

Evaluación y riesgos toxicológicos de los nanomateriales.

Virginia Montero Campos, Ph.D

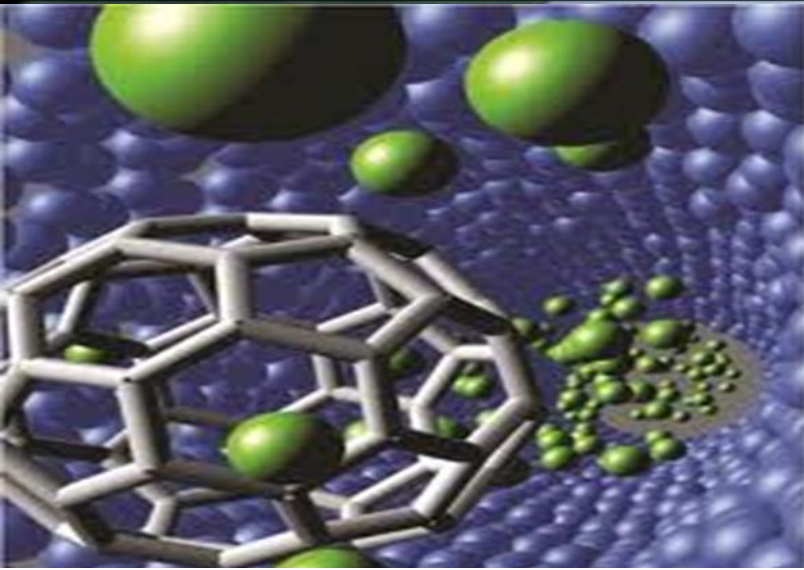
Catedrática

Programa de Investigación en NanoTECnología

Presentación



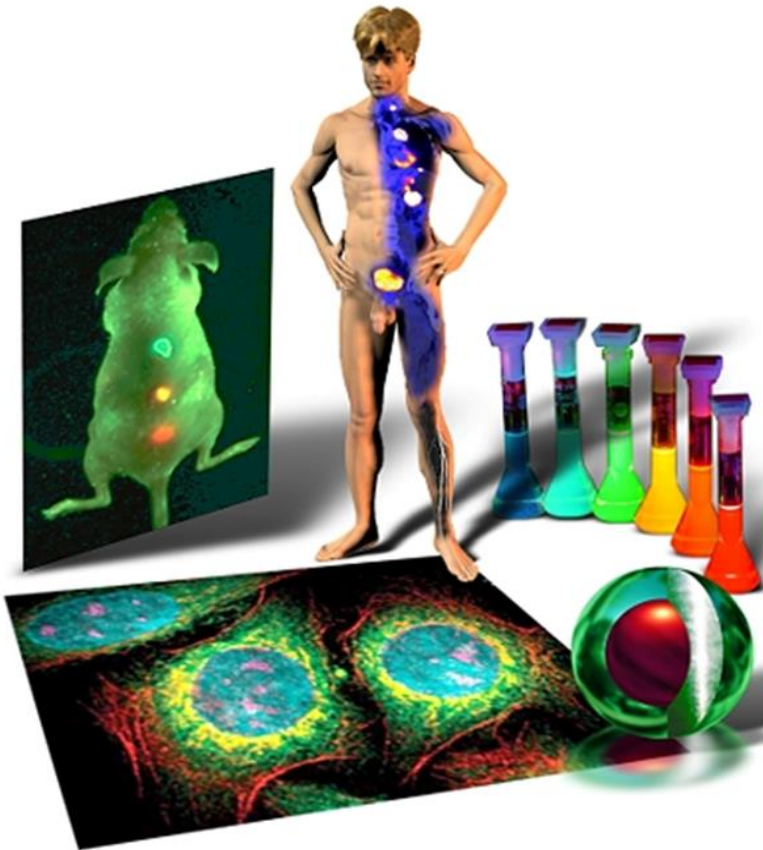
- 1- Revisión de conceptos fundamentales en nanotoxicología.
- 2- Aplicación de ensayos toxicológicos.
- 3- Proyecto con nanopartículas magnéticas para aplicación en agua de consumo humano



