazo, el estómago, los riñones y el intestino hubo una mayor translocación y retención de los SWNTols. En contraste con el corazón, pulmones, músculos y la piel donde después de los 2 min los ¹³¹I-SWNTols se mueven libre y rápidamente con la sangre y no se acumulan por más tiempo en estos tejidos</p> <p>vida media de distribución = aprox. 4 min; vida media de absorción= aprox. 50 min; aclaramiento total i.v.=0.10 ml / min / g ; aclaramiento total i.p.= 0.13 ml / min / g; biodisponibilidad absoluta i.p = 80% de la cantidad de muestra se ha encontrado en la sangre en una hora</p>
---	--	---	--

<p>Lin et al., 2013</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>Cada rata Wistar macho SPF (200 ± 20 g) se expuso a ¹²⁵I-SWCNT en una dosis única de 100 µl de solución mediante administración por instilación intratraqueal. Los animales se sacrificaron a 5 intervalos diferentes (2 h, 4 h, 8 h, 24 h y 72 h) después de la dosificación, se extrajo la sangre y luego se disecaron inmediatamente los tejidos. Cada tejido se envolvió en papel de aluminio y se contó la actividad de ¹²⁵I en el detector γ.</p>	<p>SWCNTs prístinos recibieron un tratamiento con el ácido mixto (HNO₃ – H₂SO₄ (3: 1, v: v)) bajo ultrasonidos (8 h). Después se marcaron con el método de yodógeno (Na¹²⁵I), para obtener los ¹²⁵I-SWCNT</p> <p>SWCNTs diámetro de 1 a 2 nm, longitudes que van de 0.5 a 2 µm y una pureza > 99%.</p> <p>La distribución de SWCNT en cada tipo de tejido se representó mediante el porcentaje de la dosis inyectada (actividad tisular / actividad total dosificada, % ID).</p>	<p>El mejor tiempo de ultrasonido para unir covalentemente el yodo al SWCNT por método del yodógeno es de 4 h y se logra un 43% de unión.</p> <p>El enlace I-C es bastante fácil de romper en condiciones fisiológicas, por lo que, se encontró radiactividad del ¹²⁵I disociado de los SWCNT, aumentando gradualmente en la glándula tiroides (se recomienda utilizar este método de rastreo en un lapso menor a 24 h).</p> <p>La tasa radiomarcada de ¹²⁵I-SWCNT es del 46,14% y la pureza radioquímica es del 98,95%.</p> <p>Los órganos con mayor concentración de ¹²⁵I-SWCNT fueron: tráquea > orina > estómago > intestino. Y los de menor concentración: corazón > grasa > músculo > cerebro</p> <p>La radiactividad total administrada se localiza principalmente en la tráquea, con una baja radiactividad detectada en la glándula tiroides, el principal órgano diana del yodo, indica que el marcador es estable y sólo se pierden muy pocos átomos de ¹²⁵I de los SWCNT.</p>
---	--	--	---

<p>Guo et al., 2007</p> <p>Biodistribución de SWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>A ratones Kunming (hembras, 18-22 g) se les inyectó intraperitonealmente 300 μl de suspensión de ^{99m}TcMWNT-G (0,5 mCi). Fueron sacrificados a las 1, 3, 6, 10 y 24 h postinyección, respectivamente. Sus tejidos se disecaron inmediatamente y se recolectaron sangre, heces y orina.</p> <p>Los resultados se expresaron como porcentaje de dosis inyectada por gramo de tejido húmedo (% DI / g),</p>	<p>MWCNTs funcionalizados con glucosamina para hacerlos solubles en agua, y luego se marcaron con tecnecio-99 (^{99m}Tc; $T_{1/2} = 6.02$ h) para obtener ^{99m}Tc-MWCNT-G</p> <p>Síntesis por deposición por vaporización química. Pureza del 95%</p> <p>MWCNT tienen varias decenas de micrómetros de longitud, con un diámetro de 20 a 40 nm</p>	<p>Por los espectros FTIR lograron observar la formación de un enlace amida, lo que supone es la funcionalización exitosa del MWCNT con la glucosamina.</p> <p>La pureza de ^{99m}Tc-MWCNT-G era del 90% y se mantuvo estable a las 24 h.</p> <p>El de ^{99m}Tc-MWCNT-G se distribuyó por todo el cuerpo. Acumulándose principalmente en el área enterogástrica, estomago, sangre, pulmón, hígado y riñones. A las 24 h se retuvo un % significativo de la actividad en el estómago. No se observó una respuesta de toxicidad aguda grave</p> <p>A las 24 h menos del 70% del ^{99m}Tc-MWCNT-G fue excretado por la orina y las heces</p> <p>$T_{1/2}$ del ^{99m}Tc-MWNT-G fue de aproximadamente 5.5 h</p>
---	--	--	--

<p>Ruggiero et al. 2010</p> <p>Biodistribución y excreción renal de SWCNT</p>	<p>Ratones (machos, NCr / nu / nu; Taconic) recibieron una inyección i.v. de 0,008 mg (0,075 mCi) de SWCNT - $[(^{86}\text{Y})\text{DOTA}(\text{AF}488)(\text{AF}680)]$ a través de un catéter en la vena de la cola.</p>	<p>SWCNT se funcionalizaron covalentemente con grupos amino, se agregaron dos tintes fluorescentes [Alexa Flúor (AF) 488 y AF680] y quelantes de iones metálicos (DOTA), se marcaron radiactivamente con ^{86}Y.</p>	<p>El radiomarcado tenía una actividad específica de 322 GBq / g (8,7 Ci / g) y era radioquímicamente puro al 96%.</p> <p>PET mostraron una acumulación rápida (<1 min) del constructo en los riñones, pico a los 3 minutos después de la inyección. La radiactividad también apareció en la vejiga inmediatamente después de la inyección y se estabilizó después de 20 min, el</p>
<p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>Para análisis HPLC de muestras de orina los ratones recibieron una inyección i.v. de 0,01 mg de SWCNT - $[(\text{DOTA})(\text{AF}488)(\text{AF}680)]$ en 0,10 ml. Los ratones se sacrificaron a los 1, 3, 5, 20, 60 y 180 min, 24 h y 7 d, se extrajeron los riñones para los análisis NIR, IHC e IF</p>	<p>SWCNT de alta pureza y alta presión producidos por monóxido de carbono (HiPCO), con una longitud promedio de 100-1000 nm y diámetros de 0.8 a 1.2 nm.</p> <p>No se oxidaron con ácido ni se sonicaron a alta potencia en ningún paso.</p> <p>La construcción SWCNT - $[(\text{DOTA})(\text{AF}488)(\text{AF}680)]$ fue de ~200–300 nm de longitud con un PM de 350–500 kDa y tendrían 7–10 restos AF488, 14–20 restos AF680 y 140–200 restos DOTA añadidos por molécula.</p>	<p>$t_{1/2}$ fue de 6 a 10 min para el aclaramiento del compartimento sanguíneo.</p> <p>Los SWCNT se reabsorben parcialmente en los túbulos proximales del riñón y se acumulan de forma reversible dentro de los núcleos. Aparecieron SWCNT en los capilares glomerulares, así como en la cápsula de Bowman y el sistema tubular.</p> <p>El modelado matemático explica cómo estas moléculas de alta relación de aspecto se alinean con el flujo y acceden a los poros glomerulares, lo que permite un aclaramiento rápido en comparación con las moléculas globulares. Debido a que el diámetro aparente de los poros capilares glomerulares (es de ~10 nm, los CNT deben estar muy orientados, con el eje largo dirigido hacia las aberturas y el flujo debe ser lo suficientemente fuerte como para dirigir los CNT hacia los poros, para lograr esta filtración.</p> <p>Se observó un ~ 65% del constructo recuperado, con ~ 15% del constructo sometido a reabsorción pasiva dentro de los túbulos 20 min después de la inyección</p>

<p>Deng et al., 2007</p> <p>Biodistribución y excreción renal de MWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>Ratones macho KunMing (25 g). Se adoptaron tres modos de exposición, i.v., instilación intratraqueal (i.t.) e intubación del estómago (sonda). Cada ratón se expuso a 10 µg de 14C-tau-MWCNT con un volumen de 100 µl (actividad específica 2,7 · 10³ cpm (cuentas por minuto) / µg) en solución acuosa.</p> <p>Los ratones se sacrificados a diferentes intervalos y sus tejidos) se disecaron inmediatamente y se extrajo la sangre.</p>	<p>Los MWCNTs se oxidaron con H₂SO₄-HNO₃ para funcionalizarse con 125 mg de taurina mediante la amidación de restos de ácido carboxílico en los nanotubos, después se marcó con ¹⁴C, dando como resultado ¹⁴C-tau-MWCNT</p> <p>Síntesis por el método de deposición química en fase de vapor.</p> <p>Diámetro de 10 a 20 nm, con una longitud variada de 10 a 600 nm y una pureza 95%</p>	<p>Los 14C-tau-MWCNT son estables in vivo y son estables frente a la biotransformación.</p> <p>La inyección i.v. mostró que los tau-MWCNT llegan rápidamente al corazón, hígado, pulmón y bazo, pero no a otros órganos tales como cerebro, estómago, músculo, hueso e intestino. Esto debido a una rápida absorción de partículas por el sistema RES.</p> <p>Los tau-MWCNT se acumulan predominantemente en el hígado (80%) y permanecen durante 28 días sin ser metabolizados. Una pequeña cantidad de tau-MWCNT (5%) se detectó en el bazo y el pulmón. En todos los casos se eliminó gradualmente a los 3 meses.</p> <p>En exposición i.t. muestra que los tau-MWCNT se acumula en el pulmón y se elimina gradualmente desde el 78% desde el día 1 hasta 20% en el día 28.</p> <p>La alimentación por sonda, la radiactividad es detectable sólo en el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso y las heces. Se concluye que los tau-MWCNT no pueden entrar en la circulación sanguínea ni ser absorbidos por los tractos intestinales.</p> <p>En las secciones de hígado, con una dosis alta (2,0 mg por ratón), muestra tau-MWCNT atrapados en un macrófago hepático, a saber, célula de Kupffer, y fagocitosis de células de Kupffer. No hay signos evidentes de lesión hepática.</p>
--	--	--	---

<p>Lacerda et al., 2008</p> <p>Biodistribución y excreción renal de MWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>Ratas desnudas macho de 6 semanas recibieron una inyección en la vena de la cola de 0.8 ml que contenía [¹¹¹In] DTPA-MWNT en PBS, que contenía 250 µCi (9,25 MBq) de ¹¹¹In y 300 µg de DTPA-MWNT.</p> <p>24 h después de la administración, los animales se sacrificaron y se recolectaron los tejidos para cortar secciones teñidas con hematoxilina y eosina.</p> <p>Las imágenes se adquirieron utilizando colimadores de orificios paralelos de alta sensibilidad y energía</p>	<p>MWCNTs funcionalizados con dianhídrido dietilentriaminopentaacético (DTPA-MWNT) y marcados radiactivamente con ¹¹¹In.</p> <p>Dimensiones promedio de 20 a 30 nm de diámetro y una longitud entre 0.5 y 2 µm. Pureza del 94%.</p> <p>El rendimiento de la reacción de marcaje fue superior al 80%. Según la relación entre el número de grupos amino presentes y la cantidad de DTPA utilizada, el 55% de las aminas permanecieron sin reaccionar</p>	<p>El [¹¹¹In] DTPA-MWNT fue estable después de la incubación en suero a 37°C durante 1 y 24 h.</p> <p>A través de la cámara gamma plana dinámica de cuerpo entero se observó como los MWCNTs entraron en la circulación sanguínea sistémica y en 60 segundos comenzaron a acumularse en los riñones y la vejiga. A las 6 h, casi todo casi todo se eliminó vía renal. A las 24 h había poca radiactividad residual en los riñones. Casi no se detectó radiactividad en los pulmones y los órganos del sistema reticuloendotelial (hígado y bazo).</p> <p>Los MWCNTs pasan por la filtración glomerular debido a que se orientan perpendicularmente a las fenestraciones glomerulares, ya que solo la dimensión transversal de DTPA-MWNT (diámetro entre 20-30 nm) es lo suficientemente pequeña como para permitir la permeación a través de los poros glomerulares (la fenestra es 30 nm; grosor de la membrana basal glomerular es 200-400 nm; y ancho de las ranuras de filtración de podocitos epiteliales es de 40 nm)</p>
---	--	--	--

<p>Lacerda et al., 2008</p> <p>Biodistribución y excreción renal de MWCNT</p> <p>FUNCIONALIZACIÓN COVALENTE</p>	<p>A ratones hembra BALB/c de seis semanas de edad, se inyectaron por vía intravenosa en la vena de la cola con 400 mg f-MWCNT altamente individualizados. A los 5 y 30 minutos después de la inyección, los animales se sacrificaron y se extrajeron los riñones para llevar a cabo imágenes TEM de secciones ultrafinas de la corteza renal (70 nm).</p>	<p>Los MWNT funcionalizados (f-MWCNT) se prepararon después de la reacción de cicloadición 1,3-dipolar, lo que dio lugar a aumentos significativos en la desagregación y la individualización de los MWNT en solución salina con buffer (PBS).</p> <p>El diámetro exterior medio estuvo entre 20 y 30 nm y la longitud entre 0.5 y 2 mm, y con una pureza del 94%,</p>	<p>Los f-MWCNT lograron translocarse a través de la barrera de filtración glomerular, únicamente si estaban individualizados y bien dispersos, y además, si su eje longitudinal estaba orientado verticalmente hacia las fenestraciones endoteliales, ya que solo el diámetro de los MWCNTs (20 a 30 nm) es lo suficiente mente pequeño para permitir la permeación de la fenestra glomerular (30 nm)</p> <p>Todo esto ocurrió tanto a los 5 min como a los 30 min después de la inyección.</p> <p>Los MWCNTs agregados o en haces, no pueden atravesar el filtro glomerular y se acumulará en el hígado, el bazo o los pulmones.</p> <p>Los factores que influyen para que los MWCNTs se oriente verticalmente desde la circulación sanguínea y pasen hacia el espacio de Bowman y posteriormente acumularse en la vejiga y excretarse en la orina son:</p> <p>el tamaño (alta relación de aspecto), el grado de individualización, la carga superficial y la forma de los materiales,</p> <p>Vida media de la circulación sanguínea 3 h.</p>
---	--	--	--

<p>Ferrari et al, 2008</p> <p>Toxicidad de los CNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p> <p>REVISIÓN</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>Las partículas en forma de disco, cilíndricas y hemisféricas superan sustancialmente a las partículas esféricas cuando se trata de evadir la captación por parte de las células fagocíticas, fluir a través de los capilares y adherirse firmemente a las paredes de los vasos sanguíneos</p> <p>Lo más importante es que las nanopartículas con anticuerpos superficiales quedan atrapadas fácilmente por las defensas del cuerpo, las barreras biológicas como las paredes de los vasos sanguíneos y las células fagocíticas que se encuentran en los órganos que filtran y eliminan el material extraño. La captación no deseada por el hígado, el bazo y los pulmones se puede retrasar revistiendo las nanopartículas con moléculas protectoras tales como polietilenglicol.</p>
--	---	---	--

<p>Radomski et al., 2005.</p> <p>Toxicidad de los CNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>Se tomó sangre de voluntarios y se extrajeron las plaquetas, a estas se les administró una combinación de SWCNTs y MWCNTs (0.2-300 µg /ml) para medir la agregación de plaquetas humanas y trombosis en ratas (Wistar–Kyoto).</p>	<p>SWCNT abierto purificado y Los MWCNT, las suspensiones de partículas siempre se sonicaron durante 2 min y se agitaron durante 20 s antes de la prueba</p> <p>Longitud aprox. 100 nm</p>	<p>La incubación de plaquetas con MWCNT y SWCNT dio como resultado la agregación plaquetaria, con un aumento dependiente de la concentración administrada. Formando aglomerados desde 100 nm a 10 µm.</p> <p>El mecanismo de esto es debido a que los CNTs tienen un área de superficie muy alta en relación con su masa y una gran carga superficial, lo que los hacen, inusualmente reactivos en su entorno. Por lo que, es posible que los CNTs imiten los puentes moleculares implicados en las interacciones plaquetas-plaquetas, estimulando así la agregación</p> <p>A una concentración de 50 µg /ml de SWNT Y MWCNT se producía una Estimulación trombosis carotídea en las ratas, decreciendo el flujo sanguíneo a una tasa de 1.2 ml/min.</p>
---	---	--	--

<p>Donaldson et al., 2013</p> <p>Toxicidad de los CNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p> <p>REVISIÓN</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>Dado que, en la toxicología clásica, la respuesta del paradigma sigue a la dosis, es evidente que las fibras que se depositan en los pulmones se acumulan en dosis altas en varios sitios del revestimiento de las células epiteliales y el parénquima, lo que lleva a los efectos pulmonares y que se acumulan en la pleura, donde se acumulan en la pleura. causan las patologías pleurales descritas en la Fig. 1 y más abajo. Estructura generalizada de toxicología de las fibras: paradigma de actividad que implica el diámetro, la longitud y la biopersistencia que se denominado paradigma de patogenicidad de las fibras.</p>
---	---	---	---

<p>Xu et al., 2012</p> <p>Toxicidad de los MWCNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>Se administró 250 µg / rata en sus pulmones de ratas (F344 macho 8 semanas) mediante la pulverización intrapulmonar (IPS) / instilación intratraqueal (Se roció 0.5 ml de una suspensión de 500 µg /ml en la traque de cada rata con ayuda de una aspersor)</p>	<p>MWCNT-N y MWCNT-7 prístinos (Mitsui-7), con un diámetro que varía de 0.01 a 0.2 µm y una longitud de varios micrómetros.</p>	<p>Los MWCNTs se translocaron del pulmón a la cavidad pleural principalmente en macrófagos pleurales, probablemente la translocación se dio por el flujo linfático</p> <p>Los tratamientos con MWCNTs inducen respuestas inflamatorias en la cavidad pleural. El número total de células, compuesto principalmente por macrófagos, neutrófilos y linfocitos. En general, la proporción de macrófagos en los sedimentos celulares de la cavidad pleural aumentó, mientras que los de neutrófilos y linfocitos disminuyeron.</p> <p>Se observó claramente proliferación mesotelial visceral hiperplásica y lesiones granulomatosas focales en los alvéolos y en macrófagos alveolares. Probablemente fueron los macrófagos los que causaron los daños y la proliferación de células mesoteliales. Ya que como una respuesta inflamatoria por la presencia de los MWCNTs, estos secretaron un panel de factores de crecimiento y citocinas para regular la proliferación celular, así como ROS y enzimas tóxicas.</p>
--	--	---	--

<p>Poland et al., 2008</p> <p>Toxicidad de los MWCNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>Se inyectó en una dosis de 50 µg en la cavidad peritoneal (abdominal) de los ratones. La cavidad se lavó sistemáticamente a las 24 hrs y 7 días después de la exposición con solución salina fisiológica para cuantificar proteínas y leucocitos.</p>	<p>Se usaron 4 diferentes tipos de MWCNTs :</p> <p>Diámetros de cada MWCNT: 14.84, 10.40, 84.89 y 165.02 nm</p> <p>Longitudes de cada MWCNT: 5, 20, 13 y 56 µm</p> <p>Las fibras de nanotubos no eran todas tubos individuales, sino que eran 'alambres' o 'cuerdas' de CNT individuales entrelazados</p>	<p>Solo los MWCNTs con una longitud de 13 y 56 µm respectivamente causaron granulomas o cicatriz de la superficie mesotelial, en el lado peritoneal del diafragma y células gigantes de cuerpo extraño (FBGC) a los 7 días de su exposición. Al contrario de los otros dos tipos de MWCNT, los cuales no tenían una longitud tan larga no causaron ninguna inflamación significativa al día 1 o formación de células gigantes a los 7 días.</p> <p>Los granulomas comprendían agregados de células que contenían fibras, muy probablemente macrófagos, y también FBGC, con MWCNT y depósito asociado de colágeno dentro de las lesiones.</p>
--	--	---	--

<p>Sharifi et al., 2012</p> <p>Mecanismo de fagocitosis de los CNTs por macrófagos</p> <p>REVISIÓN</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>Los estudios han implicado que el tamaño, la longitud, agregación, las propiedades fisicoquímicas del medio de dispersión y las impurezas de los CNTs son factores determinantes para su toxicidad, ya que el mecanismo de captación celular de los CNT, incluidas la endocitosis y la difusión pasiva, puede diferir según la funcionalización y el tamaño de los CNT.</p> <p>Por ejemplo, en una preparación bien dispersa de CNTs con un diámetro medio de 0.69 μm puede llegar a tener una mejor distribución intersticial con una fagocitosis de macrófagos después de la aspiración faríngea en ratones. Esto a su vez, puede cambiar la morfología y el rendimiento de una línea celular de mesotelioma (similar al amianto)</p>
--	---	---	--

<p>Donaldson et al., 2006</p> <p>Mecanismo de fagocitosis de los CNTs por macrófagos</p> <p>REVISIÓN</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>Al igual que el asbesto, los SWCNT consisten en fibras largas y delgadas con características aerodinámicas que permiten que se inhalen profundamente en los pulmones.</p> <p>Una vez inhalados y depositados en la superficie alveolar, los CNT son fagocitados por macrófagos. Sin embargo, esta fagocitosis puede ser frustrada dependiendo de su longitud de los CNTs. Estos CNTs pueden exceder significativamente el tamaño de los macrófagos (10 a 20 mm de largo). Por lo tanto, puede dificultar la fagocitosis y eliminarlas más lentamente del pulmón profundo que las fibras más cortas. Lo que convierte a los CNTs largos (10 a 20 mm) altamente biopersistentes</p>
--	---	---	--

<p>Warheit et al., 2003</p> <p>Mecanismo de fagocitosis de los CNTs por macrófagos</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>A ratas macho con 8 semanas, se les administró 1 o 5 mg / kg de SWCNT instilados por vía intratraqueal (SWCNT) en sus pulmones. Después se les realizó una evaluación histopatológica del tejido pulmonar a las 24 h, 1 semana, 1 mes y 3 meses después de la instilación.</p>	<p>Se usaron SWCNTs preparados en un volumen de Tween 80 al 1,0% y solución salina con buffer fosfato (PBS) y se sometieron a dispersión de politrón</p> <p>Tenían 1.4 nm de diámetro y 1 µm de longitud. Existen principalmente como "cuerdas" aglomeradas de nanotubos de 30 nm de diámetro</p> <p>SWCNT generados mediante un proceso de ablación con láser</p>	<p>Las exposiciones a dosis altas (5 mg / kg) de SWCNT produjeron mortalidad en el 15% de las ratas instiladas con SWCNT dentro de las 24 h posteriores a la instilación. Esta mortalidad resultó del bloqueo mecánico de las vías respiratorias superiores por la aglomeración de estas nanopartículas y no se debió a la toxicidad pulmonar inherente de las partículas de SWCNT instiladas.</p> <p>Las exposiciones a SWCNT produjeron efectos transitorios inflamatorios y de lesión celular</p>
---	---	--	--

<p>Mutlu e tal., 2010</p> <p>Toxicidad de los MWCNTs. PULMÓN</p> <p>FUNCIONALIZADO</p>	<p>Se expuso a células epiteliales alveolares humanas (A549) a 50 µg/cm² de SWCNT.</p> <p>Administramos dosis 40 µg (equivalente a ~ 1600 µg / kg) en las tráqueas de ratones C57BI / 6.</p>	<p>SWCNT altamente dispersos a nanoescala</p> <p>mediante ultrasonidos de polvo de nanotubos en una solución acuosa al 1% en peso de Pluronic F 108NF (BASF Corporation</p> <p>seguida de ultracentrifugación, que eliminó los haces de SWCNT grandes y densos. especies de impurezas</p> <p>Pluronic F 108NF (Pluronic).</p> <p>niveles de impurezas de hierro de 20,6 y 8,5% (diámetro medio ~1 nm).</p> <p>Longitud aprox 500 nm</p>	<p>Treinta días después de su administración intratraqueal a ratones, las estructuras similares a granulomas con fibrosis leve en las vías respiratorias grandes observadas en ratones tratados con SWCNT agregadas estaban ausentes en ratones tratados con SWCNT dispersos a nanoescala.</p> <p>El examen de secciones de pulmón de ratones tratados con SWCNT dispersos a nanoescala reveló la captación de los SWCNT por los macrófagos y la eliminación gradual con el tiempo.</p> <p>la toxicidad de SWCNT in vivo es atribuible a la agregación del nanomaterial en lugar de la gran relación de aspecto de los nanotubos individuales</p> <p>los SWCNT dispersos individualmente no mostraban toxicidad in vivo y parecían eliminarse del pulmón con el tiempo</p> <p>40 µg no demostraron un aumento de proteína (Figura 2C) y recuento de células (Figura 2D) en el líquido de lavado broncoalveolar y la entrada de neutrófilos en el espacio alveolar. SWCNT no presentaron un cambio en el nivel de complejos plasmáticos de trombina-antitrombina</p> <p>observó oxidación de la sonda o muerte celular células epiteliales alveolares humanas (A549) en respuesta a ninguno de los pocillos. -SWCNT dispersos en Pluronic o SWCNT agregados en PBS</p>
--	---	---	---

<p>Park et al., 2003</p> <p>Toxicidad de los SWCNTs bloqueo de canal</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>Para el análisis de la interacción entre canales iónicos y los SWCNTs se realizaron experimentos electrofisiológicos en diferentes subunidades de canales formadores de poros expresadas heterológicamente en células de mamíferos (CHO).</p>	<p>Los SWNT purificados se dispersaron en una solución acuosa de pH 10 que contenía 0,5 por ciento en volumen de Triton X-100 mediante agitación ultrasónica durante 1 h.</p> <p>Diámetro máximo de 0.9 y 1.3 nm.</p> <p>Síntesis por deposición química de vapor (CVD)</p>	<p>Los SWNT externos fabricados y purificados bloquearon las subunidades del canal de K de una manera dependiente de la dosis, siendo KCNQ1 y HERG las proteínas más susceptibles. El bloqueo dependía de la forma y las dimensiones de las nanopartículas utilizadas y no requería ninguna interacción electroquímica, el diámetro fue el factor determinante.</p> <p>Los SWNT tuvieron un efecto significativo en los canales formados por <i>Caenorhabditis elegans</i> EXP-2, KVS-1, KCNQ1 y Kv4.2 humanos, así como en los canales de potasio HERG, pero no en las células CHO endógenas CIC- 3 canales</p> <p>La inhibición de SWNT fue reversible, lo que sugiere que la interacción tiene lugar dentro de los dominios extracelulares del canal.</p>
---	--	---	--

<p>Manna, et al., 2005</p> <p>Toxicidad de los SWCNTs prístinos</p>	<p>. Las líneas celulares utilizadas en este estudio fueron las siguientes: células HaCaT (queratinocitos humanos), HeLa (células epiteliales) y células A549 y H1299 (ambos carcinoma de pulmón humano). Las células se trataron con diferentes concentraciones de SWCNT (de 0 a 10 µg/ml) durante 12 h y se controló la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) mediante aumentos en la intensidad de fluorescencia de diclorofluorescina (DCF)</p>	<p>SWCNT se disolvieron en dimetilformamida (DMF)</p>	<p>Las partículas SWCNT inducen estrés oxidativo e inhiben la proliferación celular en células HaCaT.</p> <p>Los resultados muestran un aumento de la fluorescencia dependiente de la dosis en comparación con las células de control, lo que indica la generación de ROS por las partículas SWCNT en las células HaCaT.</p> <p>A una concentración de 10 µg / mL de partículas SWCNT, hubo un aumento significativo de células muertas en comparación con el control.</p> <p>El mecanismo de activación de NF-KB se debió a la activación de las quinasas relacionadas con el estrés por las partículas SWCNT en los queratinocitos</p> <p>Las partículas SWCNT activan NF-KB de una manera dependiente de la dosis en los queratinocitos humanos.</p>
---	---	---	---

<p>Sayes et al., 2006</p> <p>Toxicidad de los CNTs</p> <p>FUNCIONALIZADO</p>	<p>Se realizaron pruebas de citotoxicidad in vitro en fibroblastos dérmicos humanos cultivados (HDF) a una variedad de SWCNTs (4 diferentes tipos de SWCNTs a diferentes concentraciones de 0.2 a 2000 µg/ ml) dispersables en agua, a través de un ensayo de tinción de citotoxicidad / viabilidad tradicional</p>	<p>Se utilizaron 4 muestras de SWCNT dispersables en agua: SWCNT fenil-SO₃H; SWCNT-fenil-SO₃Na; SWCNT-fenil- (COOH) 2 y SWCNT estabilizado el tensoactivo Pluronic F108 al 1%.</p> <p>Los SWCNTs tienen 1 nm de diámetro, 400 nm de longitud y están suspendidos individualmente</p>	<p>Las muestras de SWNT funcionalizadas en la pared lateral son menos citotóxicas que las SWCNT estabilizadas con tensoactivo.</p> <p>A una concentración de 10 a 20 µg/ ml las células con el tratamiento de SWCNT-Pluronic F108 presentaron un porcentaje de muerte celular casi del 90 %. En comparación con los SWCNT fenil-SO₃H y SWCNT-fenil- (COOH) 2 que con las mismas concentraciones el porcentaje de muerte celular no excedió el 50%</p> <p>Se observa un contacto directo entre las membranas celulares y los SWNT, debido a que las interacciones iónicas proporcionan un medio para la deposición de nanotubos en las membranas DOPC; es decir, el grupo -OH del grupo funcional sulfonato de SWNT-fenilSO₃H, cuando se suspende en agua, puede disociarse y dejar una carga negativa en la superficie del nanotubo</p>
--	---	--	---

<p>Liu et al., 2009</p> <p>Toxicidad de los CNTs</p> <p>FUNCIONALIZADO</p> <p>REVISIÓN</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>Las biodistribuciones in vivo varían con la funcionalización y posiblemente también el tamaño de los nanotubos, con tendencia a acumularse en el sistema reticuloendotelial (RES), incluidos el hígado y el bazo, después de la administración intravenosa. Si están bien funcionalizados, los nanotubos pueden excretarse principalmente a través de la vía biliar en las heces.</p> <p>La funcionalización superficial de los CNTs puede ser covalente o no covalente. Las reacciones químicas que forman enlaces con las paredes laterales de los CNTs se llevan a cabo en el caso de la funcionalización covalente, mientras que la funcionalización no covalente aprovecha las interacciones favorables entre el dominio hidrófobo de una molécula anfifílica y la superficie de CNT, proporcionando nanotubos acuosos envueltos por tensioactivo.</p> <p>Se han utilizado varios anfifilos para suspender CNTs en soluciones acuosas, con dominios hidrofóbicos unidos a la superficie del nanotubo mediante fuerzas de van der Waals y efectos hidrofóbicos, y cabezas polares para la solubilidad en agua</p>
<p>Luo et al., 2016</p> <p>Toxicidad de los MWCNTs</p> <p>FUNCIONALIZADO</p>	<p>Se evaluaron los posibles efectos toxicológicos de los nanotubos de carbono de paredes múltiples oxidadas (O-MWCNT) en macrófagos RAW 264.7 in vitro. Las células se trataron con suspensiones de p-MWCNT u O-MWCNT a concentraciones de 0,2, 2, 20, 100, 200 o 400 µg / ml durante 6, 24, 48 o 72 h.</p> <p>Se llevaron a cabo varios criterios de valoración toxicológicos, como la viabilidad celular, la liberación de LDH e IL-8, la relación GSH / GSSG, la concentración de calcio intracelular y los cambios ultraestructurales en la morfología celular.</p>	<p>Los O-MWCNT se prepararon como sigue. En primer lugar, se oxidaron y cortaron 500 mg de p-MWCNT mediante la mezcla de H₂SO₄ y HNO₃ (300 mL, V / V = 3: 1) bajo ultrasonidos durante 4 ha 40 ° C</p> <p>Síntesis mediante el método de deposición química en fase de vapor</p> <p>La longitud de los p-MWCNT varía de varios micrones a decenas de micrones, mientras que la longitud de los O-MWCNT es principalmente inferior a 1 µm con un promedio de 341 nm</p>	<p>Los ensayos MTS, LDH y Anexina V-FITC & PI que se usaron, revela que los O-MWCNT tenían efectos muy limitados sobre el estrés oxidativo, la toxicidad celular y la apoptosis a concentraciones inferiores a 400 µg / ml.</p> <p>El TEM demuestra que los macrófagos RAW 264.7 tratados a una dosis de 200 µg / ml de O-MWCNT durante 24 h, englobaron posiblemente por difusión pasiva a muchos O-MWCNT, y algunos de ellos residían en vacuolas citoplasmáticas, sin que alteraran la morfología. Como control, los MWCNT prístinos (p-MWCNT) muestran una mayor citotoxicidad a una concentración de 200 y 400 µg/mL, lo que daña la viabilidad celular e induce la apoptosis celular</p> <p>Cuando la concentración tratada es superior a 100 µg / ml, los p-MWCNT inducen una viabilidad celular dramáticamente disminuida, una mayor liberación de LDH y apoptosis de macrófagos</p> <p>Incluso a una concentración de 400 µg / ml, los O-MWCNT no inducen una respuesta al estrés oxidativo, lo que se refleja en la menor disminución de la proporción celular GSH / GSSG</p>