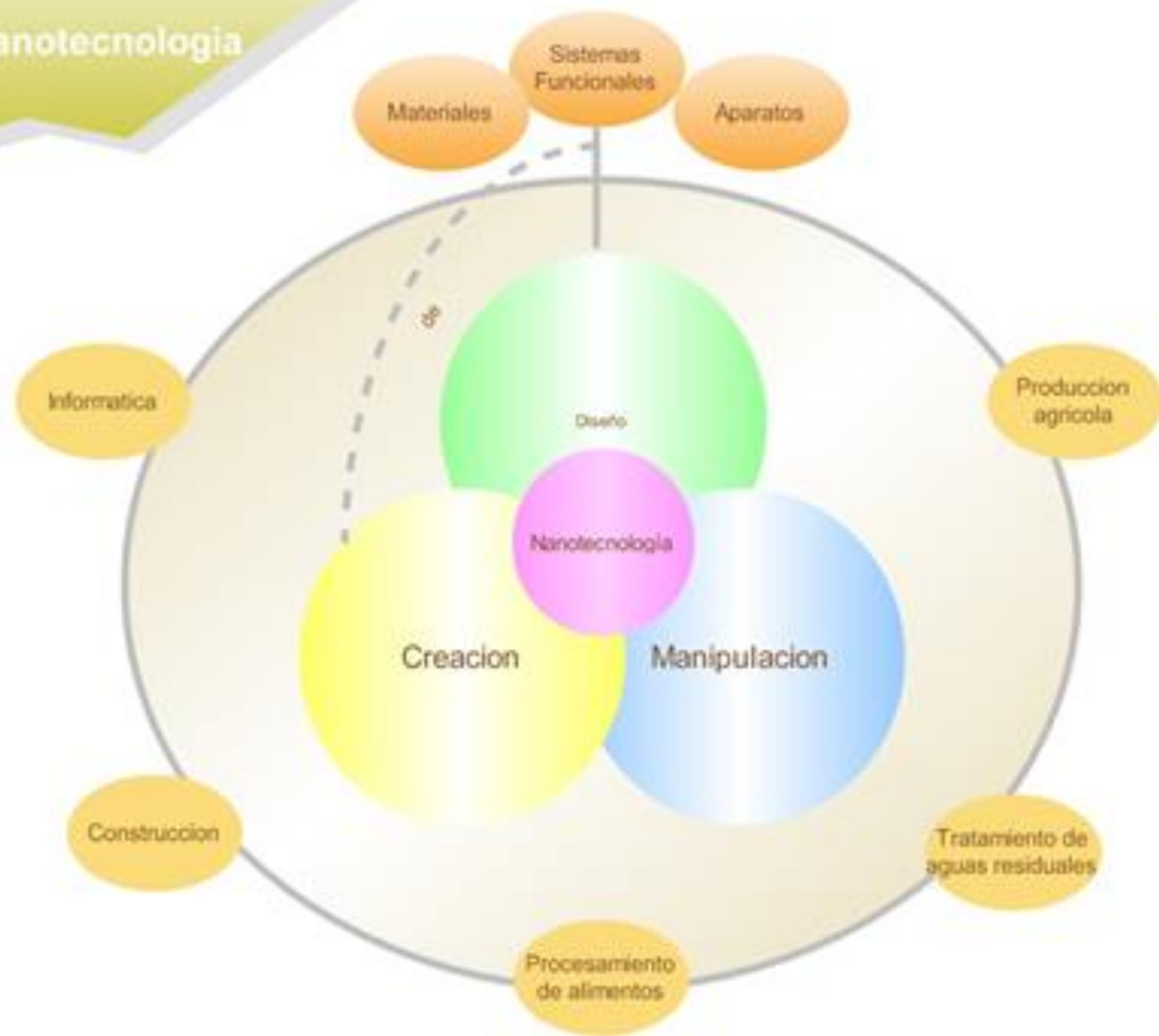
Nanotoxicología

Se refiere al estudio de las interacciones de nanoestructuras con los sistemas biológicos.

Con énfasis en la relación entre las propiedades físicas y químicas y la inducción de respuestas biológicas tóxicas en el ser humano.



Nanotecnología

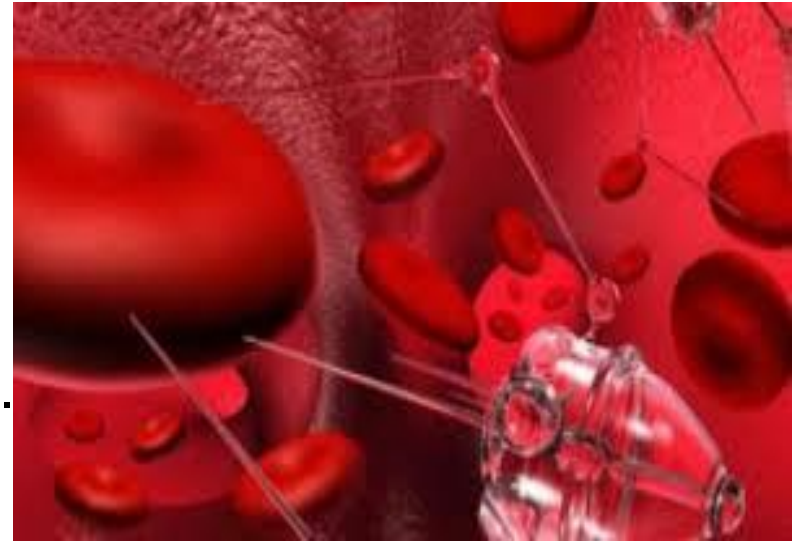


$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 - \text{C} - \\ \\ \text{CO} \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \left[\right]_n$	$\text{HO} - \left[\text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2 \right]_n - \text{OH}$	$\text{HO} - \left[\text{C}(=\text{O}) - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{O} \right]_x - \left[\text{C}(=\text{O}) - \text{CH}_2 - \text{O} \right]_y - \text{H}$			
HPMA	PEG	PLGA	Dendrimer	Particulate	Liposome
Inorganic					
Carbon Nanotube	Fullerene	Gold	Quantum Dots	Silica	Iron Oxide
Hybrid					
	PEGylated NPs		DNA-NPs		

Tipos de nanopartículas

Riesgo de las nanopartículas

- Por sí mismas
 - Se refiere a los efectos biológicos y químicos por la exposición mediado por: características morfológicas (cristalinidad, porosidad, superficie, aglomeración de las partículas), forma, tamaño, estado de dispersión, otras propiedades físico químicas.
- El riesgo de contaminación y dispersión ambiental
 - Tiene que ver con escapes al ambiente, así como con su circulación y concentración, que pueden representar un peligro para los organismos y los ecosistemas.