<p>Kam et al., (2005)</p> <p>Menor toxicidad de los SWCNTs (PEG)</p> <p>FUNCIONALIZADO</p>	<p>Se cultivaron células HeLa (una línea celular adherente) en placas de 12 pocillos, habiéndose sembrado las células durante 18 h antes de la incubación. Se añadió Cy-DNA-SWCNT a cada pocillo (1x 10⁵ células por pocillo) a una concentración final de 2.5 a 5 mg/L</p>	<p>Los SWCNT de Asgrow Hipco, se mezclaron con una solución acuosa 20 M de ADN monocatenario marcado con Cy3 y la concentración inicial de SWNT fue de 250 mg. La secuencia de ADN era TGGACAAGTGGATGX, donde X denotaba el marcador fluorescente Cy3. Después los SWCNT se funcionalizaron con varios fosfolípidos (PL), PL con un resto de polietilenglicol (PEG) y un grupo terminal de ácido fólico (FA) (PL-PEG-FA) obteniendo finalmente Cy-DNA-SWCNT</p> <p>SWCNT: masa molecular 170 kDa; longitud de 150 nm y diámetro de 1.2 nm)</p>	<p>Sus resultados mostraron que los SWCNTs son transportadores o portadores moleculares con absorbancia óptica muy alta en el régimen NIR.</p> <p>Los pulsos NIR pueden inducir el calentamiento local de los SWCNT in vitro para la ruptura del endosoma y la liberación de cargas moleculares para alcanzar los objetivos previstos sin dañar las células. Por otro lado, la destrucción selectiva de células (cancerosas) que sobreexpresan marcadores tumorales se puede lograr mediante la administración selectiva de nanotubos dentro de las células a través de vías de captación mediadas por receptores y muerte desencadenada por NIR.</p> <p>El esquema de funcionalización del SWCNT por ligandos de PEG puede generalizarse a varios ligandos o anticuerpos dirigidos a tipos de células (cancerosas) muy específicas.</p>
<p>Lam et al.,2004</p> <p>Toxicidad SWCNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p> <p>DISPERSIÓN</p>	<p>Los ratones (macho B6C3F1, de 2 meses de edad y 30 g de peso)se instilaron por vía intratraqueal con 0.1 o 0.5 mg de SWCNT, un control negativo de hollín y un control positivo de cuarzo y se sacrificaron 7 o 90 días después del tratamiento único para el estudio histopatológico de los pulmones</p> <p>Preparamos las suspensiones de los SWCNT fue de: 2 mg / ml (0,1 mg / 50 µl) y 10 mg / ml (0,5 mg / 50 µl)</p>	<p>Se utilizaron 3 diferentes SWCNTs elaborados por diferentes métodos y que contienen diferentes tipos o cantidades de metales residuales, eran productos:</p> <p>1) HiPco por deposición química de vapor (RNT); 2) purificados por láser (PNT) que contenían hierro; 3) productos de descarga de arco eléctrico (CNT) que contenían níquel de 1 nm de diámetro y varias micras de largo,</p>	<p>Todos los SWCNTs indujeron granulomas epitelioides dependientes de la dosis. A los ratones con una dosis de 0.5 mg de RNT HiPco produjeron los granulomas más prominentes. En algunos casos se produjo inflamación intersticial en los animales de los grupos de 7 días. Estas lesiones persistieron y fueron más pronunciadas en los grupos de 90 días; los pulmones de algunos animales también revelaron inflamación y necrosis peribronquial que se había extendido a los tabiques alveolares.</p> <p>Los SWCNTs, sin importar el tipo y la cantidad de impurezas metálicas , son mucho más tóxicos que el hollín y el cuarzo.</p> <p>La agitación suave (soplar aire sobre el material agitado en un vórtice)de los HiPco™ RNT producía grandes aglomeraciones en el aire.</p>
<p>Lam et al., 2006</p> <p>Toxicidad SWCNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p> <p>REVISIÓN</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>No menciona por ser artículo de revisión</p>	<p>Las fuerzas de van der Waals hacen que los SWCNT tengan una fuerte tendencia a agruparse en cuerdas microscópicas, que pueden contener hasta unos pocos cientos de tubos paralelos. Estas estructuras secundarias, a su vez, forman grumos sueltos, que pueden transportarse por el aire, pero en su mayoría son más grandes que el tamaño respirable.</p> <p>La dificultad técnica y el costo asociados con la experimentación de toxicidad por inhalación de CNTs han llevado a los investigadores a evaluar los efectos de las nanopartículas aéreas en los pulmones por instilación intratraqueal (ITI)</p>

<p>Johnson et al., 2010</p> <p>Toxicidad SWCNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p> <p>DISPERSIÓN</p>	<p>Se investigó el potencial de liberación de nanopartículas de carbono en un ambiente de sonicación y de peso en seco por balanza analítica.</p> <p>Se pesaron de 4 a 200 mg de MWCNTs, y se sonicaron 100 mg / L de MWCNTs.</p> <p>Se usó un contador de partículas portátil HHPC-6 para determinar la concentración del número de partículas en el aire de ambos procesos</p>	<p>Nanotubos de carbono de paredes múltiples sin procesar (P-MWCNT) (diámetro exterior, 10 a 20 nm; longitud, 10 a 30 µm; pureza > 95%) y MWCNT funcionalizado (es decir, hidroxilado; MWCNT-OH) (diámetro exterior, 20 a 30 nm; longitud, 10-30 µm; > 95% de pureza)</p>	<p>Los MWCNTs pueden transportarse por el aire cuando se mezclan en solución mediante sonicación, especialmente cuando están funcionalizados (MWCNT-OH)</p> <p>Se observó una concentración aérea muy alta de P-MWCNT cuando se pesó en seco justo con un tamaño de partícula de 300 nm (70,000 partículas / L de P-MWCNT y 13,694 partículas / L de MWCNT-OH), seguido del tamaño de 500 nm (34 446 partículas / L de P-MWCNT y 3,065 partículas / L de MWCNT-OH).</p> <p>La sonicación de MWCNT-OH en una suspensión de agua con 100 mg / L, resultó en concentraciones de número de partículas en el aire dramáticamente más altas en comparación con la manipulación en seco: las concentraciones de número de partículas más altas estuvieron en el rango de tamaño de 300 nm (144,623 partículas / L de MWCNT-OH y 42,796 partículas / L de P-MWCNT. Este hallazgo indica que los trabajadores de laboratorio pueden tener un mayor riesgo de exposición a nanomateriales artificiales.</p>
<p>Maynard et al., 2004</p> <p>Toxicidad de los SWCNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>Se llevó a cabo un estudio de laboratorio para evaluar la naturaleza física del aerosol formado a partir de SWCNT durante la agitación mecánica. Esto se complementó con un estudio de campo en el que se investigó la exposición dérmica y aérea a SWCNT mientras se manipulaba material sin refinar</p>	<p>Se colocaron cuarenta miligramos de SWCNT de ablación con láser en el generador al 55% de agitación máxima, y se midieron partículas entre 12 nm y 10 µm.</p> <p>Las muestras de campo se recolectaron de los guantes de los trabajadores</p>	<p>Aunque los estudios de laboratorio indicaron que con suficiente agitación, el material SWCNT sin refinar puede liberar partículas finas en el aire, las concentraciones generadas durante la manipulación del material en el campo fueron muy bajas.</p> <p>Las estimaciones de la concentración de nanotubos en el aire generada durante la manipulación sugieren que las concentraciones fueron inferiores a 53 g / m³ en todos los casos. Los depósitos de SWCNT en los guantes durante la manipulación se estimaron entre 0.2 mg y 6 mg por mano.</p>
<p>Monteiro-Riviere et al., 2005</p> <p>Translocación de los SWCNTs por vías de absorción disponibles en la piel</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>Se expusieron queratinocitos epidérmicos humanos (HEK) a 0.1, 0.2 y 0.4 mg / ml de nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWCNT) durante 1, 2, 4, 8, 12, 24 y 48 h.</p>	<p>Se utilizaron películas de MWCNTs alineadas verticalmente sintetizadas por deposición de vapor químico</p> <p>Las películas tenían un grosor de 50 µm y un diámetro medio aproximado de 100 nm, cada película tenían 1 x 10¹⁰ nanotubos / cm²</p>	<p>El 84% de los queratinocitos tratados con 0,4 mg / ml estaban afectados a las 48 h. Aunque solo se observaron nanotubos relativamente cortos (de hasta 3,6 µm de longitud) dentro de las células.</p> <p>Los MWCNT son capaces de penetrar en los queratinocitos humanos y de provocar un efecto biológico manifestado por la liberación de IL-8. El mecanismo tanto de la penetración como del efecto queda por dilucidar.</p>

<p>Rouse et al., 2007</p> <p>Permeabilidad fullereno</p>	<p>La piel porcina se fijó a un dispositivo de flexión y se dosificó tópicamente con 33.5 mg, ml⁻¹ de Baa-Lys (FITC) -NLS. La piel se flexionó durante 60 o 90 min o se dejó sin flexión (control).</p>	<p>Se preparó una solución acuosa de un derivado de fenilalanina sustituida con fullereno (Baa) de una secuencia de péptidos de localización nuclear (Baa-Lys (FITC) -NLS)</p>	<p>El Baa-Lys (FITC) -NLS penetró en la piel a las 8 h.). Los fullerenos se localizaron principalmente en las capas epidérmicas de la piel de control no flexionada, mientras que las muestras flexionadas de 60 y 90 min mostraron evidencia de mayor penetración epidérmica (60 min) y dérmica (90 min)</p>
<p>Murray et al., 2009</p> <p>Toxicidad dérmica de SWCNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>Se evaluaron los efectos de SWCNT tanto en la piel modificada con EpiDerm FT, células epidérmicas murinas (JB6 P +) y ratones SKH-1 (3 a 4 semanas; 16 a 18 g de peso corporal) sin pelo inmunocompetentes.</p> <p>Los tejidos se expusieron a 75 µg de SWCNT. Los ratones se expusieron a SWCNT sin purificar (30% en peso de hierro; 40, 80 y 160 µg / ratón en agua desionizada) diariamente durante 5 días</p>	<p>Se usaron SWCNT prístinos fabricados por la técnica de desproporción de moléculas de carbono gaseoso soportadas sobre partículas de hierro catalítico (CO a alta presión, HiPCO)</p> <p>Tenían un diámetro aproximado de 1 nm y una pureza un 99,7%</p>	<p>La piel diseñada expuesta a SWCNT mostró un aumento del grosor epidérmico y la acumulación y activación de fibroblastos dérmicos, lo que resultó en un aumento de colágeno y la liberación de citocinas proinflamatorias. La exposición de las células JB6 P + a SWCNT sin purificar (30% de hierro) dio como resultado la producción de radicales hidroxilo detectables por ESR y provocó una activación significativa dependiente de la dosis de AP-1.</p> <p>La exposición tópica de ratones SKH-1 a SWCNT provocó estrés oxidativo, agotamiento de glutatión, oxidación de tioles y carbonilos de proteínas, elevado actividad mieloperoxidasa, aumento del número de células dérmicas y engrosamiento de la piel como resultado de la acumulación de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y mastocitos</p>
<p>Huczko y Lange 2001</p> <p>Sin toxicidad dérmica de SWCNTs</p> <p>PRÍSTINOS</p>	<p>Cuarenta voluntarios que reportaron diversas irritaciones y susceptibilidades alérgicas fueron sometidos a una prueba de parche (papel de filtro Whatman 3 saturado con suspensión de agua de hollín) y controlado durante 96 horas</p>	<p>Se produjo hollín con un alto contenido de nanotubos de carbono por medio de la técnica de descarga de arco</p>	<p>La prueba del parche mostró resultados negativos después de 96 horas. Se obtuvieron los mismos resultados tanto para el hollín que contiene nanotubos de carbono como para un material de referencia. Por lo tanto, dados los resultados consistentes de estos dos métodos, es poco probable que trabajar con un hollín que contenga CNT esté asociado con algún riesgo de irritación de la piel y alergia.</p>

5.1 Biodistribución de CNTs

De los 18 artículos analizados sobre biodistribución de CNTs, se encontró que el 16.6% corresponde a estudios con nanotubos prístinos y un 83.3 % de los estudios se realizaron con nanotubos de carbono funcionalizados (Figura 6).

Para investigar el perfil de biodistribución de los CNTs, varios grupos de investigación utilizaron diferentes métodos de seguimiento para determinar cualitativa y cuantitativamente el sitio preferencial de acumulación de CNTs. Entre los más usados están los métodos etiquetado isotópico (I, Cu, In y ^{14}C), la espectroscopía Raman y la técnica de microscopía TEM, estos tres métodos ofrecen ventajas como una alta sensibilidad, una buena precisión y una gran rapidez (Lin et al., 2013; Yang et al., 2007).

Dado que para rastrear la biodistribución se utiliza frecuentemente el radiomarcaje, la funcionalización con isótopos radiactivos resultó ser un método más frecuente en los artículos, debido a que es una técnica simple, facilita la detección, tiene una alta sensibilidad y sus resultados confiables casi libres de interferencias externas. Por lo anterior, el radiomarcaje con isótopos podría ser la mejor técnica para la detección y análisis cuantitativo de CNTs en los sistemas vivos (Lin et al., 2013).

Por otra parte, tanto la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) como la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) implementan regulaciones para la aprobación de medicamentos genéricos convencionales de moléculas pequeñas. Estas regulaciones, que incluyen a fármacos con nanomateriales, se basan en la interacción fármaco-célula y las propiedades de distribución tisular de un fármaco, los cuales, pueden garantizarse mediante una caracterización completa del fármaco, que incluye, entre otros, la composición del producto, las cargas superficiales de las partículas y las distribuciones del tamaño de las partícula (Zheng et al., 2017).

Entre los métodos que más utilizan y recomienda la FDA para caracterización completa del fármaco se encuentra: la dispersión dinámica de luz (DLS), la difracción láser, el microscopio electrónico de transmisión (TEM), el microscopio electrónico de barrido (SEM) y el microscopio de fuerza atómica (AFM) (Alexis et

al., 2008 y D'Mello et al., 2017). Sin embargo, casi no existen recomendaciones o revisiones sobre los mejores métodos para cuantificar, en estudios preclínicos, la biodistribución de los nanomateriales como lo son los nanotubos de carbono (Lin et al., 2013).

Debido a lo anterior, aún quedan muchas preguntas y oportunidades para investigar sobre los métodos para la biodistribución de nanotubos carbono.

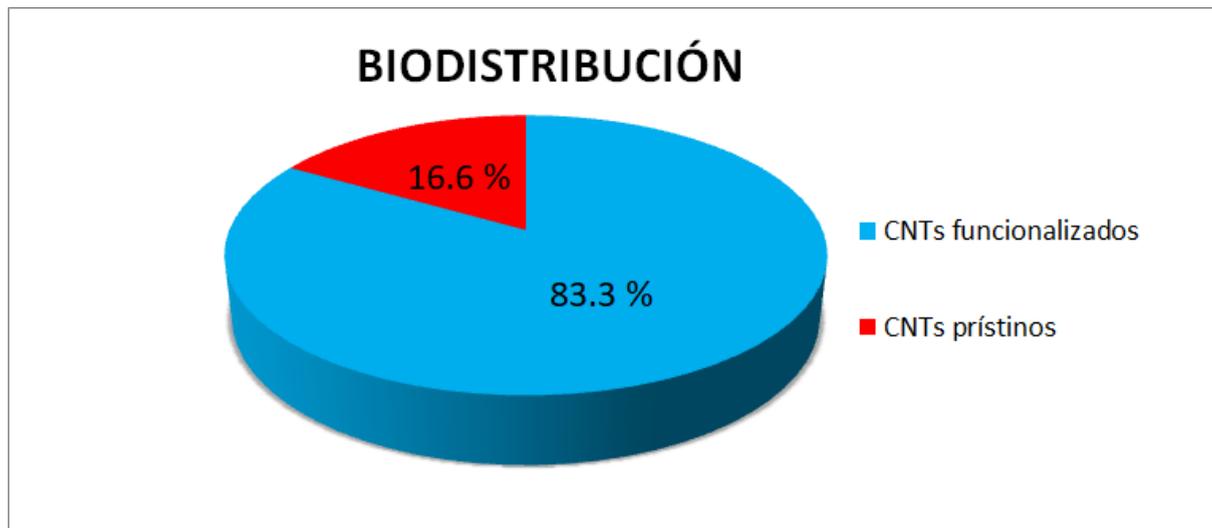


Figura 6. Porcentaje de artículos revisados sobre biodistribución de CNTs divididos en dos grupos.

De igual forma, en los 18 artículos se analizó la biodistribución en base al análisis de órganos y tejidos, a los cuales, los CNTs se habían distribuido o acumulado principalmente.

El análisis mostró que el 27 % de los artículos indicaron que los nanotubos prístinos se acumulan principalmente en hígado, bazo o pulmón, esto debido a que tienden a aglomerarse y ser poco dispersos en el sistema circulatorio (Yang y et al., 2007; Liu et al., 2010). Lo que provoca que sean capturados por células fagocíticas mononucleares del sistema retículo endotelial (RES) y finalmente transportados a los órganos antes mencionados (Figura 7) (Cherukuri et al., 2006).

Por otro lado, el otro 27 % de los artículos indicaron que los nanotubos funcionalizados se biodistribuyeron principalmente a través del sistema circulatorio,

aumentando su vida media en circulación (Figura 7). La razón a esto, es que los CNTs funcionalizados tienden a dispersarse en medios acuosos, de igual forma pueden tener un grupo funcional con características polares, lo que facilita aún más esta dispersión y, al mismo tiempo, evita que sean capturados por el sistema RES (Wang et al., 2004 y Alberdi et al., 2013).

En la gráfica 3, se muestra que el 44 % de los artículos reportan que la principal vía de excreción de los CNTs funcionalizados es a través de la vía renal. La razón por la cual ocurre esto, es debido a que la funcionalización de los CNTs permite que sean tubos individuales, los cuales pueden pasar a través del filtrado glomerular de manera vertical y sin dificultades (Ruggiero et al. 2010 y Lacerda et al., 2008).

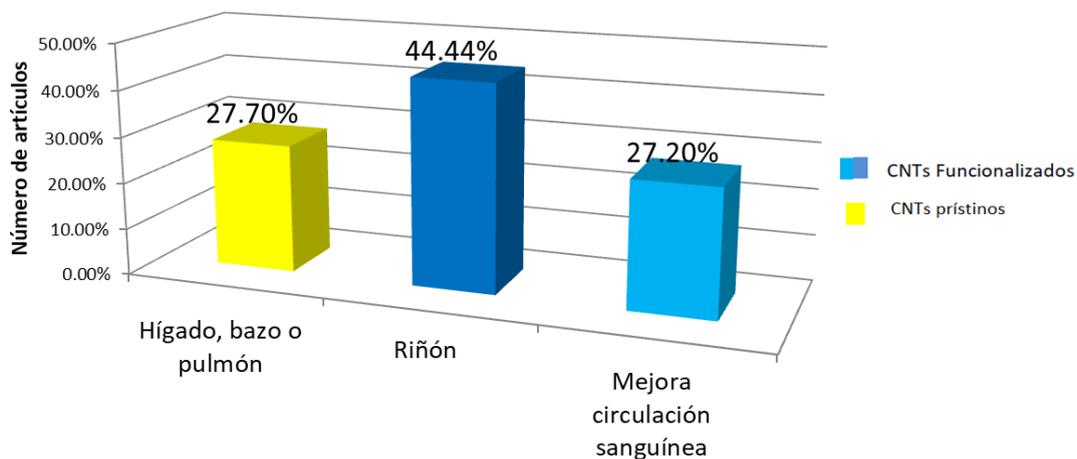


Figura 7. Porcentaje de artículos revisados sobre biodistribución de CNTs divididos conforme al objetivo del estudio

5.1.1 Principales hallazgos sobre biodistribución de CNTs

Diversos estudios han observado la acumulación de CNTs en órganos vitales como hígado y pulmones, y reportado cierta persistencia en ellos de hasta 3 y 3.5 meses respectivamente (Kobayashi et al., 2017; Yang et al, 2008). Por lo tanto, existe una creciente necesidad de comprender su absorción, distribución, metabolismo, excreción, y sus propiedades farmacológicas y toxicológicas de CNTs en modelos *in vivo* (Yang et al., 2007; Lin et al., 2013).

La forma más rápida de poder entender todos estos aspectos es investigando la biodistribución de los CNTs, la cual nos indicará la distribución de los CNTs en todos los órganos o tejidos de un organismo, así como su comportamiento y destino específico. Esto con el fin de evaluar la bioseguridad y toxicología de los CNTs, para las aplicaciones que se proponen para esta clase de nanomateriales (Liu et al., 2010).

A continuación describiremos y analizaremos los estudios que se utilizaron para este trabajo. Para su análisis se dividió en dos grupos: el primero son los estudios que utilizaron a nanotubos de carbono prístinos o recubiertos de forma no covalente; el segundo grupo corresponde a los estudios que utilizan nanotubos de carbono biomodificados de forma covalente.

5.1.1.1 Nanotubos de carbono prístinos y modificados vía no covalente

Se les considera prístinos a los nanotubos de carbono que no han sufrido ninguna funcionalización o modificación química. De igual forma se ha decidido incluir en este apartado a los CNTs prístinos con modificación no covalente debido a que su biodistribución y farmacocinética es muy similar a la de los CNTs prístinos.

Comenzaremos hablando del estudio realizado por Yang y colaboradores, 2007 ya que fue uno de los primeros estudios realizados para entender la biodistribución de los CNTs prístinos y uno de los más completos. En este estudio, ellos inyectaron en la vena de la cola de ratones con una suspensión 200 µg/200 µL de SWCNTs prístinos (SWCNT-P), para este estudio los nanotubos se enriquecieron con isótopos de *carbono-13* (^{13}C) dentro de su estructura para observar su biodistribución. En el estudio se observó que los SWCNT-P se distribuyeron en todo el cuerpo, con grandes acumulaciones en hígado, pulmones y bazo durante un período prolongado (28 días) (Figura 8). Otro aspecto sobresaliente es que a través de análisis de microscopía de TEM, observaron SWCNT-P en hígado, pulmones y bazo. Según lo observado los nanotubos permanecieron intactos y sugirieron que los SWCNTs son inalterables frente a mecanismos de eliminación o al metabolismo.

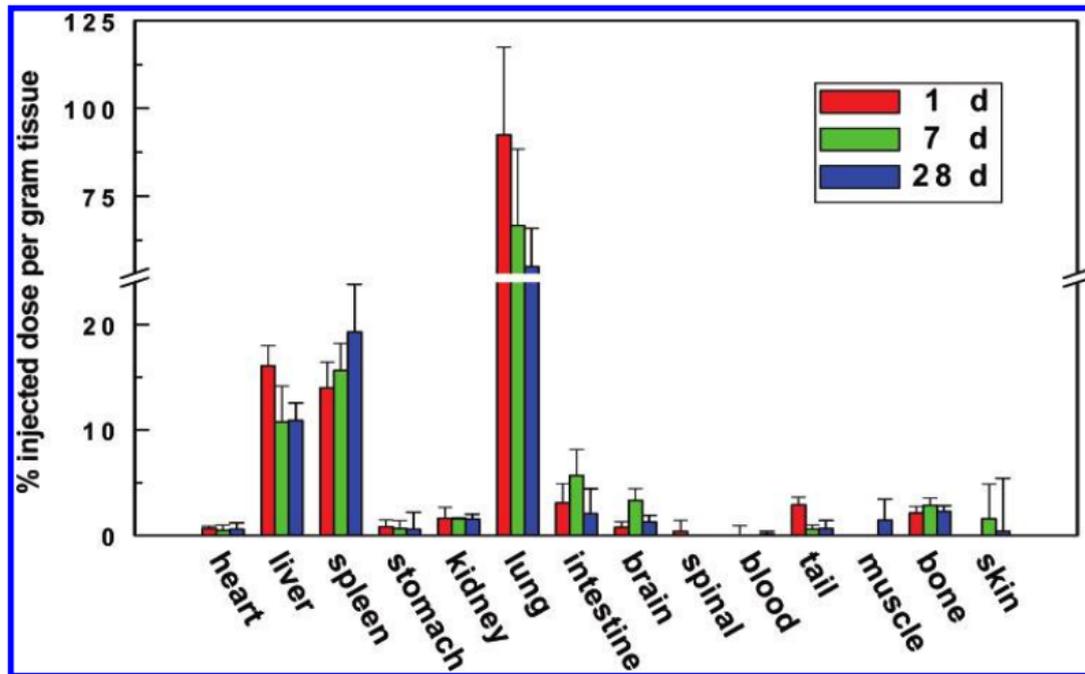


Figura 8. Biodistribución de SWCNTs prístinos (13C-SWNT) en ratones en diferentes momentos posteriores a la exposición (Yang et al. , 2007).

También encontraron una pequeña acumulación de SWCNT-P en el cerebro a los 28 días del período experimental. Los autores sugirieron que los nanotubos pudieron superar la barrera hematoencefálica para ingresar al cerebro (posiblemente internalizados por las células endoteliales capilares del cerebro a través de la fagocitosis) .

Por último, los autores utilizaron los análisis TEM para detectar los nanotubos dentro de los tejidos y explorar un posible mecanismo de captación. De las imágenes TEM que se obtuvieron a partir de secciones ultrafinas del hígado, encontraron que los SWCNT-P estaban atrapados en el fagosoma de macrófagos hepáticos (células de Kupffer) (Figura 9). Sugirieron que las altas acumulaciones de SWCNT-P en órganos como el hígado, el bazo y los pulmones, se da por una rápida absorción de los nanotubos por los fagocitos mononucleares en el sistema reticuloendotelial (RES). Por lo que, concluyeron que el RES es el destino de estos nanomateriales en modelos *in vivo*.

Por el contrario, en otro artículo realizado por Singh et al. 2006 donde utilizaron SWCNTs funcionalizados con un quelante dietilentriamina penta acética (DTPA) marcado con indio (^{111}In) para fines de formación de imágenes, reportan que no se

acumulan en ninguno de los órganos del sistema reticuloendotelial (hígado o bazo) y se elimina rápidamente de la circulación sanguínea sistémica a través de la vía de excreción renal con una semivida de 3 h (Singh et al., 2006).

Como habían reportado Yang y colaboradores, 2007 que los CNTs prístinos se acumulaban en órganos RES (hígado o bazo) y pulmón, en este último artículo Singh y colaboradores, 2006 demuestran que la funcionalización de CNTs con el quelante DTPA puede ser la causa de que no se acumulen en órganos RES, lo que da pauta a considerar que la funcionalización puede modificar el destino *in vivo* de los CNTs.

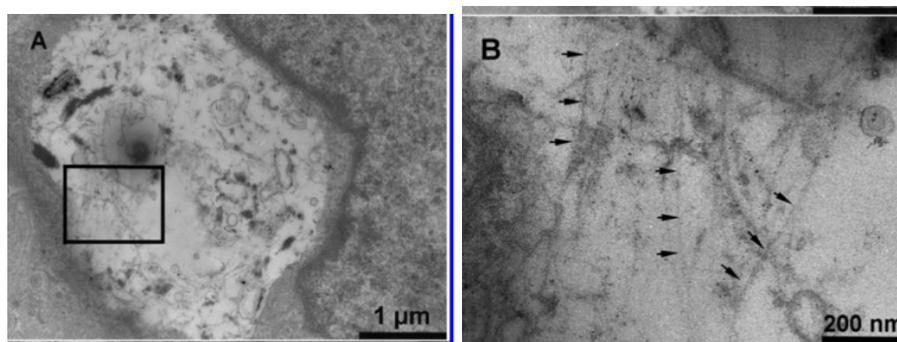


Figura 9. Imágenes TEM de secciones de hígado. (A) Nanotubos atrapados en un fagosoma de la célula Kupffer. (B) Un acercamiento a la sección señalada en el rectángulo en A, con flechas negras señalando los nanotubos. (Yang et al., 2007).

Aunado a esto, en una revisión de Liu y sus colaboradores, 2010 plantean que los CNTs prístinos tienen una tendencia general a ser capturados en gran medida por el sistema RES. Esto ocurre debido a que los CNTs pueden unirse fácilmente a proteínas plasmáticas, como por ejemplo albúmina u opsoninas. Estas proteínas pueden tener interacciones superficiales con los CNTs y de esta forma ser fácilmente reconocidas y capturadas por RES (Liu et al., 2010).

También mencionan que los SWCNT-P tienen una gran tendencia a aglomerarse en racimos apretados. Por lo que, un gran grupo de CNTs incrementará su captura por RES. Los SWCNTs prístinos son difíciles de tratar, porque son muy difíciles de dispersar y no forman suspensiones estables. Para que los SWCNT-P tengan una mejor solubilidad y dispersión en agua, es necesario una modificación covalente o no covalente.

En un estudio alusivo, Cherukuri et al. 2006 estudiaron la biodistribución y la farmacocinética de los SWCNT-P dispersos con una envoltura de surfactante Pluronic F108 unida no covalentemente. En este estudio realizaron una centrifugación para eliminar los SWCNT-P agregados, y se administraron SWCNT-P dispersos en conejos por medio de una inyección intravenosa. Se utilizó la fluorescencia infrarroja cercana intrínseca como método de seguimiento para la acumulación intracelular de los SWCNTs.

Sus resultados mostraron que los SWCNT-P se acumularon principalmente en el hígado y fueron casi indetectables en riñones, pulmones, bazo, corazón, cerebro, médula espinal, hueso, músculo, páncreas, intestino y piel a las 24 hrs posteriores a la exposición. Además se exhibió un aclaramiento (eliminación) sanguíneo muy rápido ($t_{1/2} = 1$ h), esta rápida eliminación sanguínea la atribuyeron posiblemente a que las proteínas séricas circundantes desplazaron la envoltura del surfactante Pluronic F108 y se adhieren a la superficie del nanotubo. Esto generó un posible reconocimiento por células de Kupffer y llevadas directamente al hígado, evitando así su excreción renal (Cherukuri et al., 2006).

En otro estudio, Liu y col. 2006 investigaron la biodistribución de SWCNTs recubiertos no covalentemente con fosfolípidos pegilados (PL-PEG), mediante tomografía por emisión de positrones (PET) y espectroscopía Raman en un modelo animal con un tumor. Se investigó cuál era el efecto de utilizar dos diferentes tipos de polietilenglicol (PEG-2000 y PEG-5400) y el péptido RGD (arginina-glicina-ácido aspártico) para observar la biodistribución y la capacidad de direccionamiento tumoral de los SWCNTs en ratones. En sus resultados observaron una acumulación en el hígado y el bazo sin importar el tipo de SWCNT recubierto de PEG 2000 o PEG 5400, y una menor captación en el tumor, músculo, hueso, piel y otros órganos (Figura 10). Además los SWCNTs PEGilados (PEG 2000 y PEG 5400) exhibieron tiempos de circulación sanguínea relativamente largos (semivida de 10.25 y 11 horas respectivamente) y una baja captación por el sistema (RES). También se encontró que la localización eficaz en células tumorales positivas a integrinas en ratones se logra con SWCNTs recubiertos con (PEG 5400-RGD) demostraron una mayor acumulación tumoral de 10-15% de DI por gramo de tejido (Liu et al., 2006).

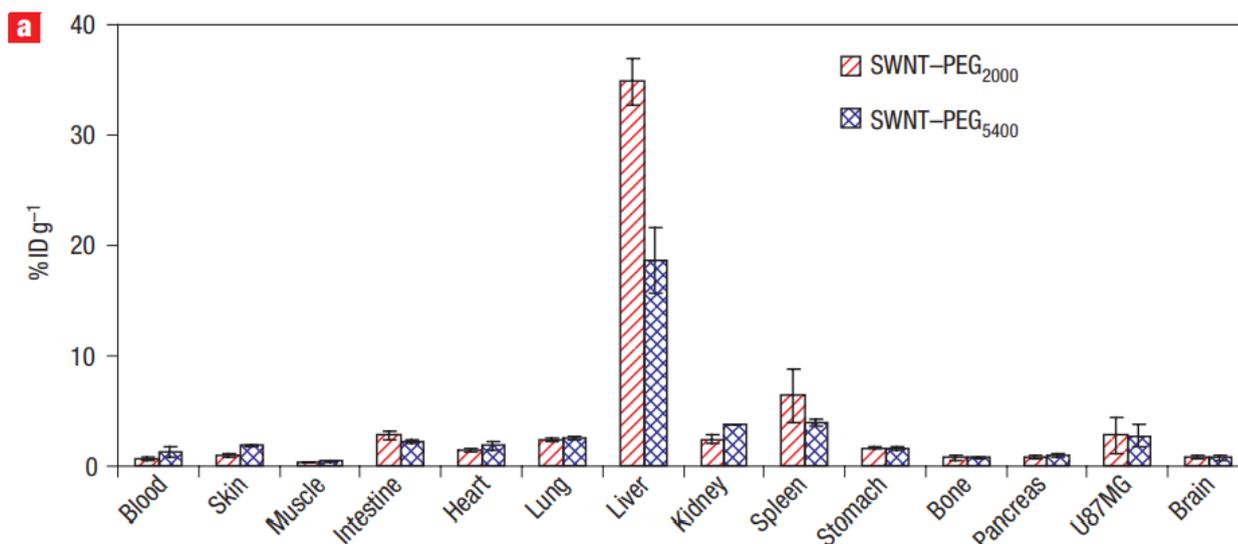


Figura 10. Biodistribución de SWCNTs en varios órganos a las 24 h después de la inyección en ratones (Liu et al., 2006).

En conclusión, se ha visto que los SWCNTs prístinos o los SWCNTs prístinos funcionalizados no covalentemente tienden a acumularse principalmente en los órganos RES (hígado y bazo) y el pulmón después de su administración (Yang y et al., 2007). Este reconocimiento por el sistema RES se debe en gran medida a que los CNTs tienden a aglomerarse y a captar proteínas plasmáticas, lo cual facilita su captura (Liu et al., 2010). Además, presenta un aclaramiento sanguíneo muy rápido (Cherukuri et al., 2006 y Liu et al., 2006).

5.1.1.2 Nanotubos de carbono modificados vía covalente

Con base en los estudios realizados sobre la biodistribución de los CNTs, se ha informado que la funcionalización, la agregación y la dispersión de los CNTs desempeñan un papel importante en su destino *in vivo* (Ali-Boucetta et al., 2013). De igual forma, en un estudio de Alberdi y col. 2013, sugieren que a las nanopartículas que tengan un recubrimiento hidrofílico podría evitar su captación y eliminación por el sistema RES (Alberdi et al., 2013). Debido a lo anterior, a continuación se describen y analizan los artículos en los cuales se haya utilizado algún CNT funcionalizado covalentemente para investigar su biodistribución.

Comenzaremos hablando sobre la PEGilación, ya que es un proceso muy común que se utiliza para aumentar la dispersión de los CNTs y, además, mejorar su vida

media en circulación. La PEGilación es un tipo funcionalización de un CNT con una molécula de polietilenglicol (PEG), esta funcionalización se puede realizar mediante fisorción y revestimiento del polímero alrededor del CNT o mediante unión covalente del polímero al CNT (Liu et al., 2008).

La capa polimérica PEG que recubre la superficie de los CNTs funge como un escudo contra la adsorción de proteínas (opsoninas), el reconocimiento por los macrófagos circulantes y los órganos RES, por lo que mejora su circulación sanguínea (Owens et al., 2006). Sin embargo, si los CNTs PEGliados son atrapados por los macrófagos hepáticos, estos últimos tendrían a biodefuncionalizar PEG de los CNTs a través de la acción enzimática (Yang et al., 2009).

El primer estudio para analizar la circulación sanguínea y biodistribución de CNTs PEGilados de forma covalente fue realizado por Yang y sus colaboradores en el 2008, ellos utilizaron SWCNTs enriquecidos con carbono-13 (^{13}C) y los funcionalizaron covalentemente con oligómeros de PEG terminados en diamina (peso molecular medio 1500, SWCNT-PEG1500N). Ellos encontraron que alrededor del 30% de la dosis inyectada (%ID) permaneció en la circulación sanguínea un día después de la exposición y calcularon en términos de la decadencia exponencial de primer orden que podía estar en circulación hasta 15.3 h. También encontraron que los SWCNT-PEG1500N tenían una alta dispersabilidad acuosa. Sin embargo y contrario a lo esperado, observaron captación en el hígado y el bazo hasta 7 días después de la inyección, como se confirmó mediante espectroscopía de masas de relación de isótopos.

En otro estudio similar, Bhirde y colaboradores (2010) investigaron a los SWCNTs funcionalizados con PEG como vehículos de administración del fármaco anticanceroso cisplatino, así como su destino *in vivo* en ratones. Los SWCNT-PEG se dispersaron eficazmente en medios acuosos en comparación con los controles, y no indujeron la apoptosis *in vitro*. A través de un examen histopatológico con hematoxilina y eosina encontraron que los SWCNT-PEG mostraron poca o ninguna acumulación en el pulmón. En contraste con los controles de SWCNTs prístinos que sí se acumularon en el tejido pulmonar como grandes agregados, causando respuestas inflamatorias debido a la presencia de células mononucleares inflamatorias. Después de 7 días, las bandas Raman características de los

SWCNTs encontradas en las heces de los ratones revelaron la presencia de rutas de excreción biliar o renal, por lo que concluyeron que los SWCNT-PEG pudieron estar en circulación hasta por 7 días en su cuerpo. La adhesión del cisplatino a los SWCNT-PEG se visualizó con microscopía electrónica de transmisión de barrido con contraste Z. El SWCNT-PEG-cisplatino inhibió con éxito el crecimiento de xenoinjertos de tumores HN12 inyectados en la cabeza y cuello de los ratones, exhibiendo un crecimiento del volumen tumoral del 6,25% entre los días 0 y 8. En contraste con el control, donde mostró un crecimiento del volumen tumoral del 55% entre los días 0 y 8. En conclusión, el SWCNT-cisplatino-EGF puede retardar eficazmente la progresión tumoral (Bhirde et al., 2010).

Aunque la PEGilación es uno de los procesos más comúnmente usados para aumentar la dispersibilidad de los CNTs, mejorar su circulación sanguínea y biocompatibilidad de los CNTs, no es el único. En muchas ocasiones se utilizan métodos químicos de oxidación para generar grupos funcionales como los hidroxilo y carboxilo en la superficie de los CNTs y así hacerlos más hidrosolubles, dispersables y biocompatibles con el cuerpo del huésped (Jain et al., 2011; Wang et al., 2004).

Un ejemplo de esto es el estudio realizado por Wang et al. 2004, ellos utilizaron SWCNTs hidroxilados y solubles en agua marcados con el radioisótopo yodo 125 (I125-SWCNT-OH) con el fin de estudiar su distribución en ratones. Para oxidar a los SWCNTs usaron un método mecano-químico en fase sólida, el cual consiste en hacer reaccionar a la superficie de los CNTs con hidróxido de potasio mediante movimientos mecánicos/energéticos a una temperatura ambiente. La reacción produce SWCNTs modificados directamente con múltiples grupos hidroxilos que son solubles en agua y que pueden autoensamblarse fácilmente en matrices compactas y alineadas. Sus resultados muestran una rápida distribución de I125-SWCNT-OH en la mayoría de los órganos, pero con mayor acumulación en el estómago, los riñones y los huesos (Figura 11).

También demostraron que los SWCNTs hidroxilados pueden moverse libre y rápidamente para alcanzar los objetivos adecuados en todo el cuerpo del ratón, comportándose como las típicas moléculas pequeñas. Se le atribuye este novedoso comportamiento biológico a su estructura de red excepcionalmente compacta y a su

buena biocompatibilidad dada por la hidroxilación. Otro punto a considerar es que, se encontró que los 125I-SWCNT-OH se excretan principalmente a través de la orina (Wang et al. 2004).

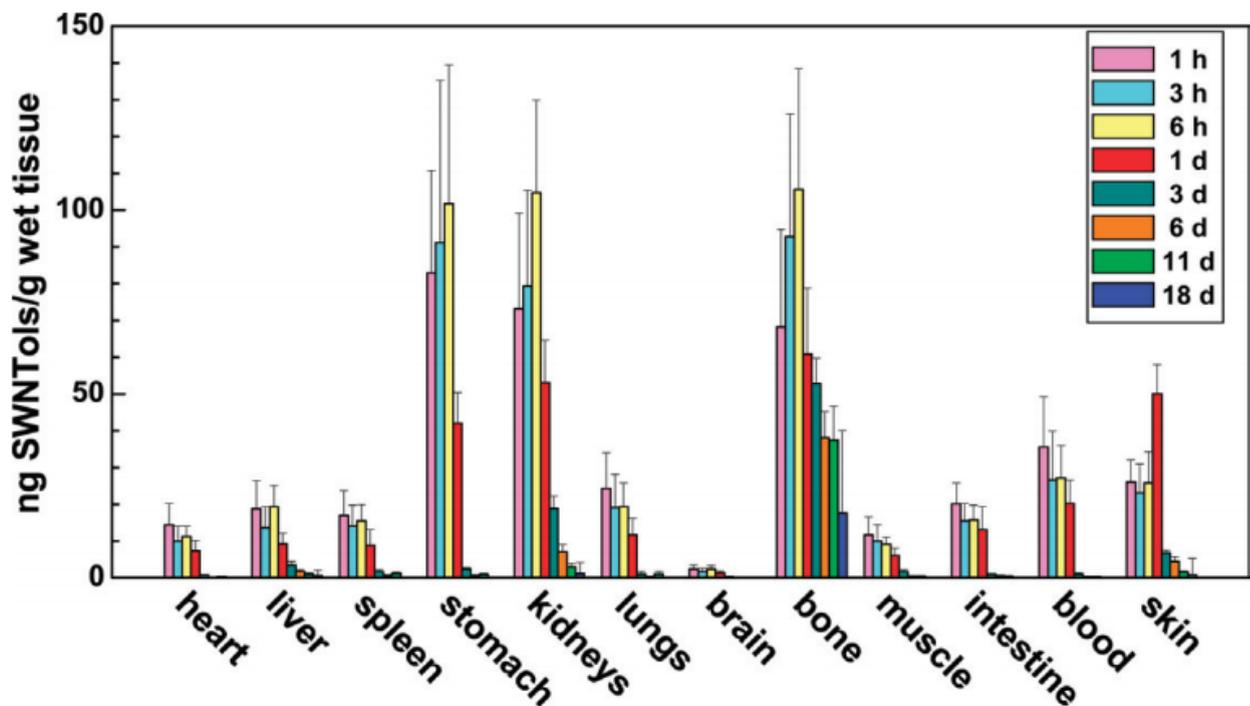


Figura 11. Histograma de biodistribución de 125I-SWCNT-OH (3,52 10⁶ cpm /ml, 15 g / ml) en ratones en ocho intervalos de tiempo diferentes (Wang et al.,2004).

Análogamente, en otro estudio Wang et al. 2008 analizaron el destino *in vivo* de 131I-SWCNT-OH. Observaron que entre los 2 y 60 minutos posteriores a la inyección los 131I-SWCNT-OH se acumularon principalmente en riñones, huesos, hígado, bazo, estómago y pulmones, y en menor medida en corazón, músculo y piel (Figura 12). No encontraron captación en el cerebro. El contenido de 131I-SWCNT-OH en varios tejidos, como el corazón, los pulmones y los músculos, tiene una correlación con su contenido en la sangre, lo que los llevó a sugerir que el torrente sanguíneo es el principal medio de transporte de los 131I-SWCNT-OH.

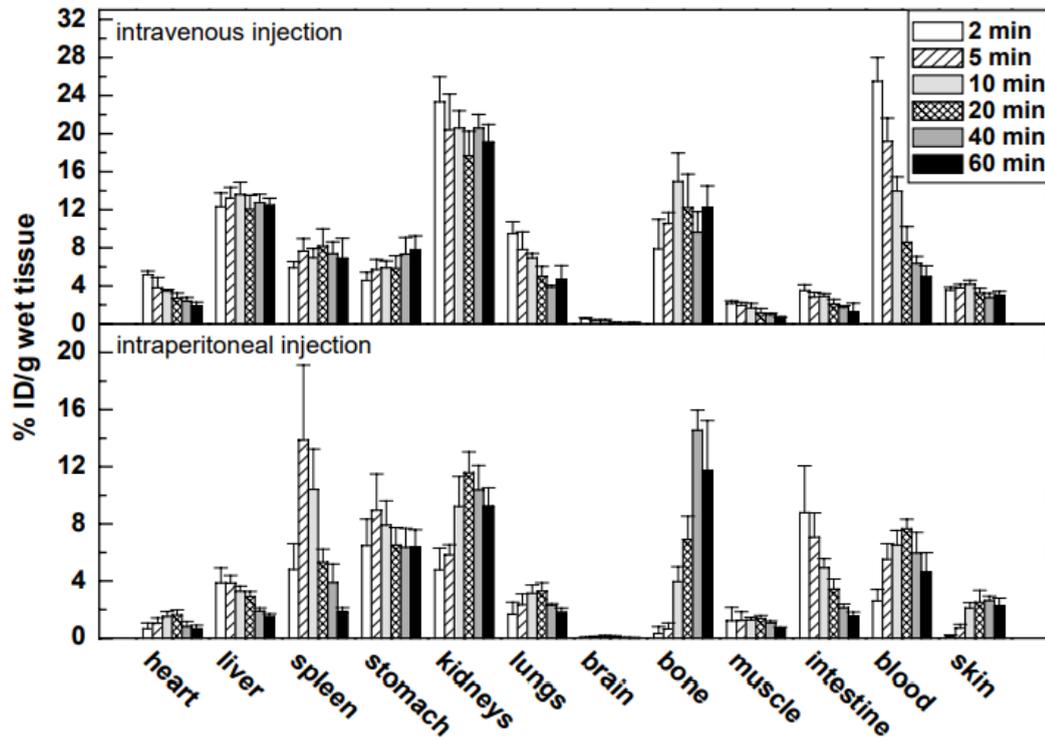


Figura 12. Histogramas de biodistribución de ¹³¹I-SWCNT-OH en ratones por administración vía i.v. y i.p. en diferentes intervalos de tiempo (Wang et al., 2008).

Contrario a los estudios anteriores en donde se hidroxilo a los SWCNTs para hacerlos solubles en agua y compatibles con el fluido corporal, Lin y colaboradores (2013), marcaron SWCNTs con el radioisótopo yodo-125 (¹²⁵I) y sin hidroxilar para determinar su distribución en ratas. Ellos encontraron que la radiactividad total administrada se localiza principalmente en la tráquea seguida por la orina, estómago, intestino delgado, suero, vejiga, vaso sanguíneo, riñón, hígado, pulmón, suprarrenal, cabeza femoral, bazo, testículo, timo, tiroides, corazón, grasa, músculo y cerebro (Figura 13). Aunque este método es muy efectivo para observar la biodistribución, ellos recomiendan realizar el experimento en un curso temporal de 24 h, ya que en condiciones fisiológicas el enlace I-C covalente es bastante fácil de romper y los radioisótopos ¹²⁵I disociados de los SWCNTs pueden dirigirse a la glándula tiroides con el transcurso del tiempo, dando así falsos positivos (Lin et al., 2013).

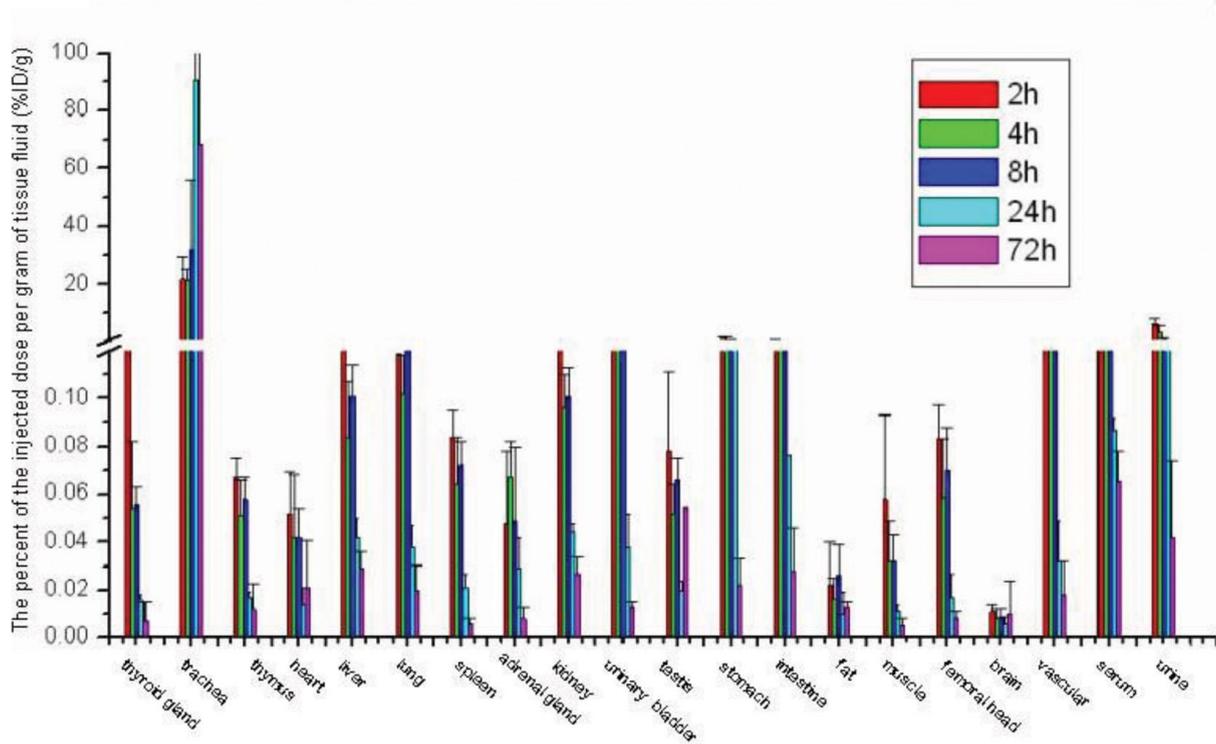


Figura 13. Histograma de biodistribución de ^{125}I -SWCNT en ratas en cinco intervalos de tiempo diferentes mediante instilación intratraqueal (Lin et al., 2013).

Curiosamente en casi todos los estudios mencionados hasta el momento, existe una concordancia de que los CNTs funcionalizados covalentemente, se acumulan o eliminan a través de la vía renal. Siguiendo el hilo con esto Guo y col. 2007 comunicaron un estudio de biodistribución muy similar, en el que funcionalizaron MWCNTs con glucosamina, posteriormente los marcaron con el radioisótopo tecnecio-99 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MWCNT-glu) y los inyectaron en ratones. Encontraron que el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MWCNT-glu se distribuyó rápidamente por todo el cuerpo de los ratones y se excreta principalmente a través de la orina. Además, mencionan que a pesar de que el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MWCNT-glu es una molécula medianamente grande, no observaron respuestas de toxicidad aguda severa. Por lo que, concluyeron que la funcionalización de los SWCNTs con glucosamina mejora la biocompatibilidad (Guo et al., 2007).

En otro estudio de Ruggiero et al. 2010 utilizaron SWCNTs funcionalizados covalentemente con grupos amino (a través de la cicloadición 1,3-dipolar), adicionados con dos colorantes fluorescentes [Alexa Fluor (AF488 y AF680) y quelatos de iones metálicos (DOTA), y radiomarcados con ^{86}Y

(SWCNT-[[⁸⁶Y]DOTA)(AF488 (AF680))] (Figura 14-a), esto con el fin de entender el proceso de excreción renal en un modelo *in vivo*.

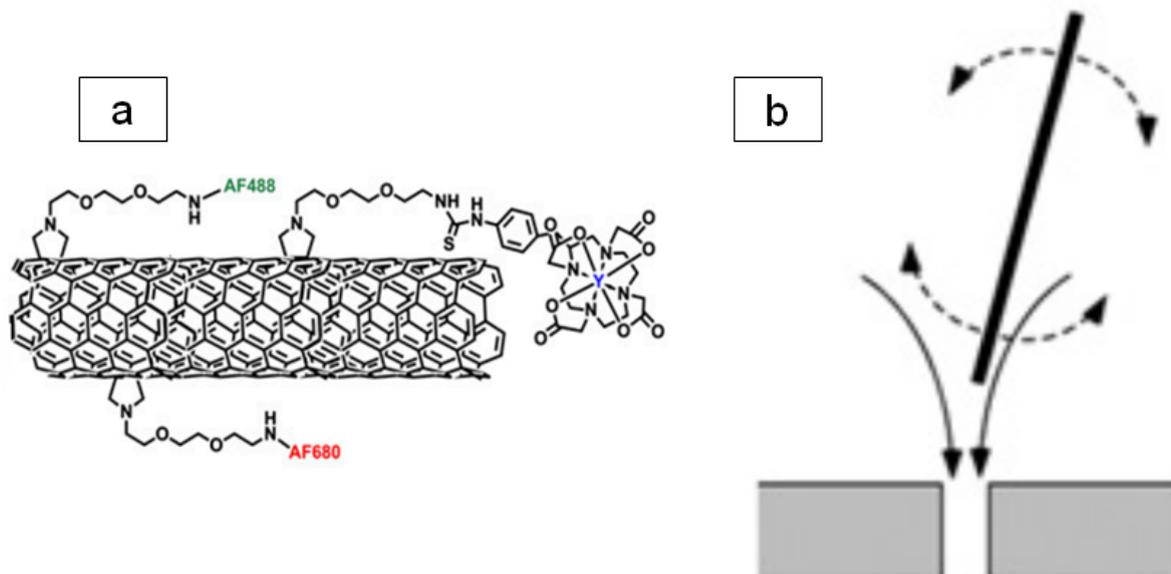


Figura 14. a) Representación esquemática de los restos clave adjuntos de la construcción SWCNT - [[⁸⁶Y]DOTA) (AF488) (AF680)]; b) Mecanismo por el cual los SWCNTs son eliminados vía renal por la orientación de un flujo (Ruggiero et al. 2010)

En este artículo inyectaron los SWCNT-[[⁸⁶Y]DOTA)(AF488 (AF680)) en ratones, y a través de imágenes dinámicas PET observaron una rápida acumulación (<1 minuto) en los riñones (Figura 15-a). La radiactividad en los riñones alcanzó su máximo a los 3 min (Figura 15-b).

Al mismo tiempo, la radiactividad también apareció en la vejiga inmediatamente después de la inyección y se estabilizó después de 20 minutos (Figura 14-b). La explicación que ellos ofrecen del porqué siendo el SWCNT-[[⁸⁶Y]DOTA)(AF488 (AF680)) una molécula tan grande (150-750 kDa) pudo atravesar la filtración glomerular, es debido a que, el flujo es lo suficientemente fuerte como para orientar a los NTC hacia los poros, y que estos puedan atravesarlos sin dificultad (Figura 11-b).

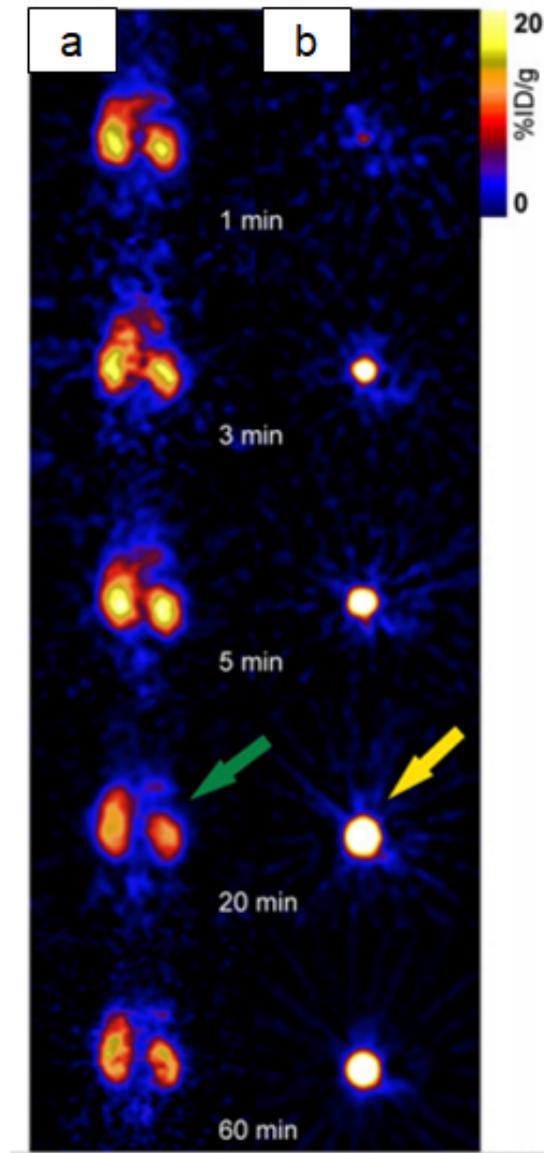


Figura 15. Imágenes dinámicas PET de la eliminación renal de SWCNT-[[⁸⁶Y]DOTA](AF488 (AF680)) en ratones. (A) Acumulación de SWCNTs en secciones coronales de riñón ; (B) Secciones transversales de vejiga en diferentes puntos temporales (Ruggiero et al. 2010).

En este estudio no solo demostraron que los SWCNTs funcionalizados se excretan intactos a través del sistema de filtración glomerular, sino que también probaron que el riñón pudo eliminar a los SWCNTs con alta relación de aspecto ($d \sim 1 \text{ nm}$, $100 \leq L \leq 500 \text{ nm}$), carga negativa y un gran peso molecular (150-750 kDa) rápida y eficazmente. Esto es de suma importancia ya que la eliminación a través de los mecanismos renales ofrece la oportunidad de que el huésped elimine los SWCNTs, lo que permite la posibilidad de estudiar a los CNTs como candidatos para posibles aplicaciones terapéuticas y de diagnóstico *in vivo* (Ruggiero et al. 2010).

Aunque pareciera que la funcionalización tanto de SWCNTs como de MWCNTs ayuda a que su excreción sea vía renal, esto se desmiente con un estudio posterior realizado por Deng y sus colaboradores (2007). En este estudio utilizaron MWCNTs con un esqueleto marcado con ^{14}C y funcionalizados con taurina (^{14}C -taurina-MWCNT) (Figura 13), encontraron que los ^{14}C -taurina-MWCNT se acumularon predominantemente en el hígado, en donde no presentaron biodegradación y una baja toxicidad aguda hepática.

Al igual que en el estudio de Ruggiero et al. 2010, donde usaron SWCNT de alto peso molecular (150-750 kDa), los MWCNTs eran de igual forma moléculas grandes teniendo una longitud de 10 a 600 nm y un diámetro que varía desde los 10 a 20 nm (Figura 16). Sin embargo, los resultados mostraron que no existió una excreción renal de los ^{14}C -taurina-MWCNT, y por el contrario fueron retenidos en el hígado hasta por 3 meses (Deng et al., 2007).

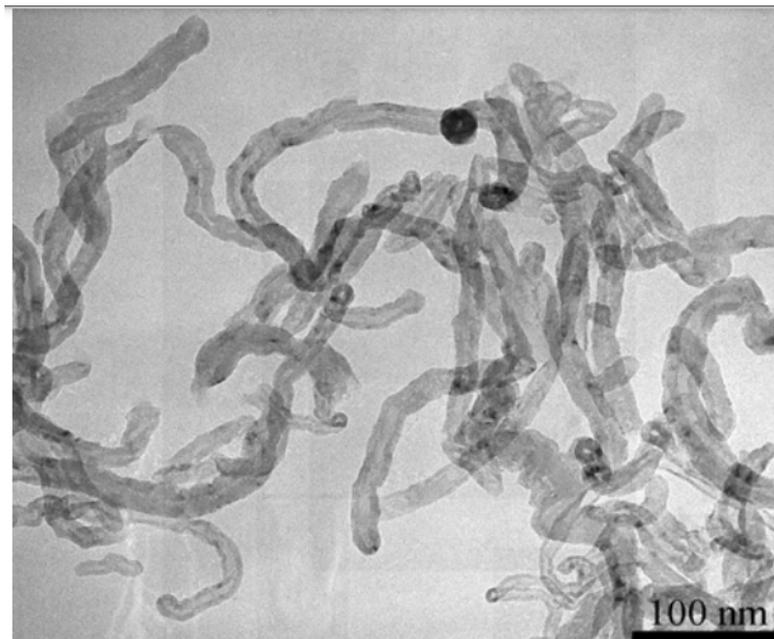


Figura 16. Imagen representativa de microscopía electrónica de transmisión (TEM) para la estructura intacta de tau-MWCNT (Deng et al., 2007) .

Los autores explican que el tamaño del MWCNT no tuvo gran importancia en la retención hepática, en cambio mencionan que fue por los diferentes grupos de funcionalización en la pared lateral de los MWCNT los que marcaron la diferencia. Estos grupos funcionales pudieron interactuar con proteínas sanguíneas, lo que promovió la captura de los MWCNTs por macrófagos hepáticos (células de Kupffer)

(Figura 17). Debido a este atrapamiento se logró impedir la excreción renal (Deng et al.,2007).

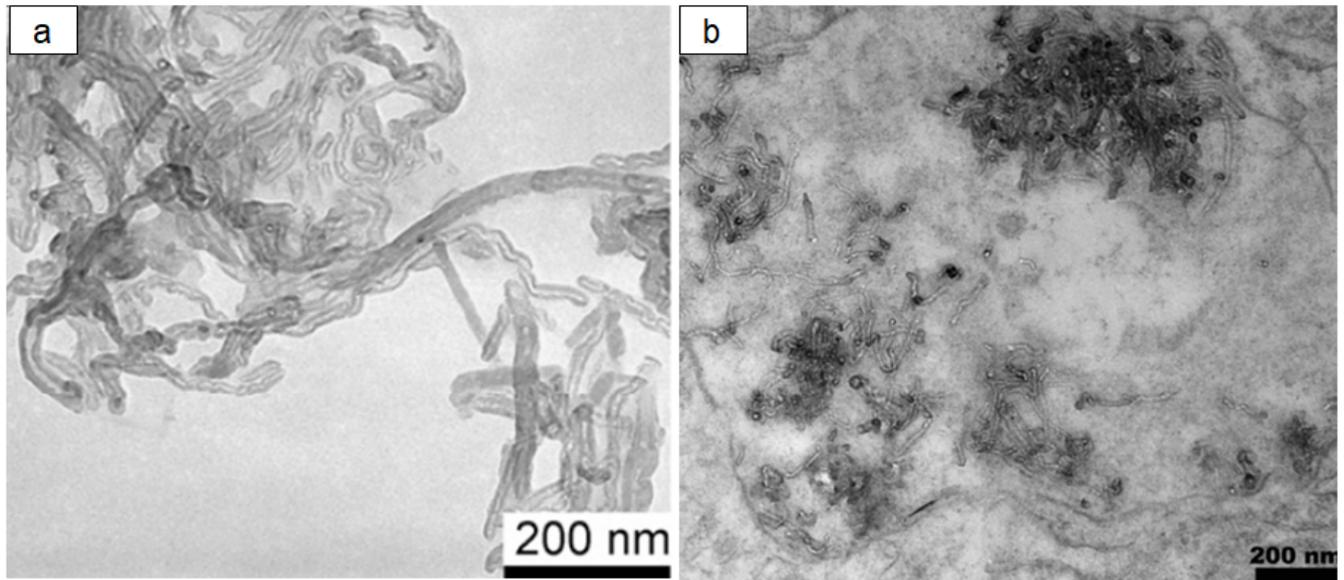


Figura 17. Imágenes TEM de MWCNT: a) ^{14}C -taurina-MWCNT observados en el hígado ratón después de 14 días de la exposición; b) ^{14}C -taurina-MWCNT atrapados en el fagosoma de una célula de Kupffer 7 días de la exposición (Deng et al.,2007;Ruggiero et al. 2010)

Otro estudio realizado por Singh y col. 2006, funcionalizaron SWCNTs con la molécula quelante dietilentriaminopentaacética (DTPA) y marcaron con indio (^{111}In), obteniendo el conjugado [^{111}In]DTPA-SWCNT que luego se inyectó por vía intravenosa en ratones. Realizaron un rastreo de radiactividad de los [^{111}In] DTPA-SWCNT mediante una gammagrafía, y encontraron que los SWCNTs no se retuvieron en ninguno de los órganos del sistema reticuloendotelial (hígado o bazo) y se eliminaron rápidamente de la circulación sanguínea sistémica a través de la vía de excreción renal.

Lo más sobresaliente es que se observó un rápido aclaramiento sanguíneo con una vida media de 3 horas, ellos sugieren que la corta vida media en sangre de los CNTs inyectados por vía intravenosa sea una indicación de una baja interacción con las proteínas sanguíneas (Singh et al., 2006).

En otro estudio similar, Lacerda et al., 2008 administraron MWCNTs radiomarcados con ^{111}In y funcionalizados con DTPA-MWCNT ([^{111}In] DTPA-MWCNT) por vía intravenosa en ratas. Encontraron que los MWCNTs se localizaron principalmente

en los riñones 30 min posteriores a la inyección y luego gracias a la tomografía computarizada dinámica de emisión de fotón único de cuerpo entero (SPECT / CT) observaron su excreción a través de la orina (Lacerda et al., 2008).

De los estudios anteriores podemos concluir que la excreción renal o acumulación en órganos del sistema reticuloendotelial de los SWCNTs o MWCNTs funcionalizados va a depender del grado en el que el agente químico se funcionaliza en la superficie del CNT (permitiéndole así la individualización o una desagregación) (Yang et al., 2008; Cherukuri et al., 2006). También parece el tipo de agente químico funcionalizado (Deng et al., 2007; Ruggiero et al. 2010) y en menor medida la vía de administración.

En un estudio realizado por Lacerda y sus colaboradores en el 2008, elucidaron el mecanismo por el cual se eliminan los CNTs del torrente sanguíneo, a través de su translocación por el sistema de filtración glomerular hacia la orina. Ellos realizaron este estudio mediante imágenes TEM de cortes ultrafinos de la corteza renal (70 nm) de ratones BALB / c a los 5 y 30 min después de haberles administrado MWCNTs funcionalizados y dispersos mediante el método de la cicloadición 1,3-dipolar.

En sus resultados observaron MWCNTs individuales ubicados en la luz capilar renal, se translocaron a través de la barrera de filtración glomerular únicamente si su eje longitudinal estaba orientado verticalmente hacia las fenestraciones endoteliales y se encontraban bien dispersos (Figura 18-c-d, las flechas indican MWCNT).

Por el contrario, encontraron que los MWCNTs aglomerados podrían encontrarse en los capilares glomerulares ya que no pudieron translocarse a través del sistema de filtración renal (Figura 18-b, ver línea discontinua).