Ejemplos de nanoestructos en algunas aplicaciones medicas

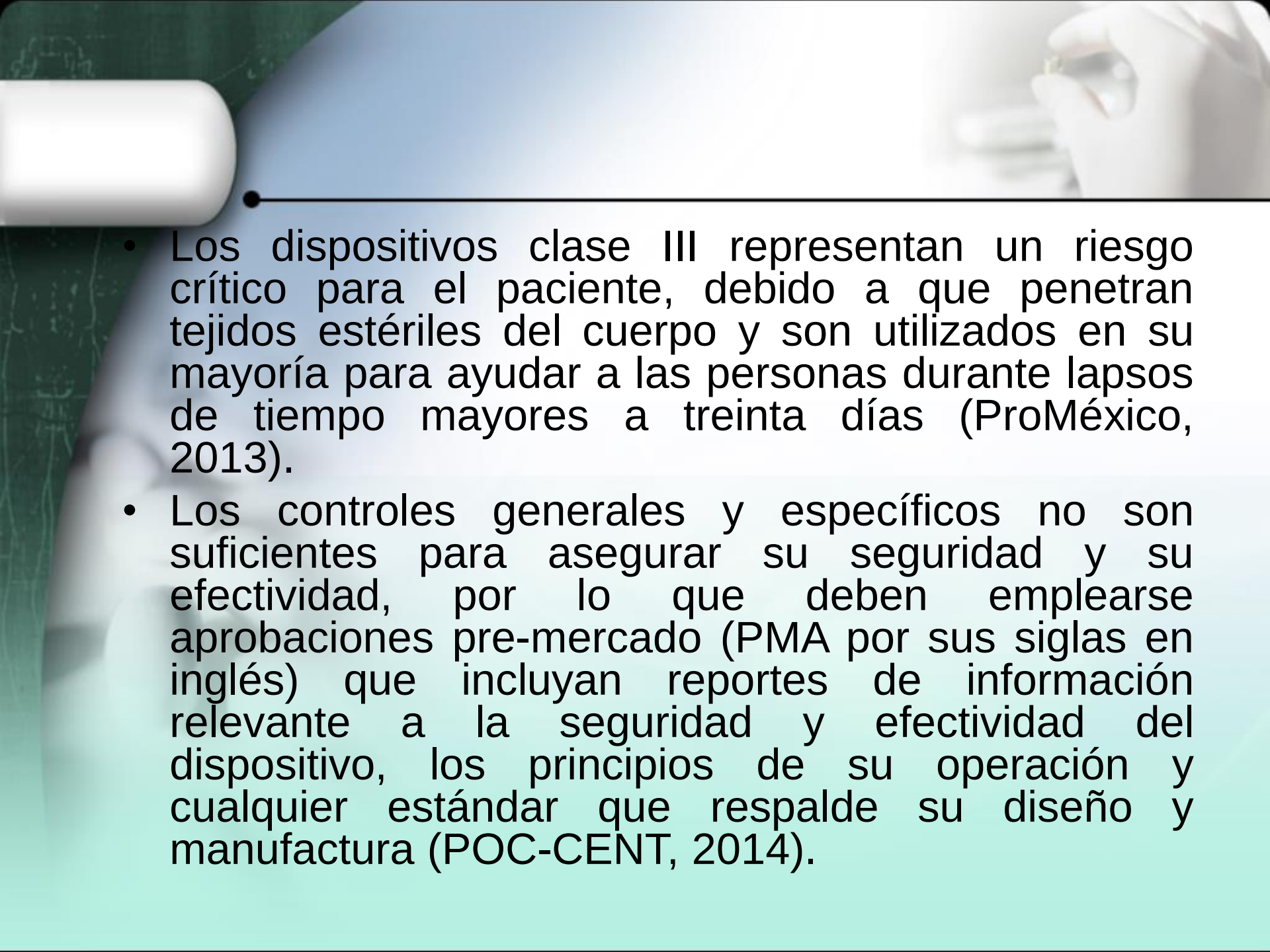
Nanoconstruct	Applications	References
<i>Polymeric</i>		
HPMA	Polymer-drug conjugates for cancer therapy Drugs: paclitaxel, camptothecin and doxorubicin	Vasey <i>et al.</i> (1999); Meerum <i>et al.</i> (2001); Wachters <i>et al.</i> (2004)
PEG	PEG-protein conjugates for disease therapy Proteins: asparaginase, interleukin 2, interferon- α	Zimmerman <i>et al.</i> (1989); Rajender <i>et al.</i> (2002); Graham (2003)
PAMAM dendrimer	Carrier for ibuprofen in A549 lung epithelial cells	Kolhe <i>et al.</i> (2006)
PLGA	Cisplatin loaded PEG-PLGA nanoparticles for prostate cancer	Dhar <i>et al.</i> (2008)
<i>Inorganic</i>		
Carbon nanotube	Biosensors: glucose, DNA, organophosphorous compound Drug delivery	Li <i>et al.</i> (2003); Wang <i>et al.</i> (2003); Lin Y <i>et al.</i> (2004) Davis <i>et al.</i> (1998); Kam <i>et al.</i> (2004); Pantarotto <i>et al.</i> (2004)
Gold	Imaging and photothermal therapy Gene/drug delivery	Lin A <i>et al.</i> (2004); El-Sayed <i>et al.</i> (2005); Huang <i>et al.</i> (2006) Paciotti <i>et al.</i> (2004); Tkachenko <i>et al.</i> (2004); Wijaya <i>et al.</i> (2009)
Quantum dots	Fluorescent imaging <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i>	Bruchez <i>et al.</i> (1998); Akerman <i>et al.</i> (2002); Larson <i>et al.</i> (2003)
Silica	Drug loaded tubes for controlled release	Lee <i>et al.</i> (2002); Son <i>et al.</i> (2005); Sharma <i>et al.</i> (2005)