Ellos sugieren que el mecanismo por el cual los MWCNTs atraviesan la barrera de filtración glomerular implica la adquisición de una conformación espacial en la que la dimensión longitudinal del CNT es perpendicular a las fenestraciones endoteliales. El diámetro medio exterior de los MWCNTs utilizados estaba entre 20 y 30 nm y tenían una longitud entre 0,5 y 2 micras, en comparación con las dimensiones de la pared capilar glomerular, el cual tiene un diámetro mínimo de la ventana de 30 nm; y un grosor de la membrana basal glomerular en roedores y humanos de 200-400

nm, y un ancho del podocito epitelial rendijas de filtración es de 40 nm (Figura 18), sugieren la posibilidad que los MWCNTs son capaces de reorientarse perpendicular a las fenestraciones endoteliales mientras están en circulación sanguínea, y así poder pasar fácilmente al espacio de Bowman y posteriormente acumularse en la vejiga y excretarse en la orina (Figura 18).

En conclusión los autores dicen que la translocación de los MWCNTs de la luz capilar renal hacia el espacio de Bowman depende de su orientación vertical, su estructura tubular, la carga superficial y el grado de individualización. Si los CNTs inyectados están agregados o haces, no podrán atravesar el filtro glomerular y se acumulará en el hígado, el bazo o los pulmones, como se ha observado en varios estudios ya antes mencionados (Liu et al., 2006; Cherukuri et al., 2006; Yang et al., 2007).

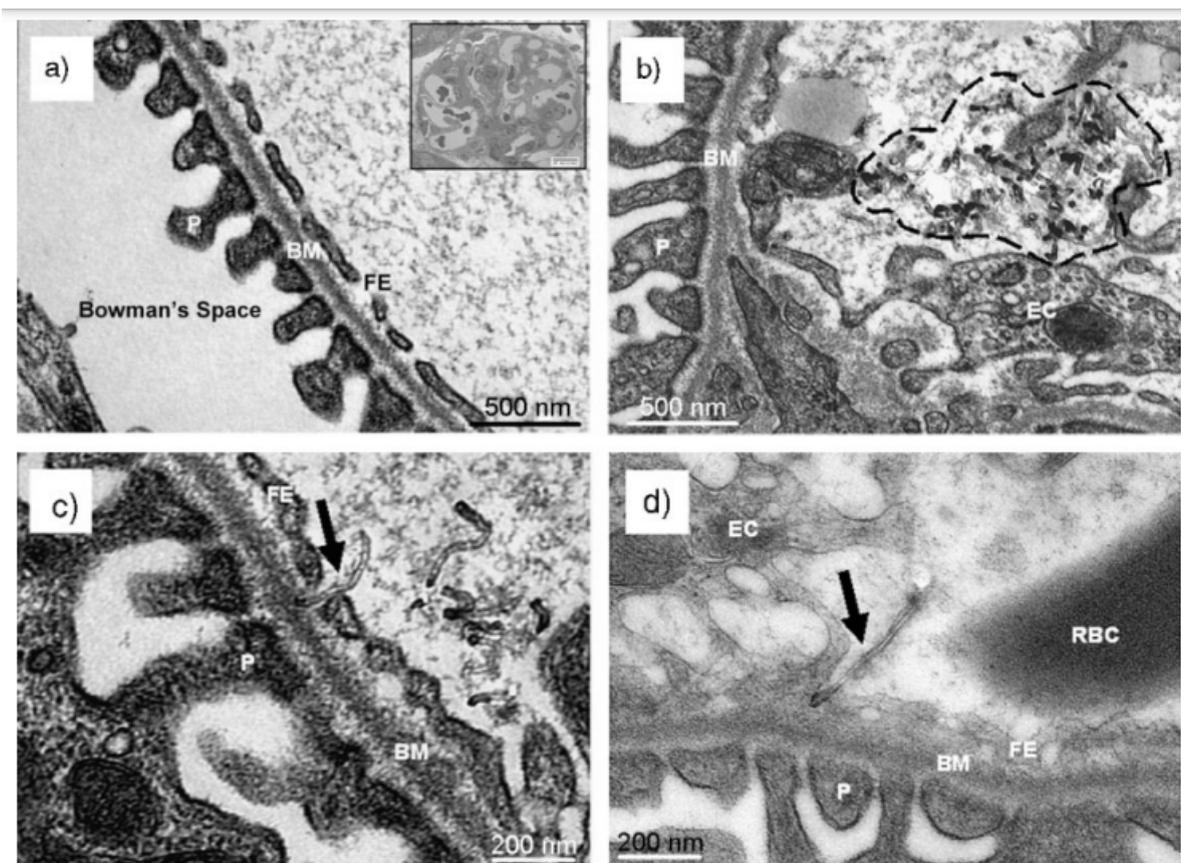


Figura 18. Aclaramiento renal de CNTs. a) Barrera de filtración glomerular de ratones BALB / c: P, podocito; BM, membrana basal; FE, endotelio fenestrado; EC, célula endotelial; RBC, glóbulo rojo. Imagen recuperada de Lacerda et al., 2008.

En conclusión, la funcionalización es un factor muy importante en el destino *in vivo* de los CNTs, ya que esta permite dispersar y mejorar su biocompatibilidad con el hospedero (Wang et al., 2004). De igual forma funge como un escudo contra la adsorción de proteínas, el reconocimiento por los macrófagos circulantes y los órganos RES (Alberdi et al., 2013). Por lo que, tiende a incrementar su tiempo de circulación sanguínea y con esto la capacidad para dirigirse a algún tumor en el hospedero u otro sitio de interés (Bhirde et al., 2010; Ruggiero et al. 2010). Además, el grado en el que el agente químico se funcionaliza en la superficie del CNT y el tipo de agente químico funcionalizado van a definir su biodistribución y también su excreción renal (Lacerda et al., 2008). Todas estas características convierten a los CNTs funcionalizados en candidatos para posibles aplicaciones terapéuticas.

Esta conclusión está expresada gráficamente en la Figura 19. para su mayor entendimiento.

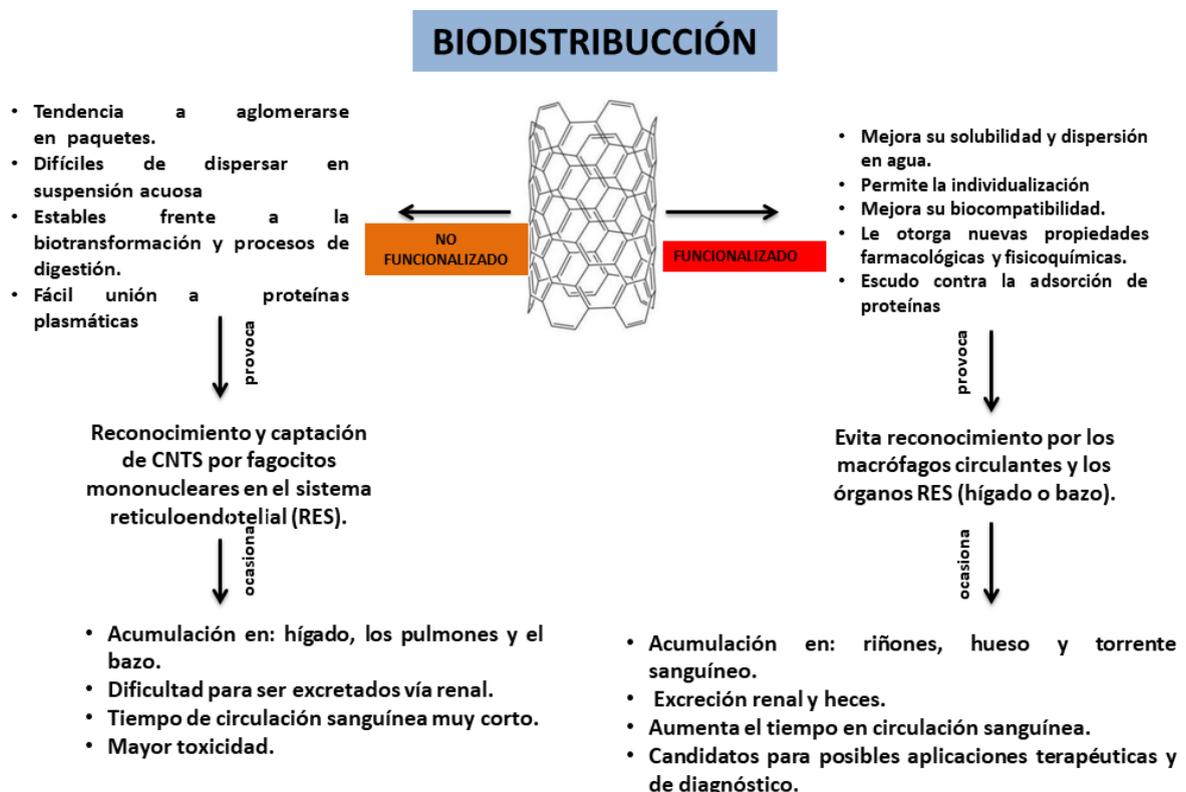


Figura 19. Figura esquemática que resume efectos observados en estudios de biodistribución de nanotubos de carbono prístinos y funcionalizados.

5.2 Efecto citotóxico de los CNTs en Modelos *In vivo*

Como se mencionó anteriormente, se revisaron un total de 41 artículos sobre los CNTs, de los cuales, 18 correspondieron específicamente a la biodistribución de CNTs y 23 referentes a la toxicidad de CNTs.

En este apartado se presentarán y analizarán únicamente los artículos sobre la toxicidad de los CNTs.

De los 23 artículos analizados sobre la toxicidad de los CNTs, se encontró que el 65.2 % corresponde a estudios con nanotubos prístinos y un 34.7 % de los estudios se realizaron con nanotubos de carbono funcionalizados (Figura 20).

Contrario a la figura 6, la figura 20 muestra un mayor porcentaje de artículos que tratan sobre CNTs prístinos en contraste a su contraparte de artículos sobre CNTs funcionalizados. La razón de esto puede ser, debido a que la funcionalización es capaz de mejorar la biocompatibilidad de los CNT y, en consecuencia, minimizar la probabilidad de toxicidad (Khalid et al., 2016). Dando como resultado, la existencia de un mayor número de artículos publicados sobre la toxicología de CNTs prístinos en comparación con su contraparte.

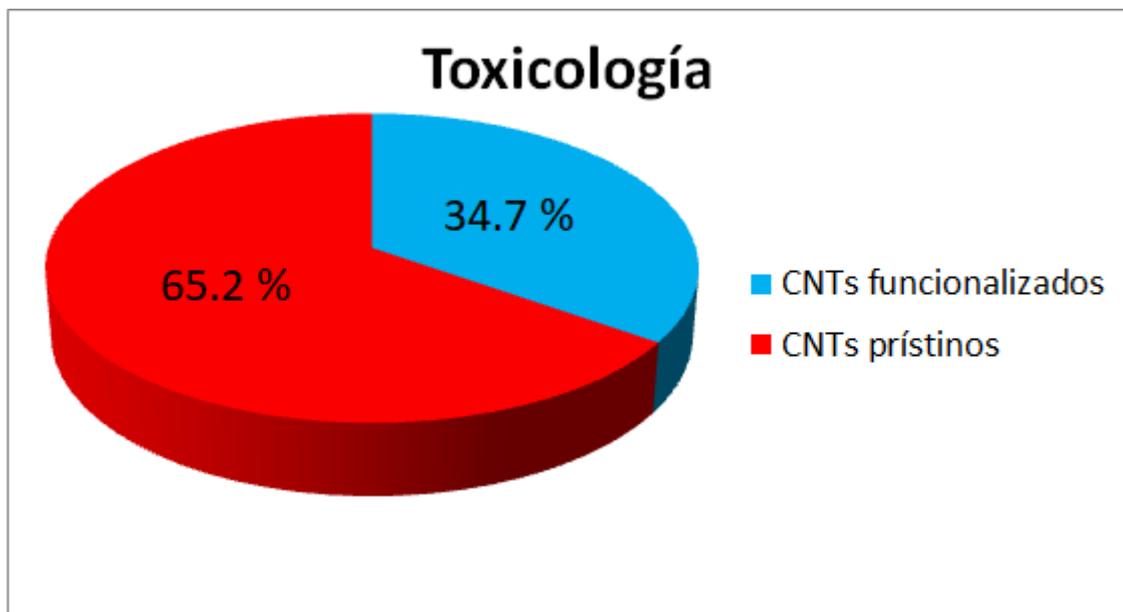


Figura 20. Porcentaje de los 23 artículos revisados sobre toxicidad de CNTs divididos en dos grupos.

Aunque existen un sin fin de artículos publicados sobre la toxicidad de los CNTs, en muchos de ellos estudian su toxicidad desde diferentes aspectos, tales como su

diámetro, tipo de CNTs (SWCNT o MWCNT), si está funcionalizado o no. En muchos otros artículos se estudia algún tejido u órgano en específico para saber los efectos tóxicos de los CNTs, o si esta misma toxicidad pudiera dirigirse específicamente a células tumorales. Es por esta razón, que se analizaron los artículos conforme a los aspectos antes mencionados. Los resultados de este análisis están representados en la figura 21.

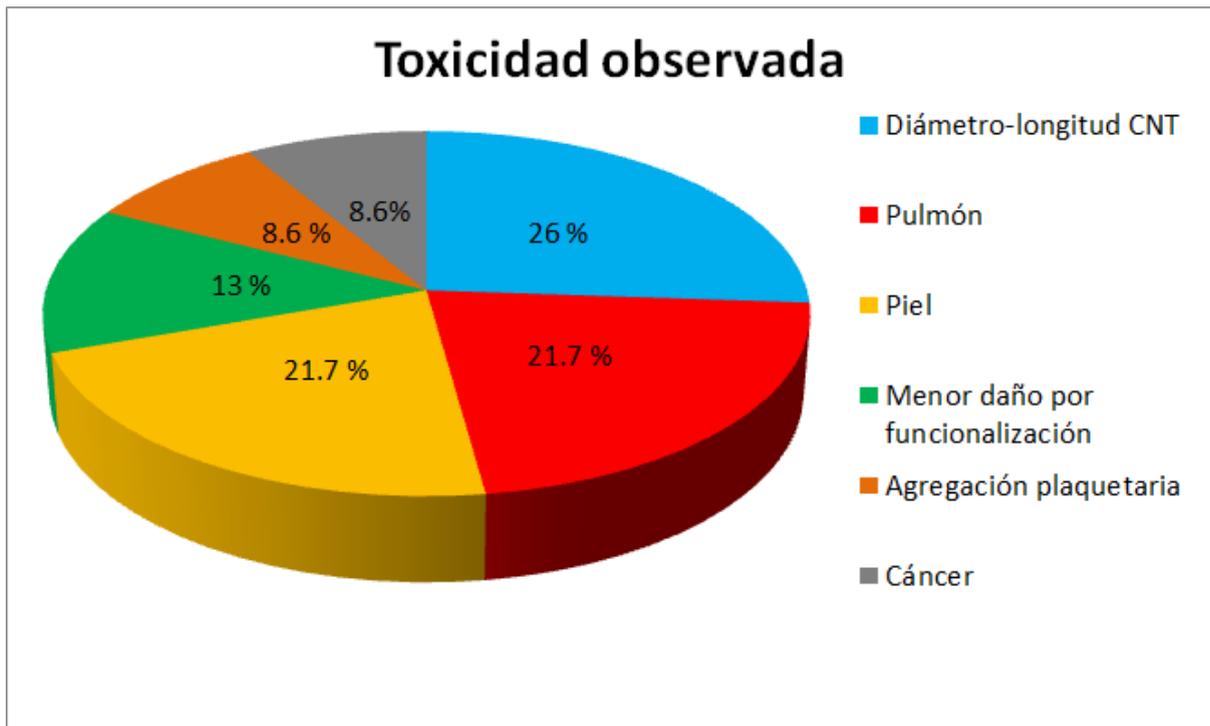


Figura 21. Porcentaje de los 23 artículos revisados sobre toxicidad de CNTs divididos conforme al objetivo del estudio

5.2.1 Principales hallazgos sobre la toxicidad de CNTs

El término toxicidad proviene del latín *toxicus*, que ha dado también en español el sustantivo *tóxico*, “veneno”. Ambos derivan del griego τοξικός (*toxikós*, “relativo al arco”), y este a su vez de τόξον (*tóxon*, “arco”, “flecha”). El significado actual proviene de la expresión τοξικὸν φάρμακον (*toxikón fármakon*, “veneno en las flechas”) (RAE: <https://dle.rae.es/t%C3%B3xico>). Para fines prácticos utilizaremos la siguiente definición de toxicidad: Toxicidad es la capacidad de cualquier sustancia química de producir alteraciones patológicas hacia cualquier ser vivo, al entrar en contacto con él. Ninguna sustancia química puede ser considerada no tóxica, puesto que cualquier sustancia (Incluso el agua o el oxígeno) es capaz de producir un

efecto tóxico si se administra la dosis suficiente. Esto queda representado en la famosa frase de Paracelso “sólo la dosis hace al veneno” (Gilbert, 2012).

La toxicidad de una sustancia química depende de su naturaleza química, la dosis y la idiosincrasia del organismo. Considerando estos factores se puede llegar a una reacción fisiológica causada por un veneno o sustancia tóxica, la cual se define como “intoxicación”. Existen 3 formas de intoxicación: aguda, subaguda y crónica. La intoxicación aguda se refiere a exposiciones o efectos a corto plazo, es decir estudios de corta duración, normalmente de 24 h, o de dos semanas o menos, iniciados por la administración de una dosis única. La intoxicación subaguda es la exposición o administración repetida normalmente durante 21 días. Y por último, la intoxicación crónica se refiere a una exposición continua a una sustancia tóxica que produce efectos adversos durante un período prolongado (meses o años), éstos pueden aparecer durante o después de interrumpida la exposición (Repetto y Sanz, 1993).

De acuerdo a la definición anterior podemos considerar a los CNTs como una sustancia tóxica, sin embargo, la dosis necesaria para considerarlos de esta manera aún es incierta (Murray et al., 2009).

Como se argumentó en secciones previas, los CNTs tienen el potencial de usarse para diferentes aplicaciones industriales, tecnológicas y biomédicas. Sin embargo, aún existe la inherente posibilidad de que los CNTs resulten ser demasiado tóxicos tanto para aplicaciones biomédicas como para la contaminación del medio ambiente. Es por esto, que la toxicidad de los CNTs es la principal preocupación de inversionistas y científicos a nivel mundial y se han realizado innumerables estudios para entender los efectos que tienen los CNTs en diferentes modelos de animales y líneas celulares a diferentes dosificaciones (Monteiro-Riviere et al., 2005; Lam et al., 2004).

De hecho, esta preocupante toxicidad de los CNTs ha sido motivación de diversos estudios tanto en modelos *in vivo* como *in vitro*. En estos estudios se le atribuye la toxicidad a varios factores intrínsecos que incluyen la longitud de los CNTs, su agregación, el tipo de funcionalización, el método de exposición e incluso el

dispersante utilizado para solubilizar los nanotubos. De igual forma, se ha analizado cómo se induce una toxicidad específica en los diferentes órganos del cuerpo.

En la siguiente sección se revisa la toxicidad de los CNTs, conforme los aspectos mencionados.

5.2.1.1 Efecto del diámetro y la longitud de los CNTs

Las nanopartículas de alta relación de aspecto (HARN) son pequeñas moléculas con una longitud muchas veces mayor que su ancho. Entre estas nanopartículas se encuentran los CNTs, ya que por lo general tienen una mayor relación de aspecto, debido a que son similares a pequeñas fibras largas o varillas. Gracias a esto, obtienen una mayor toxicidad potencial para los organismos vivos que en comparación con los CNTs de menor relación de aspecto (diámetros más grandes o longitudes más cortas) (Donaldson et al., 2013).

La toxicidad de los CNTs con alta relación de aspecto se debe a que están más dispuestos a fluir a través de los capilares y adherirse a las paredes de los vasos sanguíneos, causando trombosis y agregación plaquetaria (Ferrari, 2008; Radomski et al., 2005).

Según la hipótesis de Stanton y Pott, otra forma en la que los CNTs pueden ser tóxicos, es debido a que, al igual que muchas otras estructuras los CNTs son fibras biopersistentes, con rangos de diámetro y longitud bien definidos. Estas fibras sin importar su naturaleza fisicoquímica tienen la posibilidad de causar cáncer, simplemente por el hecho de ser una fibra. Esto se conoce como el paradigma de la fibra (Fukushima et al., 2018).

Debido a este paradigma de la fibra, los CNTs son comparados con el asbesto por los posibles daños que pudiera causar. Ya que tienen diámetros nanométricos y formas fibrilares muy similares. La estructura generalizada de toxicología de las fibras implica el diámetro, la longitud y la biopersistencia (Figura 22). Como es bien sabido en la toxicología clásica, la respuesta del paradigma sigue a la dosis, está comprobado que los CNTs por tener una forma fibrilar, son proclives a depositarse en los pulmones y acumularse a una dosis altas en varios sitios del revestimiento de las células epiteliales, pleura y el parénquima, lo que lleva a los efectos pulmonares

y patologías pleurales (Donaldson et al., 2013). La preocupación se extiende a que puedan provocar enfermedades pulmonares similares al asbesto, como fibrosis pulmonar, cáncer de pulmón, placa pleural y mesotelioma (tipo de cáncer del revestimiento de los pulmones causado por la exposición al amianto). (Donaldson et al., 2013; Xu et al., 2012).

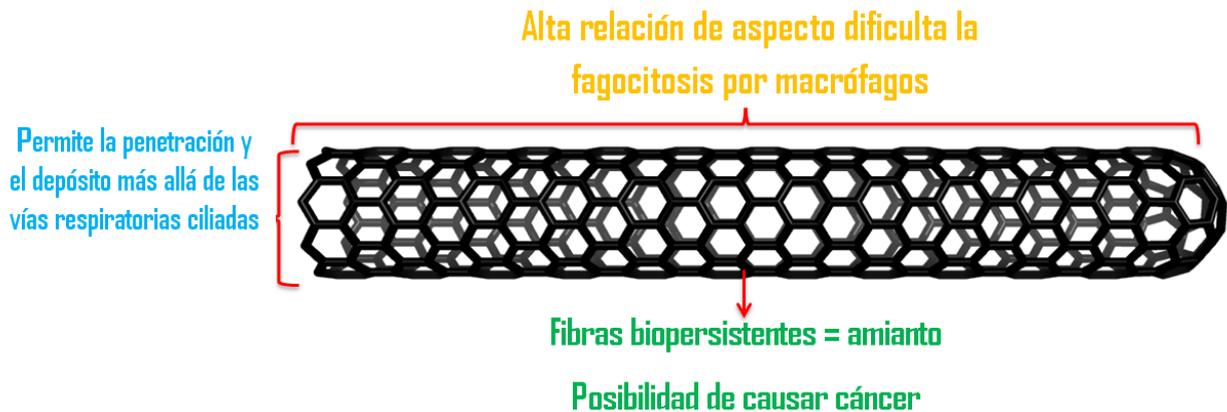


Figura 22. Diagrama que resume el paradigma de la patogenicidad de la fibra. Tres características biofísicas gobiernan si una fibra será patógena: longitud, delgadez y biopersistencia (modificada de Donaldson et al., 2013).

Para investigar esto, Xu y colaboradores (2012) administraron MWCNT-7 prístinos (Mitsui-7), con un diámetro que varía de 0.01 a 0.2 μm y una longitud de varios micrómetros, en el pulmón de ratas a través de su tráquea. Esto con la finalidad de comprobar si inducen lesiones mesoteliales. Sus resultados mostraron que el tratamiento indujo lesiones proliferativas hiperplásicas del mesotelio visceral, con sus índices de antígeno nuclear de células en proliferación aproximadamente 10 veces mayor que el del control. Aunque los MWCNTs no se encontraron en las propias lesiones proliferativas mesoteliales, en la cavidad pleural se observó abundante infiltración de células inflamatorias, compuestas principalmente por macrófagos. Esto les llevó a la conclusión de que las lesiones proliferativas mesoteliales fueron inducidas por eventos inflamatorios en el pulmón y la cavidad pleural y probablemente mediadas por macrófagos (Xu et al., 2012; Takagi et al., 2008).

Siguiendo el hilo con esto, en otro estudio Poland y sus colaboradores, 2008 informaron que después de la instilación intraabdominal de dos diferentes MWCNTs prístinos largos (13 y 56 μm), los MWCNTs podrían causar inflamación en el lado peritoneal del diafragma, con formación de granulomas o cicatriz de la superficie mesotelial y de las llamadas células gigantes de cuerpo extraño (FBGC) a los 7 días de su exposición. Los granulomas comprendieron agregados de células que contenían fibras, macrófagos, y también FBGC, con MWCNT y depósito asociado de colágeno dentro de las lesiones. Por otra parte, no se observó respuesta inflamatoria con los otros dos diferentes MWCNTs cortos (5 y 20 μm), ya que fueron absorbidos efectivamente por macrófagos mediante una fagocitosis eficiente

Con base en los artículos anteriores, queda claro que los CNTs y macrófagos juegan un papel fundamental para el desarrollo de lesiones mesoteliales e inflamación pulmonar. Sin embargo, aún no se sabe del todo, cuál es el mecanismo por el que ocurre esto. Por lo que, muchos investigadores han expuesto alguna explicación.

Un mecanismo plausible sobre el desarrollo de mesotelioma lo dan Sharifi et al. 2012, ellos definen a la fagocitosis como un mecanismo por el cual el fagocito ejerce una gran fuerza de torsión sobre su citoesqueleto para poder engullir agentes externos al cuerpo. Un macrófago al intentar fagocitar a un CNT con una alta relación de aspecto, es decir, fibras que exceden significativamente el tamaño de los macrófagos y generalmente se consideran de 10 a 20 μm de largo, provoca un mayor daño en su maquinaria de fagocitosis y, a su vez, impide que se forme un fagosoma completo provocando que los radicales de oxígeno dañinos del macrófago y las enzimas hidrolíticas se liberan extracelularmente. Esto generaría una inflamación crónica, conduciendo a eventos mutagénicos adicionales y finalmente a la posible formación de mesotelioma. (Sharifi et al., 2012; Donaldson et al., 2006; Warheit, 2003).

5.2.1.2 Efecto de la agregación de los CNT

Como ya se ha mencionado, los CNTs prístinos con forma de varilla (gran relación de aspecto) son capaces de dificultar la fagocitosis, además de no poder realizar la translocación a través del sistema de filtración renal (Lacerda et al., 2008) y, en consecuencia, tienden a estar expuestos a interactuar con cualquier proteína o célula sanguínea, donde pueden alcanzar los capilares y adherirse a las paredes de los vasos sanguíneos, generando una trombosis por agregación de plaquetas (Ferrari, 2008).

Radomski y colaboradores (2005) descubrieron que la inyección simultánea de SWCNTs y MWCNTs a una dosis de 50 $\mu\text{g} / \text{ml}$ provocaba la trombosis de las arterias carótidas de las ratas. El mecanismo que ellos propusieron fue que tanto los SWCNTs como los MWCNTs formaron grandes aglomerados (hasta 10 μm) dentro del organismo (Figura 23). Estos paquetes de aglomerados de CNTs permitieron la agregación de las plaquetas debido a que imitaban los puentes moleculares que participan en las interacciones entre plaquetas. Además, la carga superficial de los CNTs interactúan directamente con los bloqueadores selectivos de la agregación plaquetaria GPIIb / IIIa, inhibiendo así su función y permitiendo la agregación plaquetaria.

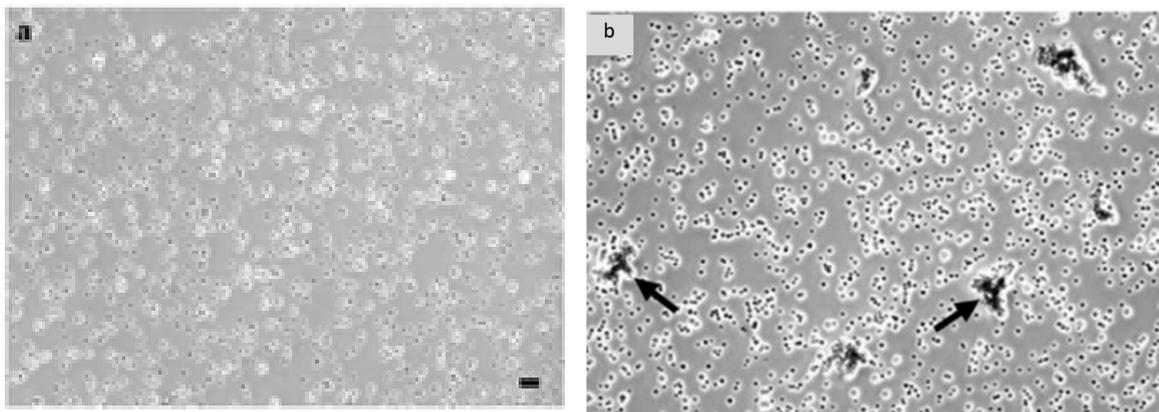


Figura 23. Microscopía electrónica de transmisión y contraste de fase. a) micrografía de control-plaquetas no estimuladas; b) Grandes agregados de plaquetas producidos por CNTs (Radomski et al., 2005)

En otro estudio de Mutlu y sus colaboradores (2010), probaron la hipótesis de que la toxicidad pulmonar asociada con los SWCNTs es atribuible a la gran relación de aspecto de las partículas individuales. En sus resultados encontraron que a los

ratones tratados con SWCNTs agregados obtuvieron granulomas con fibrosis leve en las vías respiratorias 30 días después de su administración intratraqueal. Por el contrario, a los ratones que de igual forma se les administró SWCNT dispersos no presentaron granulomas en las vías respiratorias. Un examen de secciones de pulmón de ratones reveló una mayor captación de los SWCNTs dispersos por los macrófagos que su contraparte SWCNT agregados. Con base en esto, llegaron a la conclusión de que la toxicidad de SWCNTs *in vivo* recae con mayor peso en la agregación del nanomaterial en comparación con la gran relación de aspecto de los nanotubos individuales.

5.2.1.3 Efecto de la funcionalización de los CNT

La funcionalización es capaz de mejorar la biocompatibilidad de los CNT y, en consecuencia, minimizar la probabilidad de toxicidad, como por ejemplo, la penetración de la envoltura celular, la oxidación de los componentes celulares, la producción de productos secundarios como iones de metales pesados disueltos o especies reactivas de oxígeno (ROS) y la interrupción de la transferencia de electrones a través de la membrana (Khalid et al., 2016).

De esta última, Park y sus colaboradores (2003) demostraron que los SWCNTs prístinos con un diámetro de aproximadamente 0.9 nm pueden bloquear los canales de iones de potasio de dos a tres veces más eficientemente que los fullerenos de carbono esféricos (Figura 24). La razón por la cual ocurre esto es que los SWCNTs interaccionan externamente con los poros del canal iónico mediante enlaces electrónicos y / o químicos débiles y, por lo tanto, obstaculizar el movimiento de los iones o, alternativamente, evitar más pasos conformacionales. Aunque este estudio tenía como objetivo utilizar a las SWCNTs para fines de estudios fisiológicos, la inherente toxicidad de bloquear un canal iónico fue reportado.

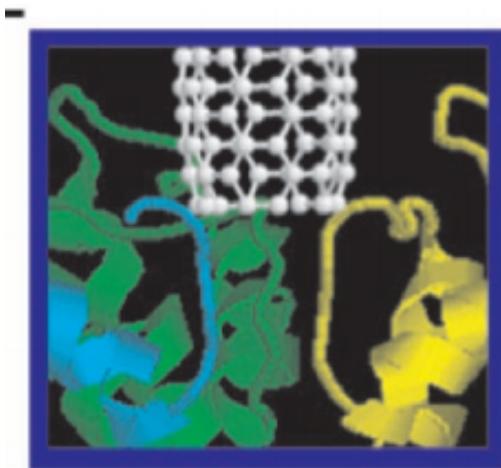


Figura 24. Simulación, donde un SWCNT con un diámetro medio de 0.9 nm, se acopla encima del filtro de selectividad de canal iónico por medio de enlaces débiles e impide el paso de iones (Park et al., 2003).

En otro estudio realizado por Manna, et al., 2005, evaluaron la toxicidad de los SWCNTs prístinos en células de queratinocitos humanos. Sus resultados mostraron un aumento del estrés oxidativo y la inhibición de la proliferación celular en respuesta al tratamiento de queratinocitos con nanopartículas SWCNTs. Además, comprobaron que el mecanismo de señalización en los queratinocitos tras el estrés causado por la exposición a partículas SWCNTs es por medio de la activación del complejo proteico NF-KB de una manera dependiente de la dosis en los queratinocitos humanos.

En los dos artículos anteriormente mencionados se utilizaron SWCNTs prístinos en sus experimentos, sin embargo, la toxicidad reportada fue diferente. Esta toxicidad puede reducirse mediante la funcionalización con un grupo funcional polar unido covalentemente (Sayes et al., 2006).

La razón por la cual se requiere un grupo funcional polar es debido a que los CNTs son hidrofóbicos, y requieren de grupos funcionales hidrofílicos para poder ser biodistribuidos a través de la sangre fácilmente, y de igual forma ser excretados con mayor facilidad vía renal (Liu et al., 2009). De lo contrario, si no son funcionalizados de manera covalente o no covalente con un grupo funcional polar, los CNTs tienden a aglomerarse y causar varios de los efectos tóxicos ya antes mencionados.

Existen dos formas de solubilizar a los CNTs, por la funcionalización covalente y por la no covalente. Las reacciones químicas que forman enlaces con las paredes

laterales de los nanotubos se llevan a cabo en el caso de la funcionalización covalente, mientras que la funcionalización no covalente aprovecha las interacciones favorables entre el dominio hidrófobo de una molécula anfifílica y la superficie de CNT, proporcionando nanotubos acuosos envueltos por algún tensioactivo (Liu et al., 2009).

Se han desarrollado varias reacciones covalentes para funcionalizar los CNTs, siendo la oxidación una de las más comunes. En un estudio alusivo a esto realizado por Luo y sus colaboradores (2016), evaluaron los posibles efectos toxicológicos de los nanotubos de carbono de paredes múltiples oxidados (O-MWCNT) en macrófagos RAW 264.7 *in vitro*. Sus resultados mostraron que los O-MWCNT tenían efectos muy limitados sobre el estrés oxidativo, la toxicidad celular y la apoptosis. En contraste con su control de MWCNT prístinos, donde muestran una mayor citotoxicidad que los O-MWCNT, dañando la viabilidad celular e induciendo la apoptosis celular (Figura 25). El mecanismo interior de citotoxicidad causado por MWCNTs aún no está claro ahora; sin embargo, la longitud, la química de la superficie, los grupos funcionalizados, la agregación y las impurezas (por ejemplo, metales, nanopartículas de carbono) influyen en la citotoxicidad de los MWCNT.

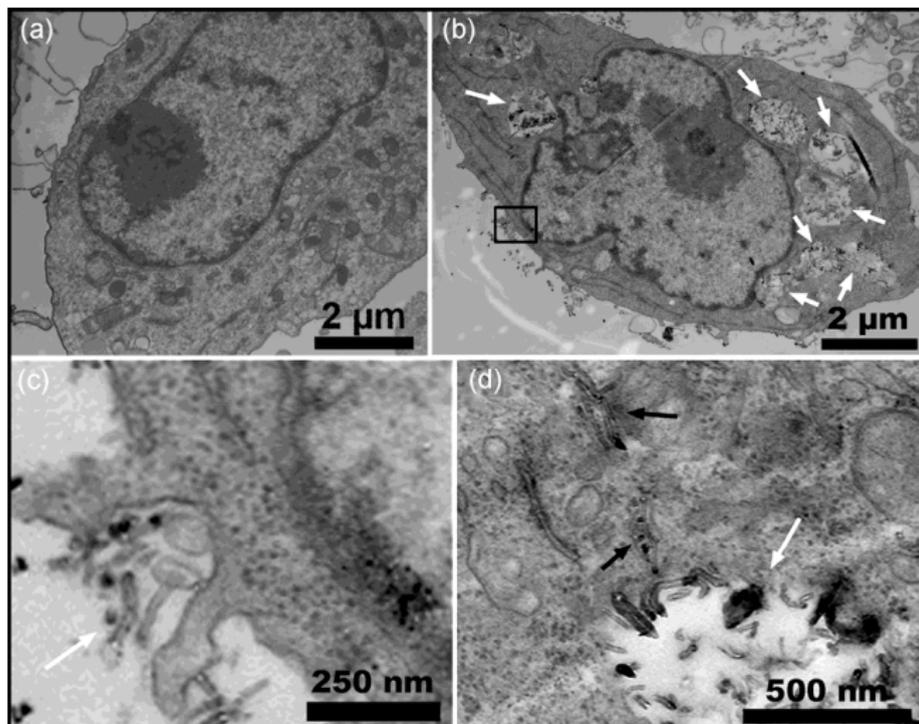


Figura 25. Micrografías electrónicas (TEM) de macrófagos RAW 264.7 tratados con 200 µg / mL de O-MWCNT durante 24 h. a) macrófagos control sin MWCNTs; b) macrófagos tratados con O-MWCNT los muestran en vacuolas; (c) penetración de MWCNT en el macrófago; (d) O-MWCNT residen en el citoplasma y otros en las vacuolas (Luo et al., 2016),

En otro artículo realizado por Kam y sus colaboradores (2005) realizaron un estudio con SWCNTs funcionalizados no covalentemente con un resto de polietilenglicol (PEG) y grupo terminal de ácido fólico (FA) para el tratamiento contra células cancerígenas. Sus resultados mostraron que una destrucción selectiva de células cancerosas se puede lograr mediante la internalización selectiva de SWCNTs dentro de las células marcadas con marcadores tumorales del receptor de folato y muerte celular desencadenada por NIR, sin dañar las células normales sin receptor. Además, el tratamiento con los SWNTs PEGilados con una alta densidad de anfifilos (PL-PEG), no mostró ni un aumento de la apoptosis o la necrosis, ni una menor proliferación de las células normales sin receptor.

Por último, se puede concluir que la toxicidad de los nanotubos de carbono depende tanto del tipo de funcionalización como del comportamiento de agregación de los mismos.

5.2.1.4 Vías de exposición

Para la síntesis de los CNTs, ya sea por descarga de arco, ablación láser o deposición química de vapor desde hidrocarburos, se requieren catalizadores de metales de transición para ayudar a descomponer la fuente de carbono y ser la base de la nucleación para la formación de los CNTs (Wang et al., 2004). De igual forma, para su fabricación se requieren de medidas de seguridad muy rigurosas, ya que, debido a sus características livianas, los polvos prístinos de SWCNTs sintetizados se dispersan fácilmente en el aire y se depositan en superficies horizontales, como mesas de trabajo y piel expuesta, durante manipulaciones tales como transferencia de material, el pesaje, el agitador vórtex y ultrasonidos (Lam et al., 2004; Lam et al., 2006; Johnson et al., 2010).

Por lo tanto, las personas que trabajan en las instalaciones de fabricación y los laboratorios tienen un mayor riesgo de exposición crónica a los CNTs con metales de transición, tanto por inhalación como por el contacto dérmico. Se calcula que durante los procesos de producción de SWCNTs a pequeña escala, su

concentración en el aire puede ser de $\leq 53 \mu\text{g} / \text{m}^3$ si se maneja con cuidado. Con base en esto, se estima que los trabajadores podrían alcanzar una carga pulmonar total de 5 a 10 g de SWCNTs dentro de 1 a 2 años después de trabajar con estos nanomateriales (Maynard et al., 2004).

Cabe destacar que, los trabajadores pueden estar expuestos a una mayor cantidad de SWCNTs a través del contacto dérmico en lugar de la vía respiratoria. Maynard y colaboradores (2004) realizaron un análisis de los guantes usados por los trabajadores que sintetizaron SWCNTs. Sus resultados mostraron depósitos de SWCNTs en los guantes de aproximadamente 0.2 mg y 6 mg por mano después de cada sesión de manipulación con el nanomaterial.

En un estudio alusivo de Monteiro-Riviere et al., 2005 buscaron entender las interacciones entre los MWCNTs prístinos y los queratinocitos epidérmicos humanos (HEK). Ellos encontraron que aproximadamente un 84% de los queratinocitos tratados con 0.4 mg / ml de MWCNTs prístinos estaban afectados a las 48 h. Es decir, presentaban MWCNTs dentro de sus vacuolas citoplasmáticas (de hasta 3.6 μm de longitud) o indujo la liberación de la citocina interleucina 8 proinflamatoria de las HEK de una manera dependiente del tiempo. El mecanismo tanto de la penetración como del efecto queda por dilucidar. Por lo que, no proporcionan información sobre si tales estructuras son un riesgo para las personas expuestas ocupacionalmente, ya que los cultivos de queratinocitos carecen de la barrera protectora del estrato córneo que se ve con la piel intacta (Monteiro-Riviere et al., 2005)

Aunado a esto Rouse y col. 2007 acoplaron un péptido (NLS, secuencia primaria H-Pro-LysLys-Lys-Arg-Lys-Val-OH) con un fullereno y añadieron un marcador fluorescente (3.5–400 nm), esto con el fin de observar la permeabilidad del alótropo en la piel porcina. La simulación de la tensión mecánica de la piel (como caminar) —flexión de la piel— resultó en la penetración del fullereno-péptido en la piel. Además, la penetración dependía del momento en que se aplicó la tensión mecánica; la flexión debe continuar durante al menos 60 minutos para permitir la penetración. La razón por la cual existió una penetración de una meluca relativamente grande (de hasta 400 nm) en la piel porcina es debido a que la estimulación mecánica que ocurre durante estos movimientos repetitivos puede

alterar la organización estructural de la piel y conducir a un aumento de la penetración de estas nanopartículas al comprometer la barrera de permeabilidad de la epidermis (Rouse et al., 2007).

El estudio de Monteiro-Riviere et al., 2005 menciona que los queratinocitos carecen de la barrera protectora del estrato córneo, y por lo tanto no pueden extrapolar la toxicidad de los MWCNTs hacia la exposición que sufren los trabajadores de fábricas de nanomateriales carbonosos. De igual forma, los resultados de Rouse et al., 2007 mencionan que los fullerenos pueden penetrar la dermis porcina siempre y cuando esta esté estimulada por un estiramiento. Aunado a esto, en un artículo de revisión sobre la permeabilidad dérmica de las nanopartículas, mencionan que las nanopartículas de aproximadamente 500 Dalton pueden difundir por la dermis siguiendo una ruta intracelular. Esta disfunción podría ocurrir a una distancia de unos cien μm (digamos $h = 500 \mu\text{m}$) a través del espacio intercelular lleno de lípidos (Schneider et al., 2009).

Con base en esta información, puede ser posible que los CNTs lleguen a trasladarse a través de las diferentes vías de absorción disponibles en la piel, como los huecos de las células del estrato córneo (penetración intracelular), los folículos pilosos, los conductos sudoríparos (penetración transapendicular) y, finalmente, a través de las propias células (penetración transcelular) (Schneider et al., 2009). Sin embargo, aún faltan estudios que corroboren dicha información.

Por otro lado, tras la administración a través de la piel, una de las características más importantes de los CNTs que afecta a su toxicidad es la pureza. En un estudio realizado por Murray et al. 2009, comprobaron que los SWCNTs no purificados (hasta con un 30% de impurezas de hierro) son capaces de causar daños en la piel de los ratones SKH-1 sin pelo inmunocompetentes, el daño incluía un agotamiento del glutatión, estrés oxidativo, oxidación de tioles y carbonilos de proteínas, una elevada actividad mieloperoxidasa, aumento del número de células dérmicas y engrosamiento de la piel como resultado de la acumulación de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y mastocitos.

Contrario a lo anterior, en un estudio realizado por Huczko y Lange (2001) sobre los posibles riesgos de alergias cutáneas al trabajar con el hollín que contiene CNTs,

encontraron que de los ensayos dermatológicos aplicados en voluntarios humanos y conejos no mostraron ningún signo de peligro para la salud relacionado con la irritación de la piel y riesgos alérgicos. Aunque existen diversos artículos sobre la toxicidad de los CNTs en la piel, hasta el momento hay poca información disponible sobre el grado de toxicidad y absorción cutánea (Monteiro-Riviere et al., 2005).

Por último, a continuación se presenta un esquema donde se sintetiza todo lo relacionado con la toxicidad de los CNTs con base en los artículos revisados (Figura 26).

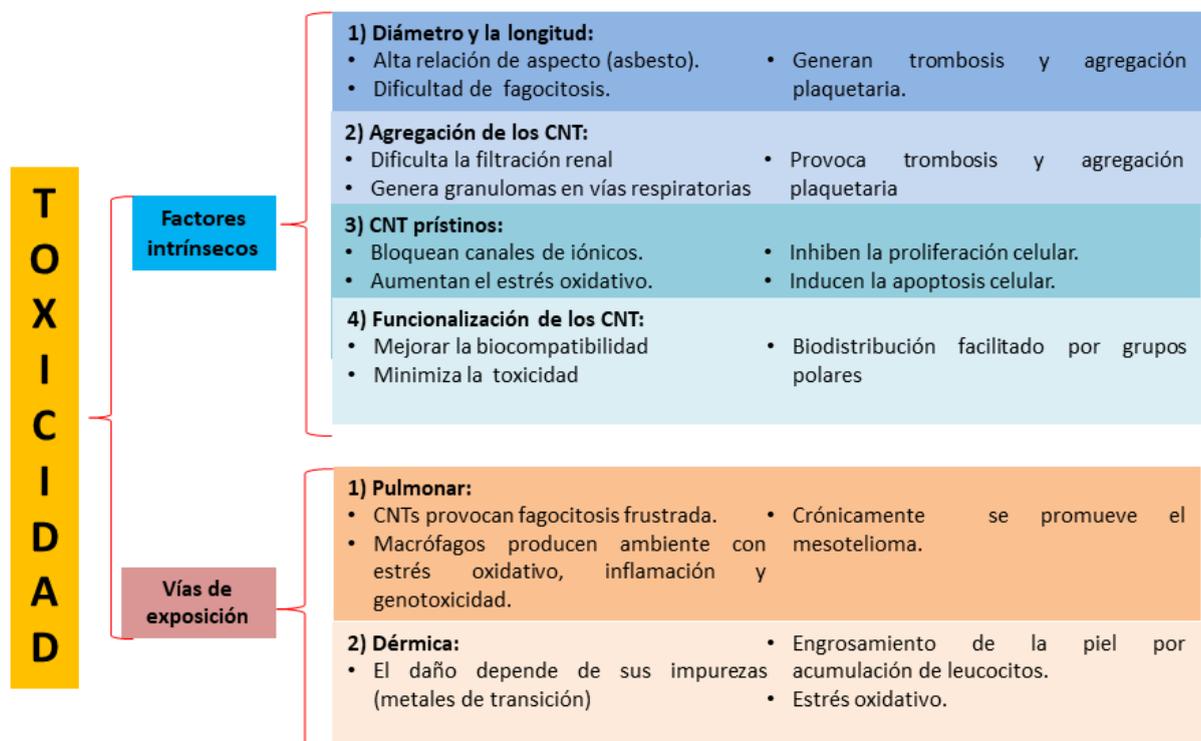


Figura 26. Figura esquemática que resume efectos observados en estudios de toxicidad de nanotubos de carbono prístinos y funcionalizados.

6. Retos y oportunidades

Los nanotubos de carbono son uno de los materiales más importantes descubiertos hasta la fecha que pueden ser utilizados en toda la revolución nanotecnológica. Este alótropo del carbono, tiene propiedades eléctricas, mecánicas y químicas que han entusiasmado a investigadores a desarrollar aplicaciones biomédicas. Estas aplicaciones van desde la creación de biosensores moleculares, terapia génica, utilizarlos como andamios para el crecimiento de tejidos, liberación de fármacos y muchos otros.

Sin embargo, a pesar de ser una gran promesa por sus múltiples aplicaciones, aún debe enfrentar problemas muy importantes. A continuación mencionan algunos de estos.

Aunque en los estudios analizados sobre los CNTs funcionalizados son muy prometedores, aún no podemos descartar que en muchos de ellos, no se logra evitar cierto grado de toxicidad, ya sea por que los CNTs tienen dimensiones similares fibras y causan dificultad a los macrófagos para fagocitarlos, o porque tengan impurezas metálicas que ocasionan toxicidad.

De igual forma existen muchos inconvenientes al querer comparar los resultados de biodistribución o toxicidad de los CNTs. Esto debido a que en las metodologías de los artículos, se utilizan diferentes grupos químicos para funcionalizar, diferentes radiomarcadores, diferentes tipos celulares y animales (ratas o ratones) o miden diferentes aspectos fisicoquímicos de los CNTs. Por lo tanto, los datos de biodistribución obtenidos no favorecen su comparación.

Se identifican algunos retos para favorecer el análisis de las bioaplicaciones de los CNTs:

- 1- Estandarizar un método para hacerlos lo suficientemente pequeños para poder ser excretados vía renal sin ningún problema. El tamaño propuesto es de 20 a 80 nm debido a los resultados obtenidos de Lacerda et al., 2008.

- 2- Estudiar todos los aspectos fisicoquímicos de esos CNTs obtenidos por el método estandarizado antes mencionado, tanto en modelos *in vivo* como *in vitro*. Esto con la

finalidad de que los laboratorios trabajen con un solo modelo de CNTs y sus datos puedan ser comparables.

3- Una vez que los resultados puedan ser comparables, primero se debe investigar qué funcionalización química es la óptima para mejorar la biodistribución, biocompatibilidad, mejor dispersabilidad y menor toxicidad en el hospedero. En segundo lugar, el revestimiento debe ser suficientemente estable para resistir el desprendimiento de la superficie de los nanotubos en soluciones biológicas. Por último, las moléculas de recubrimiento deben tener grupos funcionales que estén disponibles para la bioconjugación con anticuerpos u otras moléculas para crear varios conjugados de CNT funcionales para diferentes aplicaciones biológicas. Esto con la finalidad de que se desarrolle un mejor fármaco basado en la entrega de CNTs. Una opción viable podría ser el polietilenglicol (PEG) ya que ha demostrado ser uno de los mejores tensoactivos de recubrimiento de CNTs en los experimentos, además de cubrir satisfactoriamente con los requerimientos anteriores (Bhirde et al., 2010; Yang et al., 2008; Liu et al., 2008; Yang et al., 2009)

4- De igual forma, se plantea estudiar si los procesos de funcionalización de CNTs, como por ejemplo, la PEGilación o la oxidación, no representan un riesgo para el hospedero a largo plazo, ya que los estudios en general son de tiempo relativamente corto (6 a 72 hrs) (Luo et al., 2016). Por otro lado, Lam y sus colaboradores, en 2004 realizaron un experimento que duró hasta 90 días. Sin embargo, este periodo no es lo suficiente para ser una representación de la toxicidad de los CNTs a largo plazo, por lo que se propone realizar experimentos de 6 a 1 año, con el fin de que sea más representativo los efectos tóxicos.

5- Dentro de los estudios, las dosis empleadas fueron administradas en diferentes unidades (mg/kg, µg/ml, mg, etc), por diferentes vías de administración (intravenosa, intraperitoneal, intratraqueal, etc), diferentes nanotubos (SWCNT y MWCNT funcionalizados o no) y también en diferentes animales o células (ratones, ratas, células HeLa, etc). Es por estas razones que comparar los resultados se vuelve una tarea muy laboriosa, por ejemplo, Warheit et al., 2003 reporta que a la instilación intratraqueal de ratas a una dosis de 5 mg / kg de SWCNT produjeron mortalidad en el 15% de las ratas posterior a las 24 h. Por otro lado Luo et al., 2016 muestran que los MWCNT prístinos causa citotoxicidad en macrófagos RAW 264.7 a una

concentración de 200 y 400 µg/mL en un modelo *in vitro*. Aunque ambos son reportes importantes sobre qué concentración pudiera ser tóxica para fines médicos, no son comparables entre sí. Independientemente de esto, la dosis más alta reportada en los estudios revisados fue de Yang et al., 2007 con 2 mg de SWCNT en ratones, y también de Lam et al., 2004 con una dosis de 0.5 mg de SWCNT en ratones, en ambos casos se observó toxicidad (producción de granulomas) y atrapamiento de RES. Por lo tanto, se recomienda que en futuras investigaciones se realicen estudios a concentraciones menores a las dichas para evitar toxicidad.

6- También se propone investigar un método para que el lugar de liberación del fármaco unido covalentemente o no al CNT, sea lo más preciso y seguro posible.

7- En los estudios de biodistribución se destacaron muchas técnicas para observar la distribución de los CNTs en un organismo, tales como: Etiquetado de radioisótopos o el etiquetado de isótopos estables, la tomografía computarizada por emisión de positrones (PET), la tomografía por emisión de fotón único (SPECT), Fluorescencia intrínseca del infrarrojo cercano (NIR), La espectroscopia Raman, la espectroscopía electrónica de transmisión (TEM). Con base en la información recolectada en este trabajo, se recomienda utilizar el etiquetado de isótopos estables con CNTs esqueléticos ricos en ^{13}C como trazador porque mantiene intacta la naturaleza original de los CNTs y es adecuado para el rastreo a largo plazo debido a su alta estabilidad *in vivo* (Lin et al., 2013). A diferencia del trazado radioisotópico que se cuantifica midiendo los rayos radiactivos, el ^{13}C se cuantifica midiendo la abundancia isotópica estable (radio $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$) en espectrometría de masas de relación isotópica (IRMS), siendo menos riesgoso del desprendimiento de radioisótopo, lo cual puede resultar tóxico para el hospedero. Aunado a esta técnica, se recomienda utilizar TEM debido a que es un método esencial para caracterizar muestras de CNT en tejidos y para determinar el atrapamiento de CNT en tejidos u órganos (Liu et al., 2010).

8- En los estudios de revisados es muy importante cuantificar la concentración de CNTs administrada, por lo tanto, las mejores técnicas que se recomiendan para caracterizar y cuantificar las características y la cantidad de CNTs administrada son las siguientes: El análisis termogravimétrico te permitirá saber el grado de funcionalización de tu CNT con alguna otra molécula, tomando como referencia la

pérdida de peso de los CNTs en una atmósfera con calor constante, se puede conocer si se logró la funcionalización deseada. También se recomienda la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), ya que los espectros de absorción de se obtienen de los enlaces de las muestra, nos permiten saber si realmente se logró un enlace del CNT con tu molécula de interés. Y por último, la microscopía electrónica de transmisión (TEM), ya que te permite caracterizar de manera visual la longitud y diámetro de tus CNTs, así como observar de manera cualitativa la desagregación y funcionalización de los mismos. Aunque el método es muy cualitativo, no deja de ser fundamental para la caracterización de los CNTs en cualquier estudio de biodistribución o toxicidad. Cabe destacar que, si se desea saber con certeza la cantidad de fármaco o de CNTs que se administra en algún organismo para cualquier tratamiento, es necesario caracterizar y cuantificar de manera eficiente, por lo que es recomendable utilizar estas técnicas mencionadas o incluso más

9- Por último, como se menciona anteriormente los CNTs tienen una tendencia general a ser capturados en gran medida por el sistema reticuloendotelial (RES) cuando son prístinos, ésta captura puede reducirse considerablemente mediante la funcionalización química de la superficie de CNT, debido a que pueden resistir la absorción de las proteínas en la sangre (Liu et al., 2010). A este proceso por el cual se le adhiere una proteína al CNT para ser reconocido por un fagocito se le conoce como opsonización. A las proteínas de unión en la opsonización se les conoce como opsoninas, entre las más comunes se encuentran las inmunoglobulinas y los componentes del sistema del complemento como C3, C4, así como otras proteínas del suero sanguíneo como laminina, fibronectina, proteína C reactiva, colágeno tipo I y muchas otras (Donald y Peppas, 2006). Sin embargo, cabe destacar que no está registrado en la literatura (al menos hasta los artículos revisado en este trabajo) sobre cuáles son las proteínas u opsoninas específicas que se unen a los CNTs para su reconocimiento por las células fagocíticas, por lo que, sería un buen prospecto de proyecto para futuras investigaciones.

7. Conclusiones

Se revisaron un total de 41 artículos sobre los CNTs, de los cuales, 18 corresponden a su biodistribución y 23 sobre su toxicidad. Con base en todo el análisis sobre los artículos se puede concluir que la biodistribución de los CNTs influye en gran parte en su toxicidad, y por lo tanto, en sus posibles aplicaciones biomédicas. Los resultados de dichos artículos han demostrado que los CNTs prístinos se acumulan en los órganos RES rápidamente después de su administración. Siendo el hígado, el bazo y el pulmón los principales órganos de acumulación. La razón por la cual sucede esto, es que los CNTs prístinos tienden a agregarse, debido a su extrema hidrofobicidad causada por la hibridación sp^2 de sus átomos de carbono.

Por otro lado, los resultados de las investigaciones también han demostrado que su contraparte, es decir, los CNTs funcionalizados de forma covalentemente o no, tienen una mejor biocompatibilidad y menor toxicidad con el hospedero. Esto debido, a que dependiendo del grupo químico con el cual están funcionalizados les impiden a los CNTs agregarse y ser reconocidos y capturados por el sistema RES. De esta manera, su biodistribución y excreción vía renal se ve muy facilitada.

El proceso de funcionalización, a su vez, le confiere a los CNTs una mejor solubilidad en el agua, lo cual es muy importante para lograr una mejor biodistribución. De igual forma, la funcionalización con diferentes tipos de biomoléculas, ya sean péptidos, ADN o ARN, le han proporcionado la selectividad a los CNTs de interactuar con células o tejidos diana.

Estas propiedades, en conjunto, hacen que los CNTs funcionalizados covalentemente o no, sean compatibles y óptimamente biodistribuidos en sistemas biológicos. Debido a esto, tienen una gran posibilidad de ser candidatos en aplicaciones biomédicas.

Por último, a pesar de toda la información recolectada en esta tesina sobre los CNTs y su toxicidad y biodistribución, es importante incrementar el conocimiento de su comportamiento *in vivo*. Debido a que no se puede realizar una comparación entre los diferentes estudios farmacológicos con nanotubos publicados, pues brindan un panorama general muy amplio y no concluyente. Es necesario incrementar el número de estudios para entenderlos de forma detallada, tanto biológica como

químicamente, sobre las interacciones entre los CNTs y los sistemas biológicos para permitir su paso a un entorno clínico.

8. Referencias

- Afolabi, A., Abdulkareem, A., Mhlanga, S. y Iyuke, S. (2011). Synthesis and purification of bimetallic catalysed carbon nanotubes in a horizontal CVD reactor. *J. Exp. Nanosci.*, vol. 6, nº 3, p. 248–262.
- Ajayan, P y Ebbesen, T. (1997). Nanometre-size tubes of carbon. *Rep. Prog. Phys.* 60: 1025–1062.
- Alberdi, E., Huergo, M., Enrique, A., Bruno-Blanch, L. y Vericat, C. (2013). Síntesis y caracterización fisicoquímica y ensayos de biodistribución de nanopartículas con aplicaciones en el transporte de fármacos. *J. Arg. Chem. Soc.*, Vol. 100, 70-73.
- Alegret, N., Rodríguez-Forteza, A. y Poble, J. (2014). Sinfonía de fullerenos: la magia de la encapsulación. *An. Quím*, 110 (2), 121-130.
- Alexis, F., Pridgen, E., Molnar, L. y Farokhzad, O. (2008). Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Mol. Pharm.* 5, 505–515 .
- Ali-Boucetta, H y Kostarelos, K. (2013). Pharmacology of carbon nanotubes: Toxicokinetics, excretion and tissue accumulation. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 65(15), 2111–2119
- Alzate-Carvajal, E. (2017). Estudio De La Funcionalización Química De Nanomateriales De Carbono: Óxido De Grafeno Y Nanodiamante (tesis doctoral). Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM Ciudad de México.
- Andrade-Cuel, M., López-López, L. y Sáenz-Galindo, A. (2012). Nanotubos de carbono: funcionalización y aplicaciones biológicas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 43 (3), 10-18

- Aquel, A., Abou, k., Ammar, A. y Al-Warthan, A. (2012). Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterization. *Sci. Dict.* Vol 1, No.5, pag.1-23
- Assali, M. (2012). *Nanotubos de Carbono Biocompatibles; Síntesis y Aplicaciones en la Biomedicina* (tesis Doctoral). Facultad de Farmacia-Universidad de Sevilla, España.
- Baughman, R., Zakhidov, A. y De Heer, W. (2002). Carbon Nanotubes--the Route Toward Applications. , *Sci.* 297(5582), 787–792.
- Beer, F., Gügel, A., Martin, K., Räder, J. y Müllen, K. (1997). High–yield reactive extraction of giant fullerenes from soot. *J. Mater. Chem.*, 7(8), 1327–1330.
- Besteman, K., Lee, J., Wiertz, F., Heering, H. y Dekker, C. (2003). Enzyme-Coated Carbon Nanotubes as Single-Molecule Biosensors. *Nano Lett.*, (3)6: 727-730
- Bethune, D., C, Kiang., M, de Vries., G, Gorman., R, Savoy., J, Vazquez. y R, Beyers. (1993). Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls. *Nature*, 363(6430), 605–607.
- Bhirde, A., Patel, S., Sousa, A., Patel, V., Molinolo, A. A., Ji, Y. y Rusling, J. (2010). Distribution and clearance of PEG-single-walled carbon nanotube cancer drug delivery vehicles in mice. *Nanomed*, 5(10), 1535–1546. doi:10.2217/nnm.10.90
- Bianco, A., Kostarelos, K., Partidos, C. y Prato, M. (2005). Biomedical applications of functionalised carbon nanotubes *Chem. Commun.*, 571–577
- Botello-Méndez, A., Campos-Delgado, J., Morelos-Gómez, A., Romo-Herrera, J., Rodríguez, A., Navarro,H., Vidal, M., Terrones, H. y Terrones, M. (2008). Controlling the dimensions, reactivity and crystallinity of multiwalled carbon nanotubes using low ethanol concentrations. ,*Chem. Phys. Lett.*, 453(1-3), 55–61.
- Buzea, C., Pacheco-Blandino, I. y Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, Vol. 2, issue 4: MR17 - MR172
- Calle-Kantuta, G. (2010). Nanotecnología conceptos generales. *Rev, ITS.* 7-9.

- Cambré, S. (2008). Endo- and Exohedral Carbon Nanotube Hybrids: Preparation and Spectroscopic Characterisation (tesis). Universidad de Amberes. Ciudad de Amberes, Bélgica
- Cardona, C., Kitaygorodskiy, A. y Echegoyen, L. (2005). Trimetallic Nitride Endohedral Metallofullerenes: Reactivity Dictated by the Encapsulated Metal Cluster. *J. Am. Chem. Soc.*, 127(29), 10448–10453.
- Carey, F. (2006). Química Orgánica (6.ª Edición). McGraw Hill. Fuente: <https://cutt.ly/6xhb3G0>
- Castillo-León, J., Viviana-Novoa, L., Martínez-Ortega, F. y Escobar-Rivero, P. (2011). Carbon nanotubes-chitosan in HOS and THP-1 cells. *Salud UIS*; 43(1): 21-26
- Castillo-López, S. (2016, octubre 14). Inversión, beneficios y desafíos de la Nanotecnología. Recuperado de: <https://cutt.ly/txxLZSQ>
- Cataldo, F. y Da Ros, T. (2008). [Carbon Materials: Chemistry and Physics] Medicinal Chemistry and Pharmacological Potential of Fullerenes and Carbon Nanotubes Volume 1 || Gadolinium Endohedral Metallofullerene-Based MRI Contrast Agents. , 10.1007/978-1-4020-6845-4(Chapter 8), 157–180.
- Chai, Y., Guo, T., Jin, C., Haufler, R., Chibante, L., Fure, J., Wang, L., Alford, J. y Smalley, R. (1991). Fullerenes with metals inside. *J. Phys. Chem.*, 95(20), 7564–7568.
- Charlier, J. (2002). Defects in Carbon Nanotubes. *Acc. Chem. Res.*, 35(12), 1063–1069.
- Chen, R., Zhang, Y., Wang, D. y Dai, H. (2001). Noncovalent Sidewall Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes for Protein Immobilization. *J. Am. Chem. Soc.*, 123(16), 3838–3839.
- Cheng, F. y Adronov, A. (2006). Noncovalent Functionalization and Solubilization of Carbon Nanotubes by Using a Conjugated Zn–Porphyrin Polymer. *Chem. Eur. J.*, 12(19), 5053–5059
- Cherukuri, P., Gannon, C., Leeuw, T., Schmidt, H., Smalley, R., Curley, S. y Weisman, R. (2006). Mammalian pharmacokinetics of carbon nanotubes using intrinsic near-infrared fluorescence. *PNAS USA.*, 103(50), 18882–18886.
- Constantine, G., Shan, K., Flamm, S. y Sivananthan, M. (2004). Role of MRI in clinical cardiology. *The Lancet*, 363(9427), 2162–2171.

- Csajbók, É., Bányai, I., Vander Elst, L., Muller, R., Zhou, W. y Peters, J. (2005). Gadolinium(III)-Loaded Nanoparticulate Zeolites as Potential High-Field MRI Contrast Agents: Relationship Between Structure and Relaxivity. *Chem. Eur. J.*, 11(16), 4799–4807.
- Cuevas-Haber, B. y Cueto-González, J. (2018). *Nanotecnología. Aplicaciones en las ciencias Biomédicas*. Morfovirtual. <https://bit.ly/39Nu5OB>
- Danilenko, V. (2004). On the history of the discovery of nanodiamond synthesis. *Physics of the Solid State*, Vol. 46, No. 4, 595–599.
- Dekker, C., Tans, S. y Verschueren, A. (1998). Room-temperature transistor based on a single carbon nanotube. *Nature*, 393(6680), 49–52.
- Deng, X., Jia, G., Wang, H., Sun, H., Wang, X., Yang, S., Wang, T. y Liu, Y. (2007). Translocación y destino de nanotubos de carbono de paredes múltiples in vivo. *Carbon*, 45 (7), 1419-1424.
- D’Mello, S., Cruz, C., Chen, M.-L., Kapoor, M., Lee, S. y Tyner, K. (2017). The evolving landscape of drug products containing nanomaterials in the United States. *Nature Nanotechnology*, 12(6), 523–529.
- Donaldson, K., Poland, C., Murphy, F., Macfarlane, M., Chernova, T. y Schinwald, A. (2013). Pulmonary toxicity of carbon nanotubes and asbestos—similarities and differences. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 65 2078–86.
- Donald, O. y Peppas, N. (2006). Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, 307(1), 93–102.
- Donaldson, K., Aitken, R., Tran, L., Stone, V., Duffin, R., Forrest, G. y Alexander, A. (2006). Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety, *Toxicol. Sci.* 92 5–22.
- Dresselhaus, M., Dresselhaus, G. y Eklund, P. (1996). *Science of Fullerenes and Carbon Nanotube*, Academic Press: New York.
- Dresselhaus, M. y Dresselhaus, G. (1997). Nanotechnology in carbon materials. *NsM*; vol,9: 33-42.
- Dresselhaus, M., Dresselhaus, G. y Saito, R. (1995). Physics of carbon nanotubes. , *Carbon*. 33(7), 883–891.