Clasificación de los dispositivos médicos (FDA)

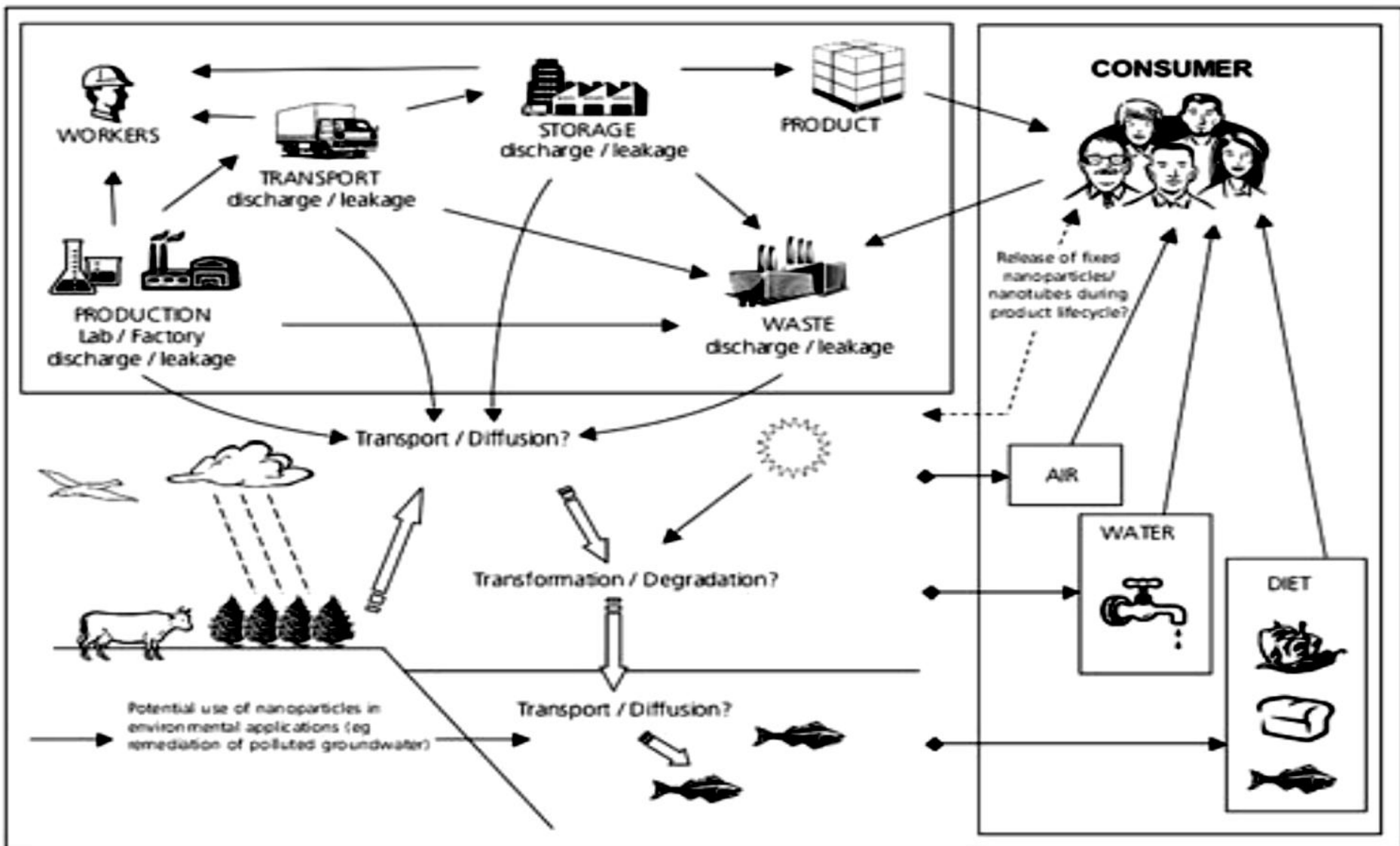
Agrupar a los dispositivos médicos en cuatro categorías principales (I, IIa, IIb y III) según el riesgo que representen para el paciente, el tiempo de contacto con el organismo, el grado de invasividad del producto y la parte del cuerpo a tratar (IMB, 2009; MHRA, 2013).