- Drexler, E. y Minsky, M. (1986). *Engines Of Creation: The Coming Era of Nanotechnology. Two Styles of Technology*. Editorial Doubleday. <https://bit.ly/39MLCXC>
- Dreyer, D., Park, S., Bielawski, C. y Ruoff, R. (2010). The chemistry of graphene oxide. *Chem. Soc. Rev.*, 39 (1): 228–240.
- Duch, M., Scott-Budinger, G., Teng-Liang, Y., I Soberanes, S., Urich, D., Chiarella, S., Campochiaro, L., Gonzalez, A., Chandel, N., Hersam, M. y Mutlu, G. (2011). Minimizing Oxidation and Stable Nanoscale Dispersion Improves the Biocompatibility of Graphene in the Lung. *Nano Lett.* 14; 11(12): 5201–5207.
- Enyashin, A. e Ivanovskii, A. (2007). Functionalization of carbon nanotubes by covalently bonded graphite nanoplatelets: a theoretical study. *Mendeleev Commun* , 17(4), 199–201.
- Estela-Raffino, M. (2020). *Concepto de "Diagnóstico"*. Consultado: 12 de marzo de 2021. Recuperado de <https://concepto.de/diagnostico/>.
- Ferrari, M. (2008). Beyond drug delivery. *Nat. Nanotechnol.*, 3(3), 131–132.
- Frieden, E. (1972). The Chemical Elements of Life Scientific American, 227(1): 52-60.
- Fukushima, S., Kasai, T., Umeda, Y., Ohnishi, M., Sasaki, T. y Matsumoto, M. (2018). Carcinogenicity of multi-walled carbon nanotubes: challenging issue on hazard assessment. *J. Occup. Health*, 60(1), 10–30.
- Geim, A. y Kim, P. (2008). Carbon Wonderland. *Sci. Am.*, 298, 90-97.
- Gibson, J., McKee, J., Freihofer, G., Raghavan, S. y Gou, J. (2013). Enhancement in ballistic performance of composite hard armor through carbon nanotubes. *Int. J. Smart. Nano Mater.*, 4(4), 212–228.
- Gilbert, S. (2012). *A Small Dose of Toxicology*, 2nd Edition. Healthy World Press. Fuente: <https://cutt.ly/zTY4Ynu>
- González, E. y González, F. (2008). Síntesis por radiación con microondas de nanotubos de carbono. *Univ. Sci.*, Vol. 13 N° 3, 258-266
- González-Velázquez, V. (2015). *Nanomateriales de Carbono, síntesis, funcionalización y aplicaciones* (Tesis doctoral). Departamento de Ciencia e

Ingeniería de los materiales e Ingeniería Química, Universidad Carlos III de Madrid. España.

- Grobert, N. (2007). Carbon nanotubes-becoming clean. *Mater. today*. Vol.2 No.1
- Guerrero-López, E. (2103). Funcionalización de nanotubos de carbono con B-ciclodextrina para aplicaciones en farmacología (Tesis de maestría). Posgrado en Ciencia e ingeniería de materiales, UNAM. Ciudad de México
- Guo, J., Zhang, X., Li, Q. y Li, W. (2007). Biodistribución de nanotubos de carbono de paredes múltiples funcionalizados en ratones. *Nucl. Med. Biol.*, 34 (5), 579–583.
- Guo, T., Nikolaev, P., Thess, A., Colbert, D. y Smalley, R. (1995). Catalytic growth of single-walled nanotubes by laser vaporization. *Chem. Phys. Lett.*, 243(1-2), 49–54.
- Hartman, K., Laus, S., Bolskar, R., Muthupillai, R., Helm, L., Toth, E., Merbach, A. y Wilson, L. (2008). Gadonanotubes as ultrasensitive pH-smart probes for magnetic resonance imaging. *Nano Letters*. 8 (2):415-419
- He, H., Klinowski, J., Forster, M. y Lerf, A. (1998). A new structural model for graphite oxide. *Chem. Phys. Lett.*, 287(1-2), 53–56.
- Henmi, T. y Wada, K. (1976). Morphology and composition of allophane. *Am. Mineral.*, (61): 379-390.
- Hernández, Y., Holguín, G., Baquero, M. y Gomez-Baquero, F. (2004). Síntesis de nanotubos de carbono por el método de arco de descarga eléctrica. *Rev. colomb. fis.* vol 36, No.2, 296-300.
- Hirsch, A. (2002) .Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes. *Angew, Chem, Int. Ed.* 41, (11), 1853-1859.
- Hirsch, A. y Vostrowsky, O. (2005). Functionalization of Carbon Nanotubes. *Topics in Current Chemistry*. In: Noncovalent Exohedral Functionalization, Springer. 245: 221– 230
- Hu, H., Ni, Y., Montana, V., Haddon, R. y Parpura, V. (2004). Chemically Functionalized Carbon Nanotubes as Substrates for Neuronal Growth. *Nano Lett.*, 4(3), 507–511.
- Huczko, A., y Lange, H. (2001). Carbon nanotubes: Experimental evidence of skin irritation and allergy. *FST*, 9(2), 247–250.

- Hummers, W. y Offeman, R. (1958). Preparation of Graphitic Oxide. *J. Am. Chem. Soc.*, 80 (6): 1339.
- Iakoubovskii, K., Baidakova, M., Wouters, B., Stesmans, A., Adriaenssens, G., Vul', A. y Grobet, P. (2000). Structure and defects of detonation synthesis nanodiamond. *Diam. Relat. Mater.*, 9(3-6), 861–865.
- Iijima, S. y Ichihashi, T. (1993). Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *Nature*, vol. 363, pp. 603-605.
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2015). *Seguridad y salud en el trabajo con nanomateriales*. Servicio de Ediciones y Publicaciones del INSHT. <https://cutt.ly/axsQqBX>.
- Jain, S., Thakare, V., Das, M., Godugu, C., Jain, A., Mathur, R., Chuttani, K. y Mishra, AK (2011). The toxicity of end-defective multi-walled carbon nanotubes is fundamentally dependent on their density of functionalization. *Chem. Res. Toxicol.*, 24 (11), 2028-2039.
- Johnson, D., Methner, M., Kennedy, A. y Steevens, J. (2010). Potential for occupational exposure to engineered carbon-based nanomaterials in environmental laboratory studies. *Envir. Health Persp.* 118(1):49–54
- Kam, N., O'Connell, M., Wisdom, J. y Dai, H. (2005). Carbon nanotubes as multifunctional biological transporters and near-infrared agents for selective cancer cell destruction *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102 11600–5
- Karimi, M., Ghasemi, A., Mirkiani, S. y Hamblin, M. (2017). *Carbon Nanotubes in Drug and Gene Delivery*. Morgan & Claypool Publishers, 1210 Fifth Avenue, Suite 250, San Rafael, CA, 94901, USA
- Khalid, P., Hussain, M., Suman, V. y Arun, A. (2016). Toxicology of carbon nanotubes-a review. *Int. J. Appl. Eng. Res.* 11 148–57
- Kim, K., Bae, D., Kim, J., Park, K., Lim, S., Kim, J., Choi, W., Park, C. y Lee, Y. (2002). Modification of electronic structures of a carbon nanotube by hydrogen functionalization. *Adv Mater*;14(24),1818–1821.
- Kobayashi, N., Izumi, H. y Morimoto, Y. (2017). Review of toxicity studies of carbon nanotubes. *J. Occup. Health.*, 59(5):394-407.
- Kreyling, W.G., M, Semmler-Behnke. & Q, Chaudhry. (2010). A complementary definition of nanomaterial. *Nano Today.* 5, 165-168.
- Kroto, H., Heath, J., O'Brien, S., Curl, R. y Smalley, R. (1985). C60: Buckminsterfullerene. , 318(6042), 162–163.

- Krueger, A. (2008). New Carbon Materials: Biological Applications of Functionalized Nanodiamond Materials. *Chem.Eur.*14(5), 1382–1390.
- Kumar, M. y Yoshinori, A. (2010). Chemical Vapor Deposition of Carbon Nanotubes: A Review on Growth Mechanism and Mass Production. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 10, pp. 3739-3758.
- Lacerda, L., Herrero, MA, Venner, K., Bianco, A., Prato, M. y Kostarelos, K. (2008). La forma y la individualización de los nanotubos de carbono son fundamentales para la excreción renal. *Small.*, 4 (8), 1130-1132
- Lacerda, L., Soundararajan, A., Singh, R., Pastorin, G., Al-Jamal, KT, Turton, J., Frederik, P., Herrero, M., Li, S., Bao, A., Emfietzoglou, D., Mather, S., Phillips, W., Prato, M., Bianco, A., Goins, B. y Kostarelos, K. (2008). Imágenes dinámicas de la circulación sistémica y la excreción urinaria de nanotubos de carbono de paredes múltiples funcionalizadas. *Adv. Mater.*, 20 (2), 225–230.
- Lam, C., James, J., McCluskey, R. y Hunter, R. (2004). Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol Sci* 77(1):126–134.
- Lam, C., James, J., McCluskey, R., Arepalli, S. y Hunter, R. (2006) A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. *Crit. Rev. Toxicol.*, 36(3):189–217
- Lin, Zhiqing., Zhang, Huashan., Huang, Jiehua., Xi, Zhuge., Liu, Lihua., Lin, Bencheng. (2013). Biodistribution of single-walled carbon nanotubes in rats. *Toxicol. Res.*, 3(6), 497–502.
- Liu, J., Yang, S., Wang, H. y Liu, Y. (2010). Advances in Biodistribution Study and Tracing Methodology of Carbon Nanotubes. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 10(12), 8469–8481
- Liu, Z., Chen, K., Davis, C., Sherlock, S., Cao, Q., Chen, X. y Dai, H. (2008). Drug Delivery with Carbon Nanotubes for In vivo Cancer Treatment. *Can. Res.*, 68(16), 6652–6660.
- Liu, Z., Cai, W., He, L., Nakayama, N., Chen, K., Sun, X., Chen, X. y Dai, H. (2006). In vivo biodistribution and highly efficient tumour targeting of carbon nanotubes in mice. *Letters*, 2(1), 47–52.

- Liu, Z., Tabakman, S., Welsher, K. y Dai, H. (2009). Carbon nanotubes in biology and medicine: in vitro and in vivo detection, imaging and drug delivery. *Nano. Res.* 2, 85–120.
- Lizcano-Alvarez, J. (2002, Diciembre 12). Proyecciones económicas y sociales de la nanociencia y la nanotecnología. Recuperado de: <https://cutt.ly/zxQn9pY>
- Luo, M., Chen, P., Wang, J., Deng, X., Dong, L., Wu, M. y Shen, X. (2016). La citotoxicidad de nanotubos de carbono de paredes múltiples oxidados en macrófagos. *Sci. China Chem.*, 59 (7), 918–926.
- Ma, P., Siddiqui, N., Marom, G. y Kim, J. (2010). Dispersion and functionalization of carbon nanotubes for polymer-based nanocomposites: A review. *Composites: Part A*, 41(10), 1345–1367
- Madani, S. Y., Mandel, A., & Seifalian, A. M. (2013). A concise review of carbon nanotube's toxicology. *Nano Rev.*, 4(1), 21521.
- Manna, S., Sarkar, S., Barr, J., Wise, K., Barrera, E., Jejelowo, O., Rice-Ficht, A. y Ramesh, G. (2005). El nanotubo de carbono de pared simple induce estrés oxidativo y activa el factor de transcripción nuclear κ B en queratinocitos humanos. *Nano Lett.*, 5 (9), 1676-1684.
- Manus, L., Mastarone, D., Waters, E., Zhang, X., Schultz-Sikma, E., MacRenaris, K., Ho, D. y Meade, T. (2010). Gd(III)-Nanodiamond Conjugates for MRI Contrast Enhancement. *Nano Lett.*, 10(2), 484–489.
- Martín, N. (2011). Sobre fullerenos, nanotubos de carbono y grafenos. *ARBOR Ciencia, Pensamiento y Cultura*. 115-131
- Maynard, A., Baron, P., Foley, M., Shvedova, A., Kisin, E. y Castranova, V. (2004). Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material. *J. Toxicol Environ Health A* 67(1):87–107.
- McKee, T., Perlman, G., Morris, M., y Komarova, S. (2019). Extracellular matrix composition of connective tissues: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Reports*, 9(1):10542.
- Mejias-Sánchez, Y., Cabrera-Cruz, N., Toledo-Fernández, A. y Duany-Machado. O. (2009). La nanotecnología y sus posibilidades de aplicación en el campo científico-tecnológico. *Revista CSP*. 35(3).

- Méndez-Medrano, Ma., Rosu, H. y Torres-González, L. (2012). Grafeno: el alótropo más prometedor del carbono. *Acta Universitaria*, vol. 22, núm. 3, pp. 20-23.
- Méndez-Rojas, M y Enciso-Barros, A. (2011). El grafeno: entre serendipia, cinta adhesiva y emigrantes. *Educ. quím.* 22(1), 72-74.
- Mickelson, E., Huffman, C., Rinzler, A., Smalley, R., Hauge, R. y Margrave, J. (1998) Fluorination of single-wall carbon nanotubes. *Chem. Phys. Lett.*;296:188–94.
- Mikawa, M., Kato, H., Okumura, M., Narazaki, M., Kanazawa, Y., Miwa, N. y Shinohara, H. (2001). Paramagnetic Water-Soluble Metallofullerenes Having the Highest Relaxivity for MRI Contrast Agents. *Bioconjugate Chem.*, 12(4), 510–514.
- Mikhail, I. (2007). Graphene: carbon in two dimensions. , 10(1-2), 20–27.
- Mittal, V. (2011). Carbon Nanotubes Surface Modifications: An Overview. (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.) *Surface Modification of Nanotube Fillers (1-20)*.
- Mochalin, V., Shenderova, O., Ho, D. y Gogotsi, Y. (2011). The properties and applications of nanodiamonds. , 7(1), 11–23.
- Monteiro, N., Nemanich, R., Inman, A., Wang, Y., y Riviere, J. (2005). Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol. Lett.*, 155(3), 377–384.
- Mukhopadhyay, P. y Gupta, R. (2011). Trends and frontiers in graphenebased polymer nanocomposites. *Plast. Eng.*, 67: pp. 32-42.
- Murray, A., Kisin, E., Leonard, S., Young, S., Kommineni, C., Kagan, V., . Castranova, V. y Shvedova, A. (2009). Oxidative stress and inflammatory response in dermal toxicity of single-walled carbon nanotubes. *Toxicology*, 257: 161–71.
- Mutlu, G., Budinger, R., Green, A., Urich, D., Soberanes, S., Chiarella, S., Alheid, G., McCrimmon, D., Szleifer, I. y Hersam, M. (2010). Biocompatible Nanoscale Dispersion of Single-Walled Carbon Nanotubes Minimizes in vivo Pulmonary Toxicity. *Nano Lett.*, 10, 1664–1670.
- Nishikiori, H., Ito, M., Setiawan, R., Kikuchi, A., Yamakami, T., y Fujii, T. (2012). Photofuel Cells Using Allophane–Titania Nanocomposites. *Chem. Lett.*, 41(7), 725–727.

- Nitz, W. y Reimer, P. (1999). Contrast mechanisms in MR imaging. *Eur. Radiol.*, 9(6), 1032–1046
- Novoselov, K. y Castro-Neto, A. (2012). Two-dimensional crystals-based heterostructures: materials with tailored properties. *Physica. scripta.* T146 014006.
- Osswald, S., Yushin, G., Mochalin, V., Kucheyev, S. y Gogotsi, Y. (2006). Control of sp² /sp³ carbon ratio and surface chemistry of nanodiamond powders by selective oxidation in air. *J. Am. Chem. Soc.* 128, 11635–11642.
- Pantarotto, D., Partidos, C. D., Graff, R., Hoebeke, J., Briand, J.-P., Prato, M. y Bianco, A. (2003). Synthesis, Structural Characterization, and Immunological Properties of Carbon Nanotubes Functionalized with Peptides. *J. Am. Chem. Soc.*, 125(20), 6160–6164.
- Pantarotto, D., Partidos, C., Hoebeke, J., Brown, F., Kramer, E., Briand, J., Muller, S., Prato, M. y Bianco, A. (2003). Immunization with Peptide-Functionalized Carbon Nanotubes Enhances Virus-Specific Neutralizing Antibody Responses. *Chem. Biol.*, 10(10), 961–966.
- Pantarotto, D., Singh, R., McCarthy, D., Erhardt, M., Briand, J.-P., Prato, M., Kostarelos, K. y Bianco, A. (2004). Functionalized Carbon Nanotubes for Plasmid DNA Gene Delivery. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 43(39), 5242–5246.
- Park, K., Chhowalla, M., Iqbal, Z., y Sesti, F. (2003). Single-walled Carbon Nanotubes Are a New Class of Ion Channel Blockers. *J. Biol. Chem.*, 278(50), 50212–50216.
- Patlolla, A., Randolph, J., Kumari, S. y Tchounwou, P. (2016). Toxicity Evaluation of Graphene Oxide in Kidneys of Sprague-Dawley Rats. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 13(4), 380.
- Pauling, L. (1931). The nature of the chemical bond. Application of results obtained from the quantum mechanics and from a theory of paramagnetic susceptibility to the structure of molecules. *J. Am. Chem. Soc.*, 53 (4): 1367-1400.
- Pekker, S., Salvetat, J., Jakab, E., Bonard, J. y Forró, L. (2001). Hydrogenation of Carbon Nanotubes and Graphite in Liquid Ammonia. *J. Phys. Chem.*, 105(33), 7938–7943.

- Pérez-Zamorano, J. y Torres-González, L. (2017). Modelo simple de innovación en la industria automotriz para eliminación de óxido en partes metálicas usando nanomateriales. *Entre textos* (8)24, 65-74.
- Pokropivny, V. y Skorokhod, V. (2007). Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. *Mater. Sci. Eng.*, 27(5-8), 990–993.
- Poland, C., Duffin, R., Kinloch, I., Maynard, A., Wallace, W., Seaton, A., Stone, V., Brown, S., MacNee, W. y Donaldson, K. (2008). Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nature Nanotechnol.*, 3(7), 423–428.
- Prato, M., Kostarelos, K. y Bianco, A. (2008). Functionalized Carbon Nanotubes in Drug Design and Discovery. *Acc. Chem. Res.*, 41(1), 60–68.
- Putz, K., Mitchell, C., Krishnamoorti, R. y Green, P. (2004). Elastic modulus of single-walled carbon nanotube/poly(methyl methacrylate) nanocomposites. *Wiley InterSci.*, 42(12), 2286–2293.
- Radomski, A., Jurasz, P., Alonso-Escolano, D., Drews, M., Morandi, M., Malinski, T., y Radomski, M. (2005). Nanoparticle-induced platelet aggregation and vascular thrombosis. *Br. J. Pharmacol.*, 146(6), 882–893.
- Repetto, M y Sanz, P. (1993). Glosario de términos toxicológicos. IUPAC . Definición aguda, subaguda y crónica. Fuente: <https://cutt.ly/kTY8JfL>
- Rodríguez-Galván, A., M, Rivera., P, García-López., L, Medina. & V, Basiuk. (2020). Gadolinium-containing carbon nanomaterials for magnetic resonance imaging: Trends and challenges. *J. Cell. Mol. Med.*, 24: 3779–3794.
- Roduner, E. (2006). Size matters: why nanomaterials are different. *Chem. Soc. Rev.* 35(7): 583-592
- Rosenbaum, S. (2011). Basic Pharmacokinetics and pharmacodynamics: an integrated textbook and computer simulations. *John Wiley & Sons*.
- Rouse, J., Yang, J., Ryman-Rasmussen, J., Barron, A., y Monteiro-Riviere, N. (2007). Effects of Mechanical Flexion on the Penetration of Fullerene Amino Acid-Derivatized Peptide Nanoparticles through Skin. *Nano Lett.*, 7(1), 155–160.

- Ruggiero, A., Villa, C., Bander, E., Rey, D., Manova-Todorova, K., Bergkvist, M., Batt, C., Deen, W., Scheinberg, D. y McDevitt, M. (2010). Paradoxical glomerular filtration of carbon nanotubes. *PNAS.*, 107(27), 12369–12374.
- Sanand, S., Tribhuvan, K., Kumar, S. y Tyagi, A. (2017, Junio 01). Materiales nanoestructurados: clasificación y métodos de caracterización (Nanotecnología). Recuperado de: <https://cutt.ly/HxhOI0W>
- Sayes, C., Liang, F., Hudson, J., Mendez, J., Guo, W., Beach, J. y Colvin, V. (2006). Functionalization density dependence of single-walled carbon nanotubes cytotoxicity in vitro. *Toxicol. Lett.*; 161(2):135-42
- SCENIHR. (2006). The appropriateness of existing methodologies to assess the potential risks associated with engineered and adventitious products of nanotechnologies. Fuente: <https://cutt.ly/lxsTR9G>
- Schneider, M., Stracke, F., Hansen, S. y Schaefer, U. (2009). Nanoparticles and their interactions with the dermal barrier. *Dermatoendocrinol.* 1(4): 197–206.
- Sharifi, S., Behzadi, S., Laurent, S., Laird Forrest, M., Stroeve, P. y Mahmoudi, M. (2012). Toxicidad de los nanomateriales. *Chem. Soc. Rev.*, 41 (6), 2323–2343.
- Shenderova, O., Koscheev, A., Zaripov, N., Petrov, I., Skryabin, Y., Detkov, P., Turner, S. y Van Tendeloo, G. (2011). Surface Chemistry and Properties of Ozone-Purified Detonation Nanodiamonds. *J. Phys. Chem.*, 115(20), 9827–9837.
- Silva-Yumi, J., Cazorla, R., Medina, C. y Chango, G. (2021). Allophane, a natural nanoparticle present in andisoles of Ecuador, properties and applications. *Rev. Life Sci.*, 33(1): 53-66.
- Singh, R., Pantarotto, D., Lacerda, L., Pastorin, G., Klumpp, C., Prato, M., Bianco, A. y Kostarelos, K. (2006). Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *PNAS*, 103(9), 3357–3362.
- Sinnott, S. (2002). Chemical Functionalization of Carbon Nanotubes. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2; 113-123.

- Sitharaman, B., Kissell, K., Hartman, K., Tran, L., Sun, Y., Khant, H., Ludtke, S., Chiu, W., Laus, S., To' th, E', Helm, L., Merbachd, A., Baikalov, A., Rusakova, I. y Wilson, L. (2005). Superparamagnetic gadonanotubes are high-performance MRI contrast agents. *Chem. Communica.*, (31), 3915-3917.
- Solano-Muñoz, H. (2015). Grafeno, el material del futuro y sus aplicaciones médicas. *RECyT.*, 31(2): 28-36.
- Stevens, J., Huang, A., Peng, H., Chiang, I., Khabashesku, V. y Margrave, J. (2003). Sidewall amino-functionalization of SWNTs through fluorination and subsequent reactions with terminal diamines. *Nano Letters.* 3(3), 331-336.
- Takagi, A., Hirose, A., Nishimura, T., Fukumori, N., Ogata, A., Ohashi, N. y Kanno, J. (2008). Induction of mesothelioma in p53+/- mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J. Toxicol. Sci.*, 33(1), 105-111
- Tascón, J. (2007). Materiales de carbono: estructuras y formas. *Opt. Pura Apl.* 40 (2): 149-159.
- Tessonnier, J., Villa, A., Majoulet, O., Su, D. y Schlögl, R. (2009). Defect-Mediated Functionalization of Carbon Nanotubes as a Route to Design Single-Site Basic Heterogeneous Catalysts for Biomass Conversion. *Angew. Chem. Int. Ed*, 48(35), 6543-6546
- Unger, E., Graham, A., Kreupl, F., Liebau, M. y Hoenlein, W. (2002). Electrochemical functionalization of multi-walled carbon nanotubes for solvation and purification. *Current Applied Physics*, 2(2), 107-111.
- Van Bommel, A., Crombeen, J. y Van-Tooren, A. (1975). LEED and AUGER electron observations of the SiC (0001) surface. *Surface Science* 48(2): pp. 463-472
- Vance, M., Kuiken, T., Vejerano, E.; McGinnis, S., Hochella, M., Rejeski, D. y Hull, M. (2015). Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J. Nanotechnol.*, 6, 1769-1780.
- Wang, H., Wang, J., Deng, X., Sun, H., Shi, Z., Gu, Z., Liu, Y. y Zhaoc, Y. (2004). Biodistribución de nanotubos de carbono de pared simple de carbono en ratones. *RECyT.*, 4 (8), 1019-1024..

- Wang, J., Deng, X., Yang, S., Wang, H., Zhao, Y. y Liu, Y. (2008). Translocación rápida y farmacocinética de nanotubos de carbono de pared simple hidroxilados en ratones. *Nanotoxicol.*, 2 (1), 28–32.
- Warheit, D. (2003). Comparative Pulmonary Toxicity Assessment of Single-wall Carbon Nanotubes in Rats. *Toxicol. Sci.*, 77(1), 117–125.
- Wilder, J., Venema, L., Rinzler, A., Smalley, R. y Dekker, C. (1998). Electronic structure of atomically resolved carbon nanotubes. *Nature*, 391(6662), 59–62.
- Wong, Y., Wei, S., Kang, W., Davidson, J., Hofmeister, W., Huang, J. y Cui, Y. (2004). Carbon nanotubes field emission devices grown by thermal CVD with palladium as catalysts. *Diam. Relat. Mater.*, vol.13, nº(11-12), 2105–2112.
- Xia, W., Wang, Y., Bergsträßer, R., Kundu, S. y Muhler, M. (2007). Surface characterization of oxygen-functionalized multi-walled carbon nanotubes by high-resolution X-ray photoelectron spectroscopy and temperature-programmed desorption. *Appli. Surf. Sci.*, 254(1), 247–250.
- Xu, J., Futakuchi, M., Shimizu, H., Alexander, D., Yanagihara, K. y Fukamachi, K. (2012) Multi-walled carbon nanotubes translocate into the pleuralcavity and induce visceral mesothelial proliferation in rats. *Cancer Sci.* 103 2045–50.
- Yáñez-Vanegas, N. (2009). Síntesis de nanotubos de carbono por el método de arco de descarga (Propuesta para optar a la nota de trabajo de grado 1). Facultad de Ciencias Básicas e Ingenierías. Departamento de Química, Montería. Consulta en: shorturl.at/aiHKZ
- Yang, K., Feng, L., Hong, H., Cai, W. y Liu, Z. (2013). Preparation and functionalization of graphene nanocomposites for biomedical applications. *Nature Protocols*, 8(12), 2392–2403.
- Yang, S., Kas, F., Liu, J., Wang, J., Sun, H., Liu, Y., Chen M., Huang, Y., Wang, X., Wang, H. y Sun, Y. (2008). Covalently PEGylated Carbon Nanotubes with Stealth Character In Vivo. *Small*, 4(7), 940–944.
- Yang, S., Guo, W., Lin, Y., Deng, X., Wang, H., Sun, H., Liu, Y., Wang, X., Wang, W., Chen, M., Huang, Y. y Sun, Y. (2007). Biodistribution of Pristine Single-Walled Carbon Nanotubes In Vivo. *J. Physi. Chem.*, 111(48), 17761–17764.
- Yang, S., Wang, X., Jia, G., Gu, Y., Wang, T., Nie, H., Gee, C., Wang, H. y Liu, Y. (2008). Long-term accumulation and low toxicity of single-walled carbon

- nanotubes in intravenously exposed mice. *Toxicol. Lett.*, 181(3), 182–189.
- Yang, S., Wang, H., Meziari, M., Liu, Y., Wang, X. y Sun, Y. (2009). Biodefunctionalization of Functionalized Single-Walled Carbon Nanotubes in Mice. *Biomacromolecules* 10, 2009–2012.
 - Záyago-Lau, E. y Foladori, G. (2010). La nanotecnología en México: un desarrollo incierto. *EST.*, núm. 32, 143-178.
 - Zhang, Y., Wang, Y., Chen, N., Wang, Y., Zhang, Y., Zhouy, Z. y Wei, L. (2010). Photovoltaic enhancement of Si solar cells by assembled carbon nanotubes. *Nano-Micro Letters*, 2(1), 22–25.
 - Zhang, Z., Yang, X., Zhang, Y., Zeng, B., Wang, S., Zhu, T., Roden, R. B., Chen, Y. y Yang, R. (2006). Delivery of telomerase reverse transcriptase small interfering RNA in complex with positively charged single-walled carbon nanotubes suppresses tumor growth. *Clin. Cancer Res.*, 12, 4933–4939.
 - Zheng, N., Sun, D., Zou, P. y Jiang, W. (2017). Scientific and Regulatory Considerations for Generic Complex Drug Products Containing Nanomaterials. *The AAPS Journal*, 19(3), 619–631.

9. APÉNDICE

GENERALIDADES

1. Alótopos del carbono

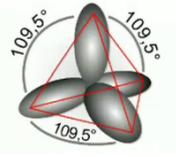
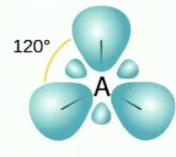
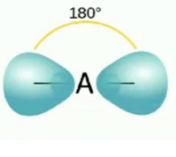
El carbono es un elemento químico de número atómico 6, símbolo “C” y es sólido a temperatura ambiente. Es también el 15º elemento más abundante en la corteza terrestre y el cuarto elemento más abundante en el universo en masa. La abundancia del carbono, su diversidad única de compuestos orgánicos y su capacidad para formar polímeros, permitieron la generación de la vida sobre la Tierra hace aproximadamente 4 mil millones de años (Martín, 2011; Frieden, 1972).

La capacidad para formar enlaces con diversas moléculas y generar estructuras complejas es una de sus propiedades más interesantes, esta versatilidad proviene de su alotropía. En química la alotropía se refiere a la propiedad que poseen determinados elementos químicos de presentarse bajo diferentes estructuras moleculares en el mismo estado físico (Carey, 2006). Esto ocurre debido a que existe una modificación en la distribución de los orbitales atómicos dentro de un átomo para formar nuevos orbitales híbridos, esta modificación surge como consecuencia por una gran cantidad de energía y acercamiento de los electrones. A este proceso se le conoce como hibridación (Pauling, 1931).

En el caso del carbono, puede tener hasta tres hibridaciones en sus orbitales (sp , sp^2 y sp^3), estas hibridaciones dan como resultado que el carbono se presenta en diferentes alotropías como lo son el grafito, grafeno, diamante, fullereno y nanotubos de carbono (Martín, 2011).

Los nanotubos de carbono (CNTs, por sus siglas en inglés), el grafito, el grafeno y los fullerenos presentan hibridación sp^2 , mientras que la hibridación sp^3 la presenta el nanodiamante (Tabla S1) (Méndez-Medrano et al., 2012; Tascón, 2007).

Tabla S1. Relación entre hibridación, estereoquímica y alotropías del carbono.

Tipo de hibridación	Estereoquímica	Como Ocurre	Dibujo	Estructuras
sp ³	Tetraédrica	1 orbital 2s + 3 orbitales 2p		Nanodiamantes
sp ²	Trigonal plana	1 orbital 2s + 2 orbitales 2p		CNTs, grafito, grafeno y fullerenos
sp	Lineal	1 orbital 2s + 1 orbital 2p		Carbinos

Los alótropos del carbono son nanomateriales que han llamado la atención debido a sus propiedades físicas (como el color, brillo, densidad, dureza y su conductividad eléctrica y térmica) y químicas (Martín, 2011). Sin embargo, el desarrollo de cualquier nueva ciencia o tecnología necesita una clasificación, por lo que a continuación se expondrá una.

A estos nanomateriales de reciente creación, se les puede clasificar con base en la propuesta de Pokropivny y Skorokhod en 2007 (Pokropivny y Skorokhod, 2007; Sanand et al, 2017). Esta clasificación se basa en la dimensionalidad de la nanoestructura, se reconocen cuatro (0D, 1D, 2D, 3D) (Figura S1). A continuación se explicará en breve cada uno:

- La dimensión cero “0D”, son los nanomateriales donde sus tres dimensiones caen en la escala nanométrica, por ejemplo, nanopartículas, esferas o partículas puntuales como los fullerenos.
- Una dimensión o “1D”, son los nanomateriales que tienen una de sus dimensiones fuera de la escala nanométrica, por ejemplo, los CNTs.

- Dos dimensiones o “2D”, son los que tienen dos dimensiones fuera del rango nanométrico, por ejemplo, la monocapa de grafeno.
- Tres dimensiones o “3D”, son los que pueden tener todas sus dimensiones fuera de la escala nanométrica. Esto gracias a la aglomeración o unión de las nanoestructuras que les permiten formar materiales nanoestructurados en una escala macroscópica. Ejemplo de este último, son el grafito y los nanodiamantes.

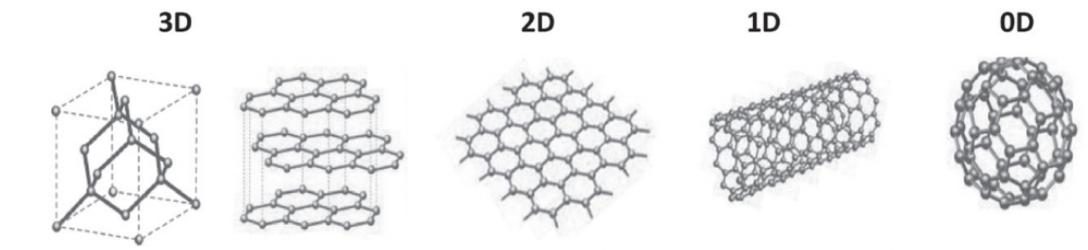


Figura S1. Clasificación basada en la dimensionalidad de los alotropos del carbono hecha por Pokropivny y Skorokhod (Pokropivny y Skorokhod, 2007; Mikhail, 2007).

Nanodiamantes

Los nanodiamantes (NDs, por sus siglas en inglés) fueron producidos por primera vez por los investigadores Volkov, Danilenko y Elin en el año de 1963 en cámaras de explosión. Sin embargo, no fueron muy llamativas para su tiempo, posteriormente se redescubrieron 19 años después por los investigadores Staver y Lyamkin en 1982 (Danilenko, 2004).

La forma más común de sintetizar a los NDs es por medio de un proceso llamado detonación. El resultado de la detonación son los nanodiamantes de detonación (DND), también conocido como diamantes ultradispersos (UDD), estos son cristales de tamaño nanoscópico que se sintetiza a partir de la detonación de dos agentes explosivos, se usa comúnmente el trinitrotolueno (TNT) y la ciclotrimetilentrinitramina (RDX), la detonación se realiza en una cámara hermética llena de un gas inerte o de un refrigerante de agua (hielo), denominado síntesis "seca" o "húmeda", respectivamente, y en una atmósfera deficiente en oxígeno (Mochalin et al., 2011).

La explosión del TNT y el RDX dentro de la cámara producen gases que contienen bastante carbono libre. Este carbono recibe altas presiones y temperaturas durante la explosión (30 GPa y una temperatura de 3726.85 °C respectivamente), lo cual, le permiten adoptar una fase termodinámicamente más estable, es decir, adopta la fase de diamante. Cabe resaltar que esto es sólo una propuesta, ya que hasta la fecha, no hay ninguna teoría confirmada sobre la formación de los nanodiamantes (Iakoubovskii, et al., 2000).

Después de la detonación dentro de la cámara queda un residuo llamado "hollín de detonación", el cual contiene a los NDs, alótropos de carbono (25-85 % en peso) y muchas otras impurezas (metales y óxidos, 1 a 8 % en peso). Los NDs sintetizados pueden tener una estructura cristalina casi perfecta con fracciones insignificantes de carbono no diamantino en su superficie (Mochalin et al., 2011). Las observaciones por microscopía electrónica de transmisión (TEM) (Figura S2) muestran que las partículas de nanodiamante son poliedros formados por un núcleo de diamante constituido por carbono sp³, que puede estar parcialmente recubierto por una cáscara gráfica o carbono amorfo con enlaces colgantes terminados por grupos funcionales (Osswald et al., 2006; Mochalin et al., 2011).

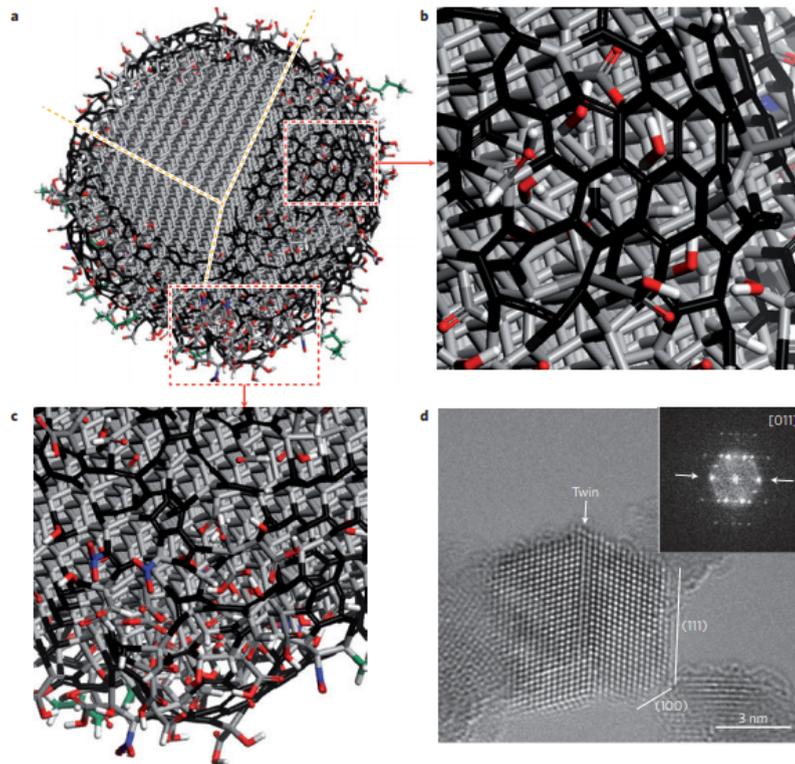


Figura S2. Estructura de una sola partícula de nanodiamante. a) Partícula de ND; b y c).cáscara gráfica (mostrado en negro) con grupos funcionales (mostrado en rojo, azul y verde); d) muestra una micrografía TEM, donde se observa el núcleo de diamante muy ordenado. Mochalin et al., 2011; Shenderova et al., 2011

Los NDs presentan varias características prometedoras, entre las que destacan: su fácil y síntesis económica a gran escala; su pequeño tamaño; su alta biocompatibilidad y baja citotoxicidad; tiene una buena dispersión en agua; y por último, puede ser funcionalizados con varios grupos funcionales en su superficie (Krueger, 2008).

Debido a estas características, los NDs son importantes aspirantes para aplicaciones en el área biológica. Por ejemplo, se investiga su biocompatibilidad para ser utilizado como transportador de fármacos. Además, se ha investigado su uso también como soporte en la ingeniería y crecimiento de tejidos. (Krueger, 2008) y por último, es posible utilizarlos para la generación de imágenes de diagnóstico (Alzate-Carvajal, 2017).

A continuación se describe a detalle cada uno de los alótropos de carbono:

Grafeno

El grafito es un material compuesto por varias capas, débilmente acopladas, de cristales bidimensionales de grafeno. Debido a esta característica, fue en el año 2004, cuando los físicos Andre Geim y Kostya Novoselov de la Universidad de Manchester, Reino Unido, utilizaron una técnica llamada exfoliación micromecánica o “método de la cinta Scotch” para separar estas capas (Figura S3). El método consiste en utilizar cinta adhesiva simple para separar las capas superficiales del grafito pirolítico altamente orientado en monocapas de grafeno o cristales bidimensionales (Mikhail, 2007; Geim y Kim, 2008).

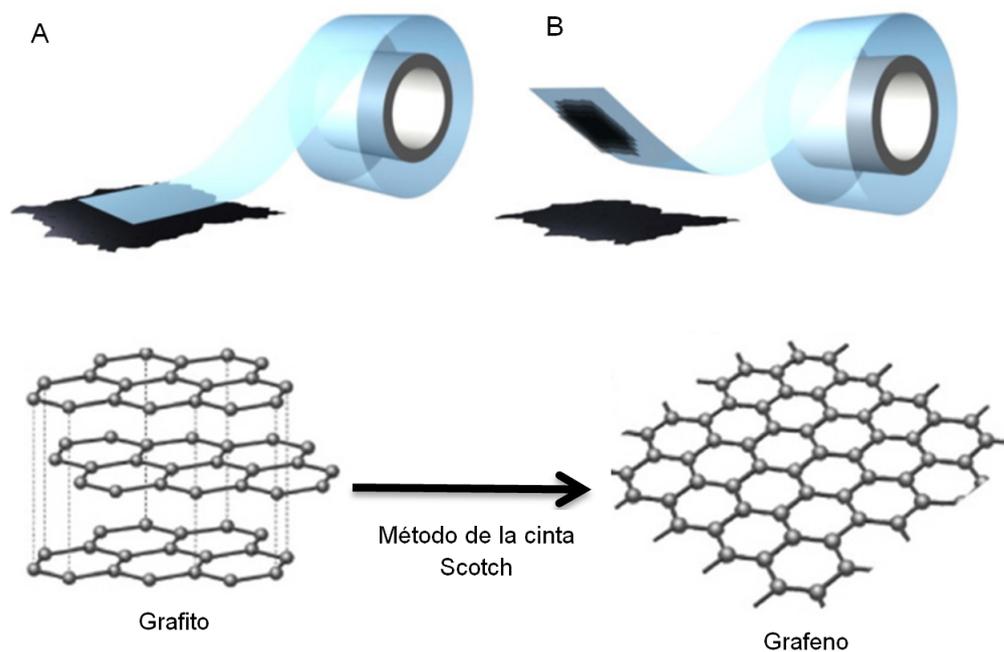


Figura S3. Imagen ilustrativa del proceso de Geim y Novoselov (Tomada y modificada de Novoselov y Castro-Neto, 2012)

El descubrimiento de este nuevo nanomaterial trajo consigo el asombro de la comunidad científica. La razón es que presenta propiedades únicas y prometedoras para el desarrollo de nanotecnología (Méndez-Rojas y Enciso-Barros, 2011).

Entre estas propiedades se encuentran: su increíble elasticidad y resistencia, llegando a estirarse hasta un 10% y siendo duro como el diamante (puede soportar átomos metálicos pesados sobre su superficie sin romperse); su fuerza mecánica le permite soportar presiones mayores a 1 060 GPa; tiene un área superficial específica de 2 630 m²/g; tiene una conductividad térmica de 3 000 W/mK, lo que lo

hace mejor conductor que cobre y disipar mejor el calor.(Méndez-Rojas y Enciso-Barros, 2011)

Por último, como su estructura electrónica es un intermedio entre un semiconductor y un conductor, tiene la capacidad de conducir electrones a temperatura ambiente hasta $15\ 000\ \text{cm}^2/\text{Vs}$. Convirtiéndolo en el material conductor más rápido, ni siquiera el silicio se le puede comparar. (Méndez-Medrano et al., 2012; Van Bommel et al., 1975).

Gracias a sus propiedades, el grafeno tiene el potencial de ser explotado en el desarrollo de nuevas tecnologías en la industria electrónica (nuevos transistores, de naturalezas no silíceas, para novedosas computadoras; nuevos materiales para la construcción de pantallas planas transparentes, paneles luminosos, celdas solares, entre otros) y también compite con los CNTs en aplicaciones como en recubrimientos, sensores, dispositivos de almacenamiento y aplicaciones en la producción de energía eléctrica (Méndez-Rojas y Enciso-Barros, 2011; Mukhopadhyay y Gupta, 2011).

El grafeno como tal no puede ser utilizado para todas las aplicaciones antes mencionadas, por lo que se debe pasar por una modificación química, en la cual, se genera el monocapas de óxido de grafeno (OG). El método más fácil de obtener OG es a partir del grafito (Hummers y Offeman, 1958).

El procedimiento consiste en oxidar al grafito con un oxidante fuerte para generar óxido de grafito, este mantiene la estructura en capas del grafito pero con un espacio entre capas mucho más grande e irregular. Esto permite que al meter al óxido de grafito en medio básico, sus capas se dispersan en forma de monocapas de OG (Figura S4). El OG contiene una amplia gama de grupos funcionales reactivos de oxígeno., lo que lo convierte en un gran candidato para su uso en las aplicaciones antes mencionadas, mediante funcionalizaciones químicas (Dreyer et al., 1958).

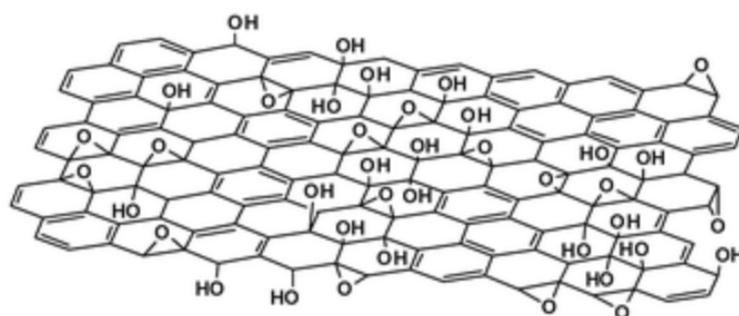


Figura S4. Modelo del óxido de grafeno (He et al., 1998).

Por otro lado, el óxido de grafeno tiene aplicaciones muy importantes en la biomedicina. Ejemplo de ello, es su uso para tratamientos dirigidos (entregar fármacos), parasitología, ingeniería de tejidos, antibacteriales, terapia contra cáncer e imágenes y diagnóstico con sensores (Solano-Muñoz, 2015). Sin embargo, se ha reportado que tiene cierto grado de toxicidad (Patlolla et al., 2016; Duch et al., 2011), por lo que debe modificarse para hacerlo biocompatible.

Para hacer biocompatible al óxido de grafeno, se puede modificar con biomoléculas o polímeros biocompatibles (Solano-Muñoz, 2015; Yang et al., 2013). Una vez que sea biocompatible puede usarse para fines farmacológicos y teranósticos contra el cáncer.

Por ejemplo, en una sola monocapa de óxido de grafeno se le pueden adherir el polietilenglicol para hacerlo más biocompatible. También se le une la doxorubicina en el centro de la molécula para que sea el fármaco del tratamiento. Al mismo tiempo se le puede realizar una radiomarcación con I-125 para diagnosticar y monitorear. Y por último, se le puede agregar en su superficie ligandos estilo complejo antígeno-anticuerpo para que tenga una mayor especificidad contra células cancerígenas (Figura S5) (Yang et al., 2013). Cabe aclarar que puede o no unirse cualquiera de estos bioconjugado al OG, todo dependerá del propósito del tratamiento o diagnóstico que se requiera realizar.

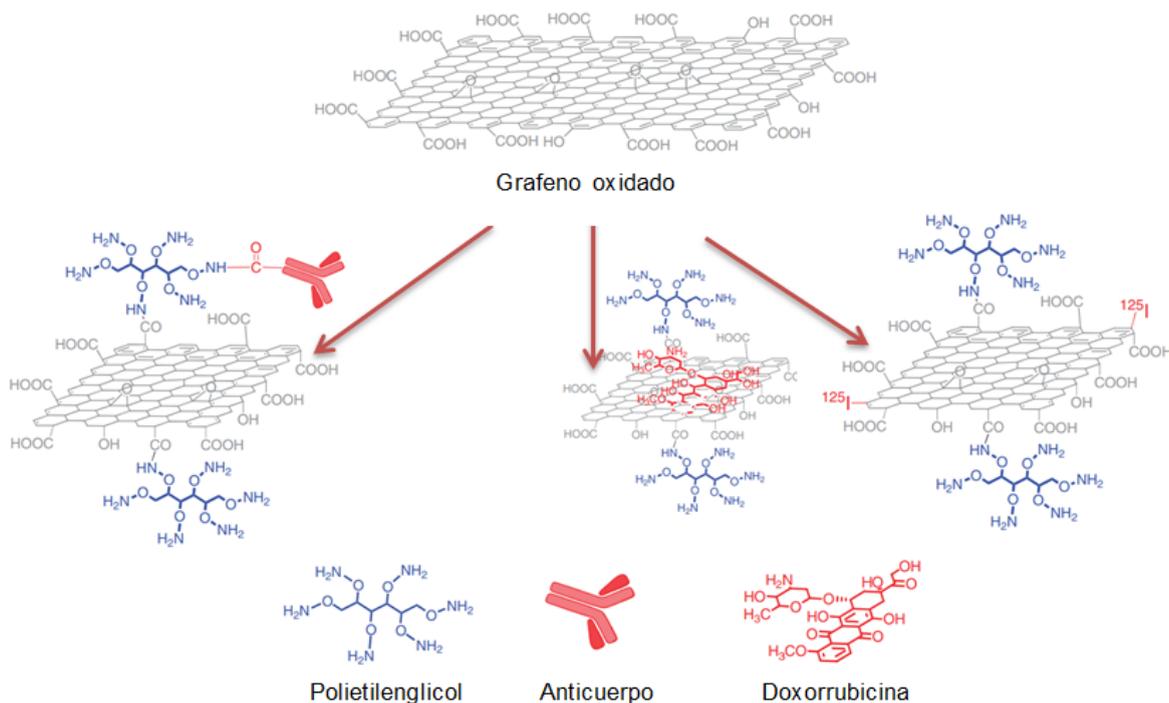


Figura S5. Un esquema para mostrar la bioconjugación de doxorubicina, el radioisótopo de yodo I-125 y ligandos estilo complejo antígeno-anticuerpo (Tomada y modificada de Yang et al., 2013).

Fullerenos

En 1985 los investigadores Sir Harold W. Kroto, Robert F. Curl, y Richard E. Smalley fueron los protagonistas en descubrir a los fullerenos, dándoles Premio Nobel de Química del año 1996 por ello. El descubrimiento se dio por la irradiación de láser a una muestra de grafito, este se vaporizó, y produjo una estructura de átomos de 60 carbonos. Al darse cuenta de la complejidad de la estructura, propusieron que se asemejaba a un icosaedro truncado, un polígono con 60 vértices y 32 caras, 12 de las cuales son pentagonales y 20 hexagonales (Figura S6) .

Aunque su descubrimiento se le atribuye a Kroto y colaboradores (1985), la idea de una estructura en forma de jaula de carbono proviene desde mucho tiempo atrás con Leonardo da Vinci, el cual ilustró a un fullereno en su libro “De Divina Proportione”, publicado en Venecia en 1509 (Martín, 2011). En esta ilustración se puede ver magnífica simetría de la estructura, por lo que Leonardo la denominó como *Ycocedron Abscisus Vacuus* (Figura S6).

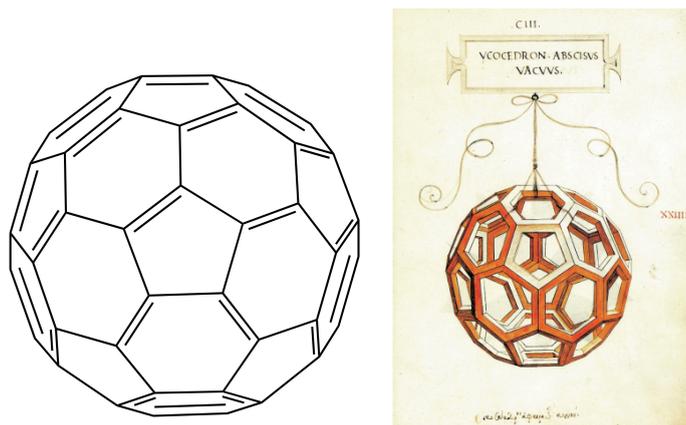


Figura S6. a) Fullerenos o icosaedro truncado; b) Ilustración de Leonardo da Vinci denominada como Ycocedron Abscisus Vacuus (Martín, 2011).

Se le denomina C₆₀ a los fullerenos debido a que está formado por 60 átomos de carbono, los cuales están perfectamente ordenados y simétricos, además de tener todas las valencias satisfechas por dos enlaces simples y un enlace doble. Similares a anillos aromáticos (Martín, 2011).

Cabe aclarar que pueden existir fullerenos de más de 60 átomos de carbono presentándose siempre en un número par (C_{2n}). Estos átomos se distribuyen formando anillos pentagonales y hexagonales. Esta distribución puede explicarse con el teorema de Euler, el cual dice que, para poder cerrar cualquier figura geométrica con un mínimo de 24 vértices, son necesarios exactamente 12 pentágonos y un número variable de hexágonos, que aumenta con el número de vértices según la ecuación $m=(2n - 20)/2$ (Figura S7). Los pentágonos de los fullerenos son los protagonistas de sus propiedades físicas y químicas, así como de su estabilidad (Alegret, 2014).

Aunque el fullereno más abundante y simétrico es el C₆₀. Actualmente se han caracterizado cientos de fullerenos desde 28 hasta 104 átomos de carbono (Figura S7), aunque se han llegado a detectar aductos de fullerenos de hasta 418 átomos, todos cumpliendo con el teorema de Euler (Beer et al., 1997).

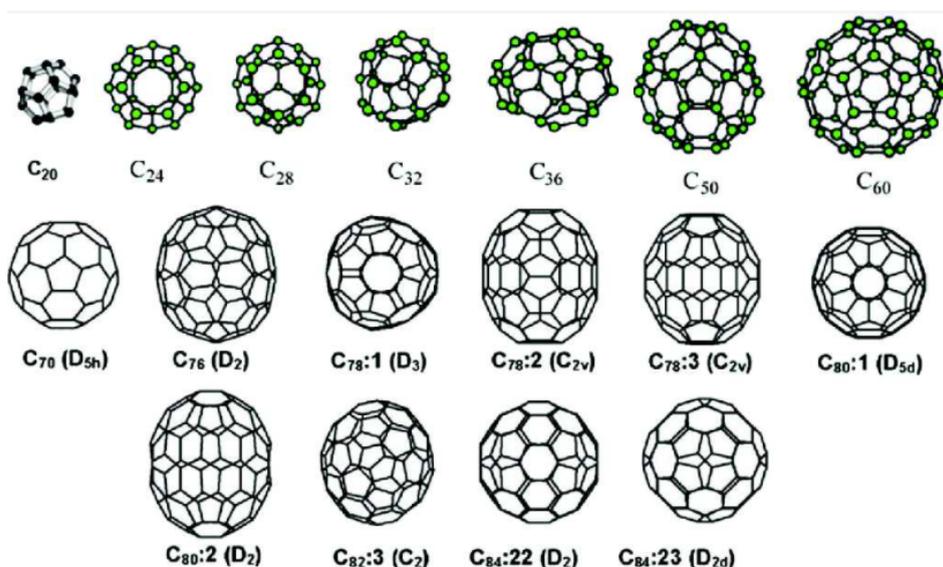


Figura S7. Diferentes tipos de fullerenos. Fuente: <https://nanova.org/fullereno/>

Los fullerenos tienen una peculiar geometría esférica, lo que los hace acreedores de propiedades electrónicas y mecánicas únicas. Esta geometría hace que sea de gran interés científico, ya que su estructura tiene la flexibilidad para adherir moléculas tanto en su superficie y encapsular moléculas dentro de ella. Entre las moléculas que se pueden adherir están los gases nobles y metales. Estos últimos, pueden estar encapsulados y se les denomina metalofullerenos (Chai et al., 1991).

Los metalofullerenos tienen propiedades únicas. Los metales que se encuentran en su interior pueden tener propiedades magnéticas o radiactivas, lo cual, les otorgan aplicaciones tanto en la biomedicina, como en la biotecnología (Cardona, 2005).

Entre las aplicaciones de los metalofullerenos en la biomedicina están la de ser eficaces como inhibidores de algunas enzimas, en procesos de neuroprotección y transfección, presentando actividad citotóxica sobre células tumorales por la ruptura del DNA con irradiación con luz visible (Martín, 2011).

Sin embargo, en donde más destaca es en su uso como agente de contraste. Los fullerenos son funcionalizados con un ion gadolinio (Figura S8), formando así un gadofullereno, para aplicarse en la toma de imágenes de resonancia magnética (Mikawa et al., 2001).

Estos son de utilidad debido a que revelan detalles anatómicos in vivo y detecta lesiones para el diagnóstico a una concentración más baja, evitando así la toxicidad

y permitiéndole mayor penetración en los tejidos con una elevación de la relaxividad (Cataldo y Da Ros, 2008).

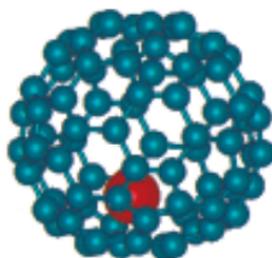


Figura S8. Gadofullerenos (Gd @ C82). Imagen reimpressa del artículo (Mikawa et al., 2001)

1.3 Nanotubos de carbono (CNTs)

Los CNTs fueron descritos por primera vez en 1950 por Radushkevich y Lukyanovich, sin embargo, el descubrimiento de este nanomaterial se le atribuye al microscopista japonés Sumio Iijima, quien accidentalmente descubrió las pequeñas agujas que se formaban con átomos de carbono como producto secundario de la síntesis de fullerenos. Además, describió un método de preparación de nanotubos de carbono (Grobert, 2007).

Como se ha mencionado anteriormente, el CNT es estructura cilíndrica hueca la cual está formada por una red bidimensional de átomos de carbono o grafeno, unidos covalentemente mediante un enlace de hibridación sp^2 y ordenados en un patrón hexagonal (Grobert, 2007).

Dependiendo del número de capas que pueda tener el nanotubo, se pueden clasificar en dos categorías: de una sola capa SWCNT (Single Walled Carbon Nanotubes, por sus siglas en inglés) y de múltiples capas MWCNT (Multi Walled Carbon Nanotubes) (Aquel et al., 2012).

El diámetro de los nanotubos de carbono varía dependiendo del número de capas, en el caso de los SWCNTs pueden tener un diámetro desde 0.4 a 2 nm y sus extremos pueden estar cerrados por media esfera de fullereno o pueden estar abiertos. En tanto los MWCNT, su diámetro puede ser de 2 a 25 nm y la separación entre cada nanotubo puede ser de 0.36 nm aproximadamente (Ajayan y Ebbesen,

1997; Bethune et al., 1993). Las longitudes de los nanotubos SWCNTs y MWCNTs generalmente rondan los micrómetros o milímetros (Figura S9).

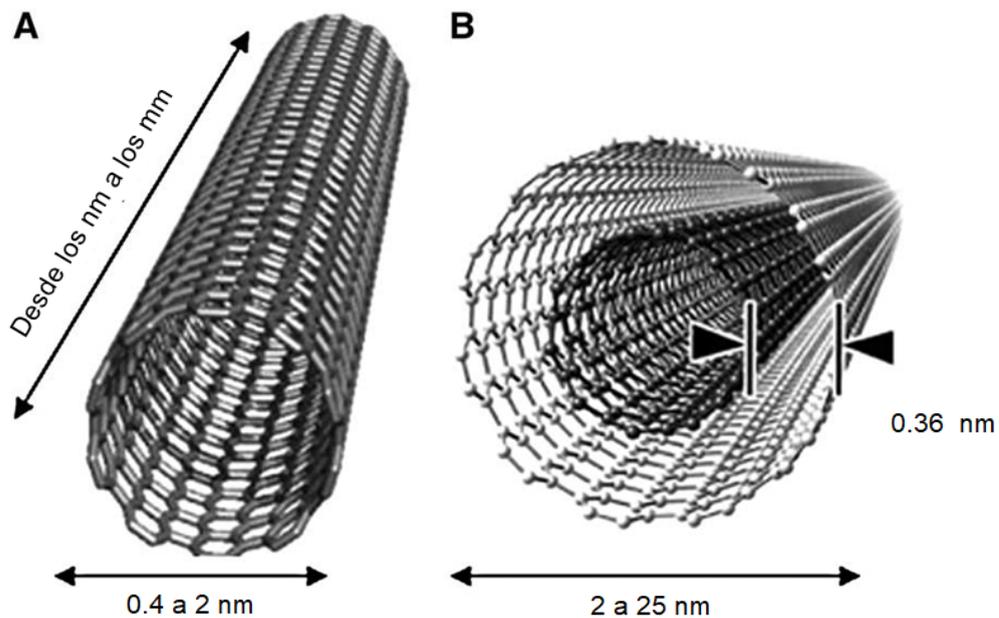


Figura S9. Nanotubos de carbono de (A) pared simple y (B) pared múltiple. Imagen modificada de (Castillo-León et al., 2011).

El SWCNT puede ser separado en tres clases según el tipo enrollamiento de la capa de grafito más externa y también por sus diferentes propiedades electrónicas (Dresselhaus et al., 1995; Wilder et al., 1998).

- a) Tipo “sillón” (armchair), son aquellos que tiene dos lados de cada hexágono perpendicular al eje del tubo. Presentan un comportamiento metálico.
- b) Tipo “zig,zag”, aquellos que tiene dos lados de cada hexágono paralelo al eje del tubo. Presentan un comportamiento semi-metálico.

- c) Tipo “quiral”, incluyen situaciones intermedias entre ambos tipos anteriores, estos pertenecen a los nanotubos sin simetría de reflexión e isomorfos. Serían los semiconductores (Figura S10).

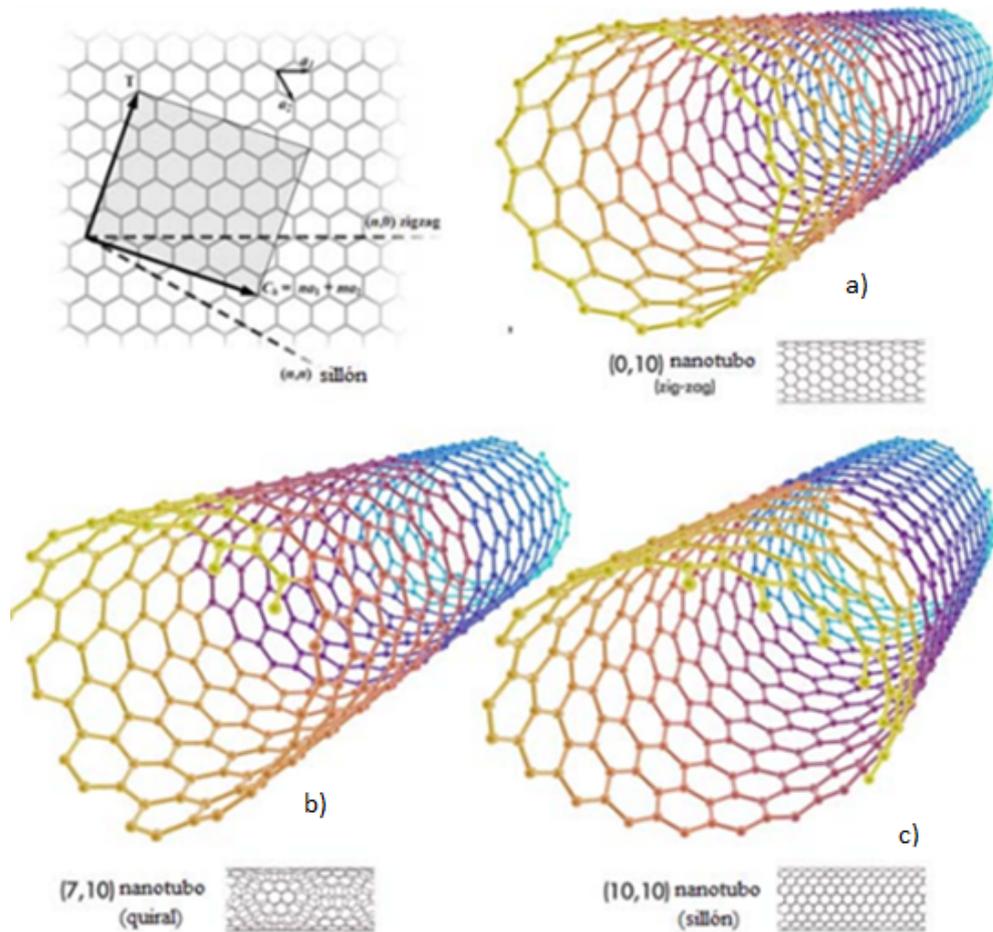


Figura S10. Se muestra a varios SWCNT con estructura a) Zig,zag, b) Quiral, c) Armchair. (Assali, 2012)

1.4 Síntesis y funcionalización de los CNTs

Actualmente, tanto los MWCNTs como los SWCNTs son producidos principalmente por tres técnicas:

- Descarga de arco
- Ablación láser
- Deposición Química de vapor desde hidrocarburos (CVD, por sus siglas en inglés).

Descarga de arco

La descarga de arco fue una técnica muy empleada para sintetizar CNTs. El primero en emplearlo fue Bacon en los años sesenta. Posteriormente en 1992 Ebbeser y Ajayan publicaron un método para fabricar grandes cantidades de CNTs. Un año después Iijima y Ichihashi usando este método sintetizaron CNTs mediante el uso de catalizadores metálicos (Fe_3C) (González-Velázquez, 2015; Iijima y Ichihashi, 1993).