- Los dispositivos clase I no son introducidos dentro del cuerpo, por lo que representan un peligro mínimo para el paciente; son simples en diseño y manufactura, y tienen un historial de uso seguro, por lo que la regulación de esta clase de dispositivos está basada en controles generales

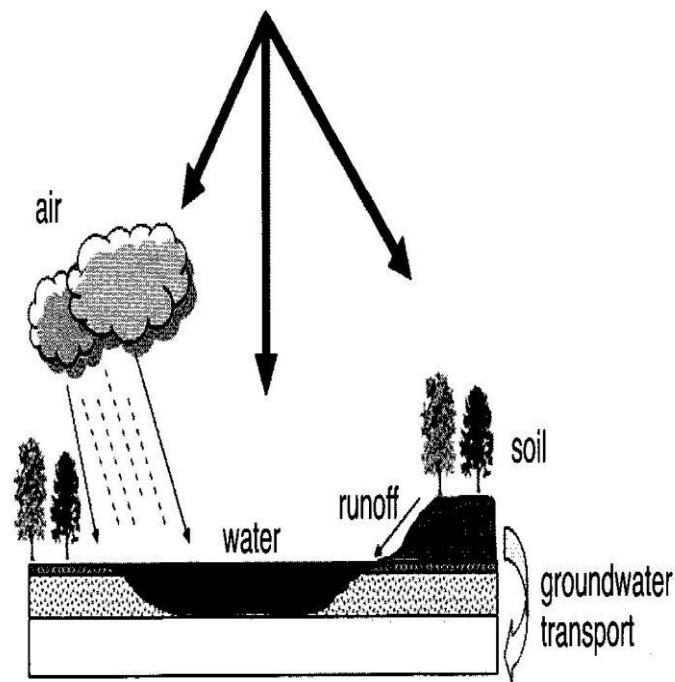
- 
- Por otro lado, los dispositivos clase II plantean un riesgo moderado (IIa) o alto (IIb) para el paciente si se utilizan incorrectamente, ya que pueden llegar a introducirse en el organismo por períodos menores a 30 días o tener contacto con las mucosas corporales por períodos menores e incluso mayores a dicho lapso de tiempo.
 - Los controles generales para esta clase de dispositivos deben ser suficientes para garantizar la seguridad y la eficacia del dispositivo.