Esta técnica consiste en generar un arco entre dos electrodos en un reactor bajo una atmósfera de helio. Se usan dos varillas de grafito como cátodo y ánodo, ambas de unos cuantos mm de diámetro y longitud (16 y 100 mm respectivamente), aunque estas medidas pueden variar. El cátodo y ánodo se separan unos 3 mm aproximadamente (esta distancia debe permanecer constante) y se conectan a una fuente de alimentación con un voltaje de 20 a 50 V. Al accionar el interruptor, salta una chispa con una corriente continua entre las varillas que va desde los 100 a 120 A y una presión de 0.52 atm de helio. Con estas condiciones el grafito se evapora en un plasma caliente, para luego volverse a condensar e incorporarse en forma de CNTs (Yáñez-Vanegas, 2009). Los tiempos de síntesis son de 2 min aproximadamente. Lo anterior se ejemplifica en la Figura S11

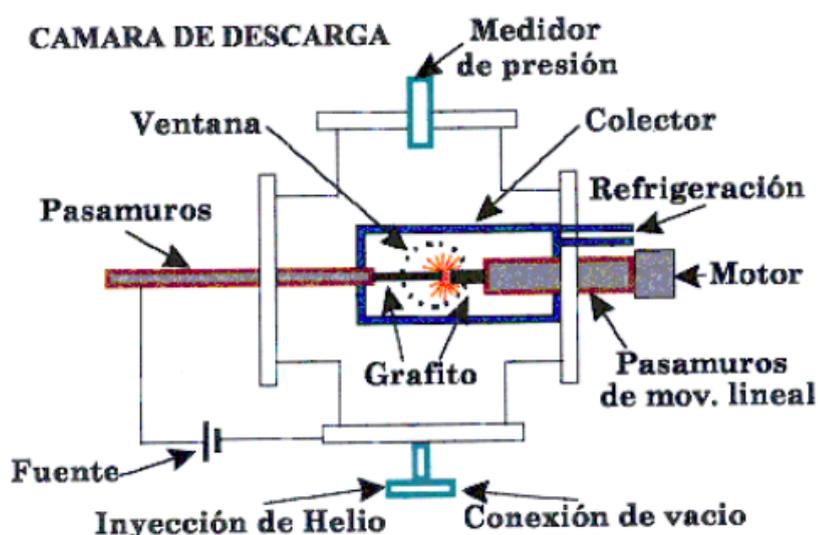


Figura S11. Diagrama del método de síntesis de CNTs por el método de descarga de arco en una cámara de cruz de producción de fullerenos. (Hernández et al., 2004).

La ventaja que ofrece este método es que se pueden producir CNTs de una sola capa sin muchos daños estructurales, esto gracias a las altas temperaturas y los catalizadores metálicos que se le pueden añadir.

Por otro lado, las desventajas es que se producen muchas impurezas como fullerenos y estructuras de carbono amorfas. Además, los CNTs tienden a ser cortos y a aglomerarse en forma aleatoria.

Ablación láser

Al igual que en la técnica anterior, la formación de los CNTs se da por la condensación de átomos de carbono (provenientes del grafito) producidos por su evaporación a una temperatura que va desde los 3000 a 4000 C, para lograr la síntesis también se usan diferentes catalizadores metálicos (Ni, Fe, Co). La gran diferencia radica en que la fuente de energía que evapora al grafito es un láser de alta potencia (Figura S12).

Como resultado de esta técnica, se generan CNTs con una gama de diámetros fácilmente controlables por medio de la temperatura, además de presentar pocos defectos estructurales (Guo et al., 1995).

La gran desventaja de esta técnica es que se requiere utilizar un láser de alta potencia, el cual es muy costoso (González y González, 2008)

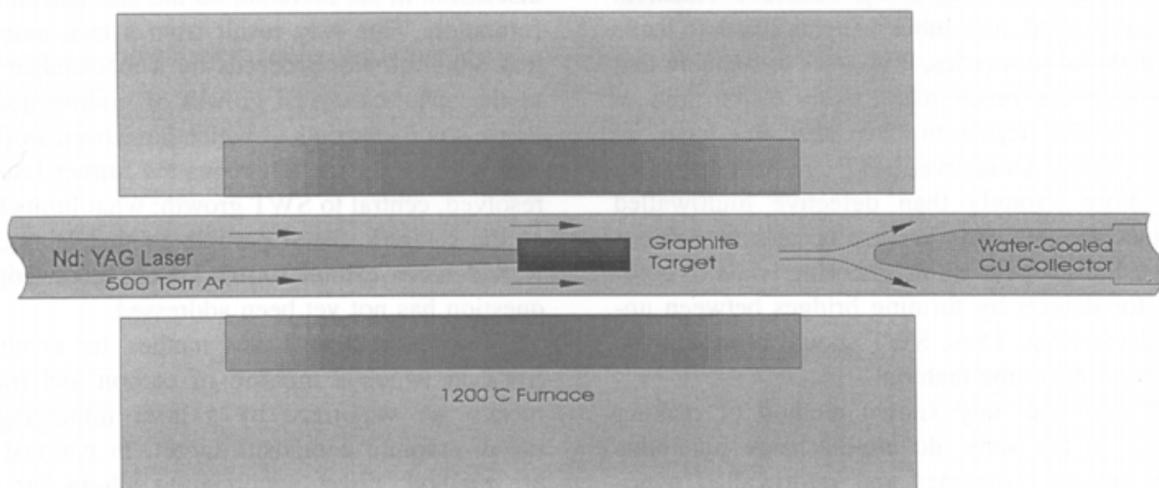


Figura S12. Muestra al horno de vaporización por láser, mismo que se utiliza para producir fullerenos, metalofullerenos y MWCNT (Guo et al., 1995).

Deposición Química de vapor desde hidrocarburos (CVD)

La deposición química de vapor (CVD) o pirólisis de carbono, fue usada por primera vez en 1952 por Radushkevich y Lukyanovich (González-Velázquez, 2015).

La síntesis de CNTs por CVD consiste en la descomposición de hidrocarburos en fase vapor o líquido (por ejemplo, metano, etano, benceno, acetileno, entre otros) durante 15 a 60 min a través de un horno tubular en una atmósfera inerte y a una temperatura de 600 a 1200 °C (Kumar y Yoshinori, 2010)

Una vez descompuestos los hidrocarburos, un catalizador metálico (como el Co, Ni, Fe, Pt y Pd) tiene la función de ayudar a descomponer la fuente de carbono y ser la base de la nucleación para la formación de los CNTs (Wong et al., 2004).

Por último, se necesita un sustrato para la deposición de los CNTs alineados. Generalmente, este sustrato se coloca en la zona más caliente del horno para catalizar el crecimiento de CNTs (Figura S13).

Entre los sustratos más utilizados se encuentran: Ni, Si, SiO₂, Cu, silicio, acero inoxidable, vidrio, grafito, papel de aluminio, tungsteno rara vez de CaCO₃ (Afolabi et al., 2011).

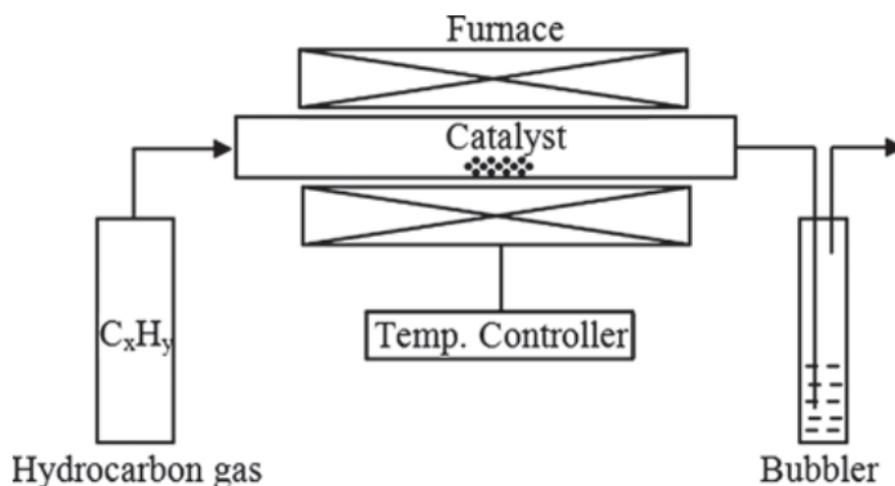


Figura S13. Diagrama simple que esquematiza la síntesis de CNTs por CVD(Kumar y Yoshinori, 2010)

Cabe resaltar que este es el método más popular para la producción de CNTs, debido a que es fácil de realizar y con un rendimiento del 20 al 100%, permitiendo así una producción industrial a gran escala y bajo costo. Otra ventaja que presenta es la posibilidad de controlar la longitud de los CNTs variando el tiempo de síntesis o incluso alineados verticalmente sobre un sustrato (Kumar y Yoshinori, 2010; Rodríguez et al., 2008).

No obstante, la principal desventaja de esta técnica es que no sólo se producen CNTs, sino también fullerenos y otras nanoestructuras tipo sp^2 . De esos CNTs sintetizados, muchos presentan defectos estructurales, contrario a los producidos por ablación láser o descarga de arco que cuentan con menos defectos.

Funcionalización de los CNTs

La funcionalización se define como la modificación de propiedades por la adsorción de átomos o moléculas en las paredes (exteriores o interiores) de los CNTs, así como en sus extremos (Andrade-Cuel et al., 2012).

Dicha funcionalización, puede ayudar a facilitar el anclaje de otras estructuras químicas como polímeros, fármacos, antígenos, genes, nanopartículas, entre otras.

Con la finalidad de obtener materiales híbridos con nuevas propiedades capaces de ser utilizadas en diversas aplicaciones de importancia médica (Bianco et al., 2005; Andrade-Cuel et al., 2012).

Estas propiedades nuevas de los híbridos de CNTs tienden a mejorar su solubilidad y biocompatibilidad en el cuerpo, ser más específicos a la hora de interactuar con células diana y aumentar la tendencia a la encapsulación, solubilidad y administración multimodal de fármacos e imágenes (Liu et al., 2009; Cuevas-Haber y Cueto-González, 2018). Dando como consecuencia una mayor interacción con moléculas biológicas, y por lo tanto ser aspirantes para aplicaciones biomédicas (Enyashin e Ivanovskii, 2007; Bianco et al., 2005).

Los CNTs tienen la propiedad de absorber o encapsular varias moléculas en su superficie externa, así como su espacio hueco interno. De acuerdo con el lugar en donde se produce la funcionalización, se clasifica como:

- 1) Endoédrica: es la funcionalización e inserción de diversos nanomateriales o compuestos químicos en las paredes interiores de los CNTs.
- 2) Exoédrica: es aquella en donde existe un anclaje físico o químico de ciertas moléculas o grupos funcionales a las paredes externas de los CNTs (González-Velázquez, 2015; Cambré, 2008).

Una forma más general de clasificar los diferentes tipos de funcionalización es por el tipo de unión al CNTs. Esta clasificación se divide en dos grandes grupos: la funcionalización covalente y la no covalente (Guerrera-López, 2103):

Funcionalización covalente

Funcionalización covalente o química se basa en la unión covalente de grupos funcionales (moléculas de alta reactividad química) que generalmente se da en las puntas de los extremos de los CNTs, la cual puede estar compuestas por media esfera de fullereno curvada o sin ella (Figura S14). También se puede dar la funcionalización en las paredes laterales, las cuales contienen sitios de defectos, como anillos u orificios de cinco y siete miembros debido a una disposición incompleta del grafito, defectos híbridos sp³ y vacantes en el retículo de nanotubos (Figura S15). Cabe resaltar que, la tapa de fullereno es más reactiva, en

comparación con las paredes laterales (Hirsch, 2002; Sinnott, 2002). Por lo tanto, se espera que la mayoría de las reacciones ocurran primero en las puntas y luego, en algunos casos, en las paredes laterales.

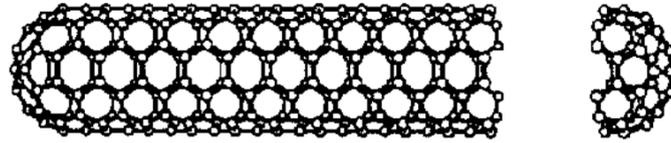


Figura S14. Muestra un CNT tipo "sillón" (armchair) con un extremo compuesto por media esfera de fullereno curvada y el otro sin ella (Dresselhaus y Dresselhaus, 1997).

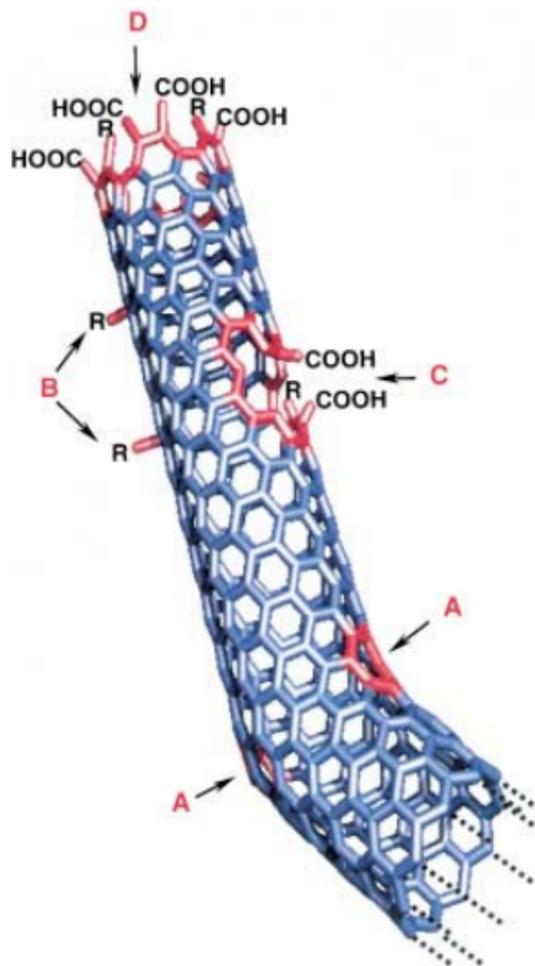


Figura S15. Defectos típicos en un SWNT: A) anillos de cinco o siete carbonos juntos; B) defectos de hibridación sp^3 (RH y OH); C) agujero por condiciones oxidativas; D) extremo con grupos -COOH, -NO₂, OH, H y O (Sinnott, 2002)

Existen dos tipos de funcionalización covalente: la funcionalización directa en las paredes de los nanotubos y la funcionalización de nanotubos de carbono por defectos en su estructura.

Funcionalización directa en las paredes de los nanotubos

Los átomos de carbono de las paredes de CNTs son inertes químicamente y sólo interaccionan por fuerzas de van der Waals con otras moléculas, esto se le atribuye a su gran estabilidad proporcionada por la naturaleza aromática de sus enlaces (Ma et al., 2010).

Sin embargo, para cambiar las propiedades superficiales de los CNTs se realiza una funcionalización covalente directa en las paredes laterales. Esta se da por un cambio de hibridación de sp^2 a sp^3 y una pérdida simultánea del sistema conjugado π en la capa de grafeno, perdiendo así la estabilidad y permitiendo la formación de enlaces (Ma et al., 2010). (Figura S16-A). Este proceso se puede realizar por reacción con algunas moléculas de alta electronegatividad. El ejemplo más característico y de mayor uso actualmente es la fluoración de los CNTs, ya que se ha vuelto muy popular en la investigación debido a que los CNTs fluorados tienen enlaces C-F muy débiles, lo que permite ser sustituidos por grupos amino, alquilo e hidroxilo (Mickelson et al., 1998; Stevens et al., 2003).

Otros métodos similares a la anterior son: la cicloadición 1,3 dipolar (Pekker et al., 2001), la cloración, la bromación (Unger et al., 2002) y la hidrogenación (Kim et al., 2002), por mencionar algunos (Figura S16).

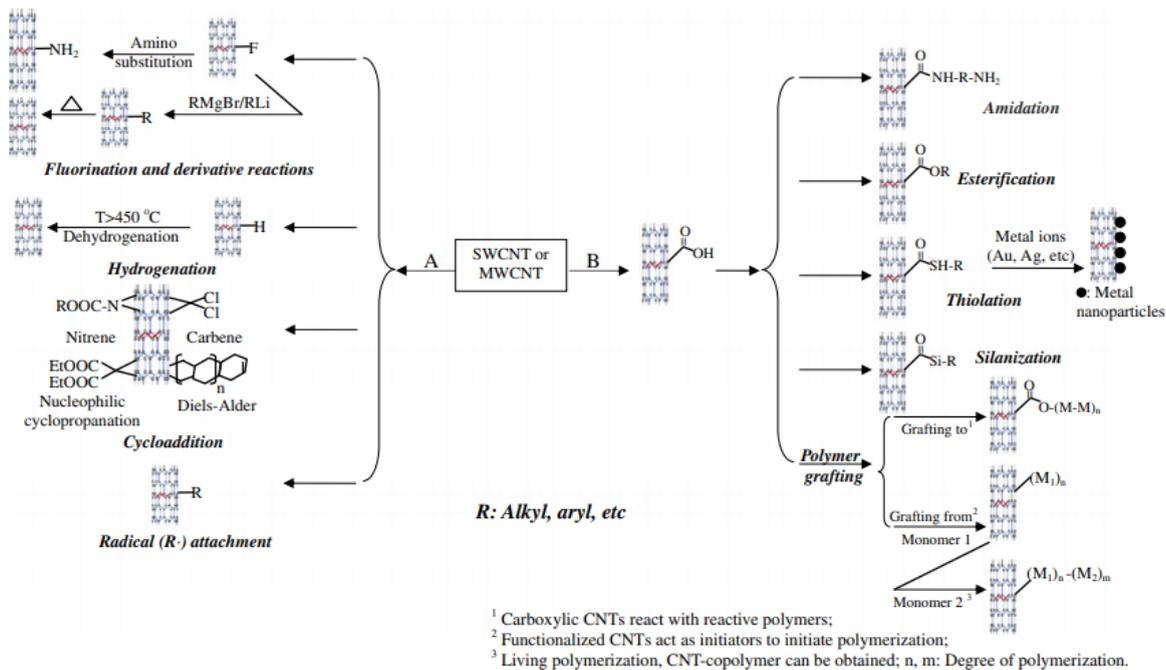


Figura S16. Estrategias para la funcionalización covalente de los CNTs (A: funcionalización directa de la pared lateral; B: funcionalización del defecto) (Ma et al., 2010).

Funcionalización de nanotubos de carbono por defectos en su estructura.

Como se había señalado anteriormente, la funcionalización ocurre normalmente en las puntas de los CNTs, esto ya que presentan una amplia variedad de defectos en sus extremos generados por las partículas del catalizador cuando los CNTs esta creciendo durante su síntesis (Charlier, 2002).

Algunos de estos defectos tienen sitios oxigenados o átomos de hidrógeno como se pueden observar en la figura S16. Para incrementar la existencia de estos sitios o grupos funcionales (como: carboxílicos (COOH), cetonas, hidroxilos (OH), alcoholes y ésteres) se aplican métodos oxidativos con medios fuertemente oxidantes como el ozono, plasma reactivo o, más frecuentemente usado, el ácido nítrico (Tessonier et al., 2009; Xia et al., 2007). La finalidad de incrementar los grupos funcionales es para poder funcionalizar a los CNTs con otras moléculas más fácilmente y con ello cambiar sus propiedades (Xia et al., 2007).

Por el contrario, aunque los métodos oxidativos crean un gran número de grupos funcionales, a su vez conlleva inherentemente la hibridación sp³ en la paredes los CNT, la fragmentación en la longitud de los CNTs, esto da como resultado la

degradación de sus propiedades mecánicas y de transporte, debido a la alta concentración de defectos inducidos en su estructura (González-Velázquez, 2015).

Los métodos de derivatización actuales incluyen funcionalización de la pared lateral covalente y defectuosa, así como funcionalización exo y endoédrica no covalente (Sinnott, 2002).

Funcionalización no covalente

La diferencia de la funcionalización no covalente con la anterior es que, no se destruye la estructura de los CNTs por lo que se conservan sus propiedades estructurales (Mittal, 2011). Se le considera un método alternativo ya que los CNTs atraen de manera no covalente a determinadas moléculas con la finalidad de cambiar sus propiedades.

Esta atracción se da por interacciones tipo hidrófobas o electrostáticas, por apilamiento π - π , por fuerzas de van der Waals. Estas modificaciones no covalentes de los CNTs son utilizadas para preservar sus propiedades deseadas sin dañar la estructura (Hirsch y Vostrowsky, 2005), y al mismo tiempo para mejorar su solubilidad.

Para este tipo de funcionalización se utilizan pequeñas moléculas aromáticas (porfirina y pireno), tensioactivos, polímero como envoltura (poliacrilamida)(61.63 y 65) y biomoléculas como proteínas, (66,67 y 68)

Un ejemplo de la funcionalización no covalente es el reportado por Cheng y Adronov en el 2006, lo que ellos hicieron fue sintetizar un polímero de Zn-porfirina, el cual es altamente soluble, para que tuviera una fuerte interacción con la superficie de los SWCNTs, y así producir un complejo polímero-nanotubo soluble. La atracción entre el polímero de Zn-porfirina y la superficie de los SWCNTs está dada por el apilamiento π - π (Figura S17). El éxito del resultado requirió la adición de ácido trifluoroacético al solvente (THF).

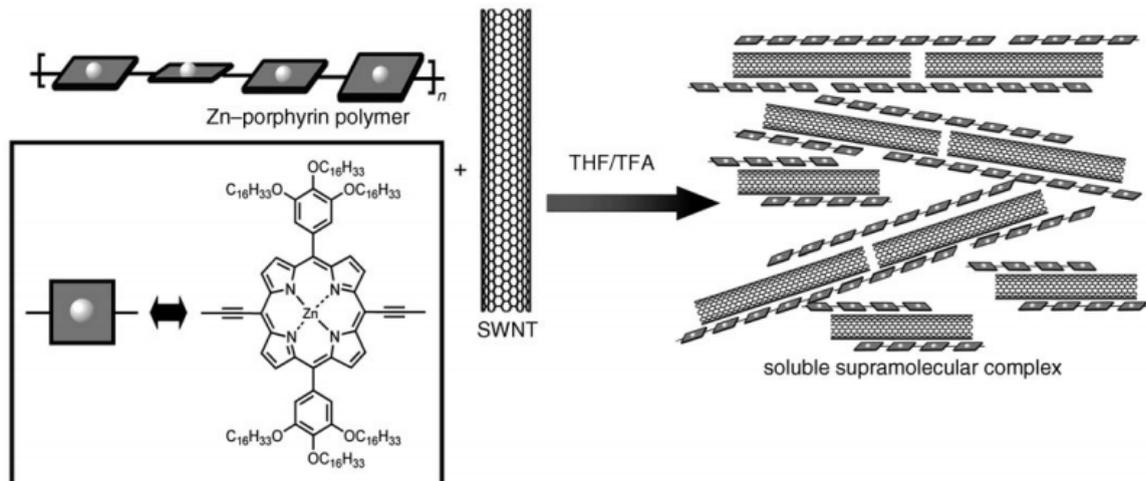


Figura S17. Ensamblaje supramolecular del polímero conjugado de Zn-porfirina con SWNT, formando un complejo polímero-nanotubo soluble (Cheng y Adronov, 2006.)

2. Aplicaciones de los CNTs en la biomedicina

Como ya hemos mencionado los CNTs presenta extraordinarias propiedades, lo que los hacen deseables para aplicaciones como la obtención de nuevos materiales, por ejemplo de blindaje (Putz et al., 2004; Gibson et al., 2013), dispositivos electroquímicos como superconductores, almacenadores energéticos y celdas solares (Baughman et al., 2002; Zhang et al., 2010) y también para desarrollar dispositivos eléctricos como transmisores (Dekker et al., 1998).

De todas estas aplicaciones, surgió la idea de poder utilizarlos en una gran variedad de instrumentos y sistemas biológicos o biomédicos. Siguiendo este rumbo, ha sido necesario resolver problemas inherentes a los CNTs, como lo son su insolubilidad en el agua y su funcionalización con diferentes biomoléculas para alcanzar su gran potencial en aplicaciones biomédicas.

En seguida se mencionan algunos estudios de las aplicaciones biomédicas de los CNTs.

Terapia génica

Los SWCNTs funcionalizados con ácidos nucleicos, como ARN o ADN, son prometedores para su aplicación en terapia génica e interferencia génica. Por

ejemplo, en un estudio se demostró que los SWCNTs funcionalizados con amonio (f-CNT) pueden asociarse con el ADN plasmídico a través de interacciones electrostáticas. Tras la interacción con células de mamíferos, estos f-CNT penetraron en las membranas celulares y fueron absorbidos por las células conduciendo a las expresión de genes marcadores (Pantarotto et al., 2004).

De igual forma, el potencial de las terapias génicas basadas en CNTs se ha explorado más a fondo para aplicaciones de silenciamiento génico. Zhang y sus colaboradores (2006), conjugaron el ARN interferente (ARNi) de la de transcriptasa inversa de telomerasa (TERT) a un SWCNT con el fin de silenciar la expresión de TERT e inhibir la proliferación y el crecimiento de células tumorales tanto in vitro como en modelos de ratón

Biosensores moleculares

Chen y sus colaboradores (2001), lograron inmovilizar proteínas en la pared lateral de los CNTs a través de una molécula de enlace. Las proteínas llevan grupos cargados dependientes del pH que pueden bloquear electrostáticamente un SWCNT semiconductor, creando la posibilidad de construir una proteína de tamaño nanométrico y / o un sensor de pH. Debido a esto, un grupo de investigadores encabezado por Besteman (2003) utilizaron SWCNTs recubiertos con la enzima redox glucosa oxidasa (GOx) que cataliza la oxidación de la glucosa ($C_6H_{12}O_6$), para crear sensores de pH reversibles. Las enzimas GOx pasan por un ciclo de reacción catalítica al encontrarse con la glucosa, esto genera que los grupos de la enzima cambian temporalmente su estado de carga y se producen cambios conformacionales en la misma. Estos cambios de carga y conformacionales producen un aumento en la conductancia del SWCNT y pueden ser utilizados como sensores de actividad enzimática (Figura S18).

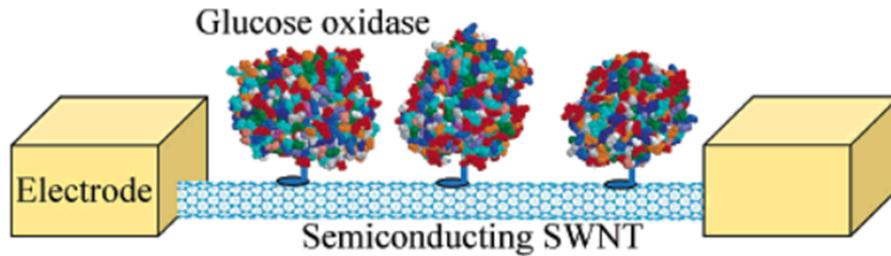


Figura S18. Imagen esquemática de dos electrodos que conectan un SWCNT semiconductora con enzimas GOx inmovilizadas en su superficie (Besteman et al., 2003).

Andamios para el crecimiento de tejido

Debido a su biocompatibilidad y durabilidad de los CNTs, ellos los utilizaron para generar “prótesis” de las neuronas, es decir, los usaron como implantes donde se necesitan señales

moleculares extracelulares a largo plazo para el crecimiento de neuritas. Por ejemplo, como en la regeneración después de una lesión de la médula espinal o del cerebro. Hu y sus colaboradores (2004) mostraron que mediante el uso de MWCNTs modificados químicamente con un grupo funcional cargado positivamente, se puede controlar la ramificación y crecimiento de neuritas.

Liberación de fármacos

Los CNTs podrían funcionalizar con antibióticos para tratamientos contra infecciones. Un ejemplo de ello es el estudio realizado por Prato y sus colaboradores (2008), ellos funcionalizaron un antimicótico (anfotericina B) altamente tóxico para las células de mamíferos con un CNT. Sus resultados mostraron una menor toxicidad a las células de mamíferos y un aumento en la toxicidad frente a hongos y levaduras.

Vacunación

La funcionalización covalente de CNTs con los epítopos de péptidos de células B y T puede inducir una fuerte respuesta inmune quimioselectiva (Pantarotto et al., 2003). Prueba de esto, es el experimento realizado por Pantarotto y sus colaboradores

(2003), ellos unieron covalentemente un epítipo de células B neutralizantes del virus de la fiebre aftosa (FMDV) a un CNT. En sus resultados encontraron que los nanotubos péptido-carbono provocaron fuertes respuestas de anticuerpos anti-péptido en ratones en comparación con el péptido no conjugado. Además, los anticuerpos generados tenían la capacidad de neutralizar el virus, demostrando así el potencial de los nanotubos de carbono como componentes para el desarrollo de vacunas sintéticas.

Diagnóstico

Se define al diagnóstico como el proceso de análisis, evaluación y reconocimiento de una situación, a través de datos, pruebas, observaciones y hechos recogidos y organizados sistemáticamente para determinar sus tendencias (Estela-Raffino, 2020). El diagnóstico nos permite juzgar mejor qué es lo que está pasando y con base en ello solucionar un problema o remediar un mal.

Debido a que el diagnóstico es usado frecuentemente en la medicina, se ha desarrollado tecnología para facilitar y visualizar datos que nos permitan determinar las causas de enfermedades o lesiones.

Imagen Molecular

Una de las herramientas más importantes para el diagnóstico es la imagen por resonancia magnética (IRM), esto debido a que tiene la ventaja de poder penetrar casi cualquier tejido sin ser invasiva y no producir radiación ionizante (Rodríguez-Galván et al., 2020).

La resonancia magnética se basa en un fenómeno mediante el cual los protones del agua pueden absorber o emitir energía al ser excitados por señales de radiofrecuencia cuando estos se encuentran en el interior de un campo magnético muy intenso (Constantine et al., 2004).

Como el cuerpo humano está formado por moléculas de agua, la resonancia magnética puede identificar un órgano o estructura de tejido determinados mediante la detección de la densidad de protones del agua, su tiempo de relajación longitudinal T1 y su tiempo de relajación transversal T2 (Nitz y Reimer, 1999). De

esta forma, por contraste, se pueden crear imágenes del interior del cuerpo denominadas “cortes”.

Cuando los cortes no son lo suficientemente nítidos para un preciso diagnóstico, se recurre a usar agentes de contraste paramagnético con el fin de acortar las tasas de relajación, y de esta forma generar un contraste entre el tejido sano y enfermo (Csajbók et al., 2005).

Actualmente se están investigando los CNTs como medios de contraste para la obtención de imágenes por resonancia magnética (IRM). Generalmente estos consisten en SWNTs decorados con iones del metal paramagnético gadolinio (Figura S19), a los cuales se le denomina con el nombre de gadonantubos (Andrade-Cuel et al., 2012).

La principal razón por la cual se crearon los gadonantubos es porque inducen una relajación de 10 a 90 veces mayor que otros agentes disponibles a base de gadolinio (Gd) y evitan toxicidad al secuestrar el ion gadolinio (Figura S19)(Sitharaman et al., 2005).

Además, ofrecen una obtención de imágenes fiables con una dosis menor; se pueden dirigir células, tejidos y moléculas específicas; tienen alta liposolubilidad y mantiene su integridad a pesar de los cambios bruscos de pH que puede llegar a experimentar dentro del cuerpo (Hartman et al., 2008).

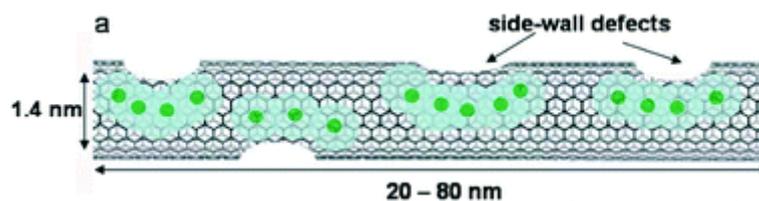


Figura S19. Representación de un solo tubo de un CNT ultracorto, cargado con iones Gadolinio.(Sitharaman et al., 2005)

Existen dos formas de funcionalizar el ion gadolinio al SWCNT:

La primera es de manera no covalente, podemos poner como ejemplo a los nanotubos ultracortos (20-100 nm). Estos tienen defectos en sus paredes, creados por un procedimiento de corte llamado fluoración, lo que les permite tener en la superficie exterior del tubo un armazón invaginado versátil para la fijación no

covalente de los iones gadolinio,. Estas invaginaciones no permiten una distribución uniforme de los iones gadolinio a lo largo de la superficie (Figura S19) (Sitharaman et al., 2005)

La segunda es por enlace covalente, por ejemplo, a los fullerenos se les puede unir covalentemente el ion gadolinio por el método de evaporación del arco/polihidroxilación, dando como resultado Gadofullerenos (Figura S20). Aunque este procedimiento no es específico para SWCNT pudiera ser extrapolable a los mismos, ya que sigue siendo sencillo (síntesis de un solo paso) y útil para conjugar covalentemente ligandos biorreactivos por medio de sus grupos hidroxilo (Mikawa et al., 2001).

Otro ejemplo se da cuando existe un secuestro del ion gadolinio en un agente quelante, este complejo amino-ion se funcionaliza con un enlazador de seis carbonos que tiene un extremo amino el cual se utiliza para unir covalentemente al grupo carboxílico en la superficie de un nanodiamante (Manus et al., 2010), este mismo procedimiento puede ser ocupado para los SWCNTs.

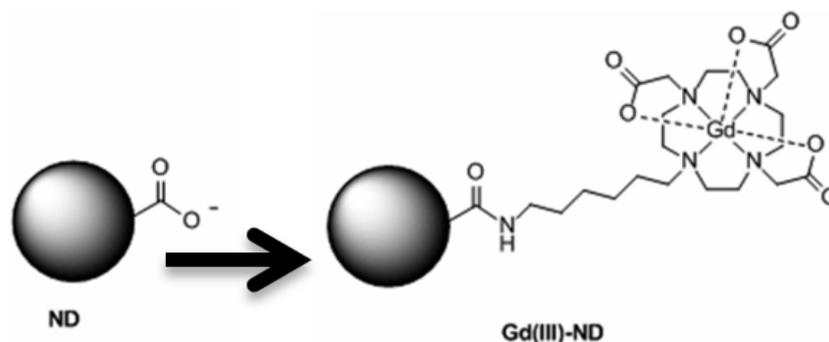


Figura S20. Síntesis de un agente de contraste Gd (III) funcionalizado con una amina para la unión a la superficie del nanodiamante. Manus et al., 2010.