- 
- Los dispositivos clase III representan un riesgo crítico para el paciente, debido a que penetran tejidos estériles del cuerpo y son utilizados en su mayoría para ayudar a las personas durante lapsos de tiempo mayores a treinta días (ProMéxico, 2013).
 - Los controles generales y específicos no son suficientes para asegurar su seguridad y su efectividad, por lo que deben emplearse aprobaciones pre-mercado (PMA por sus siglas en inglés) que incluyan reportes de información relevante a la seguridad y efectividad del dispositivo, los principios de su operación y cualquier estándar que respalde su diseño y manufactura (POC-CENT, 2014).

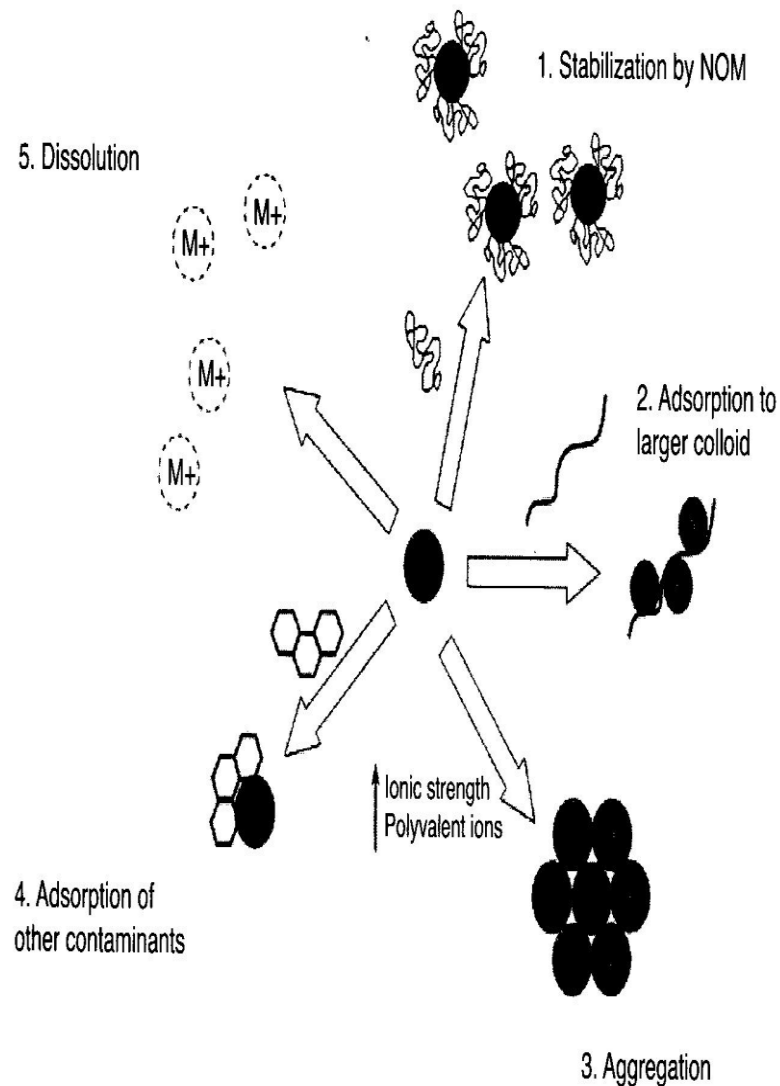
Exposición a nanomateriales



Manufacture	Use	Disposal
• Aerosolization • Manufacturing waste • Spill	- Intentional • remediation - Incidental • cosmetics, wear, weathering, excretion	• Landfills • Incineration • Wastewater treatment

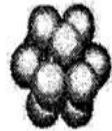
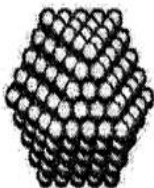
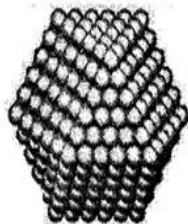


Possible sources of ENM release and transport to the aquatic environment. ENMs may be released during manufacture, use, or disposal of products. Release may occur into air, water, or soil; however, deposition and transport processes can move ENM from air and soil into water.

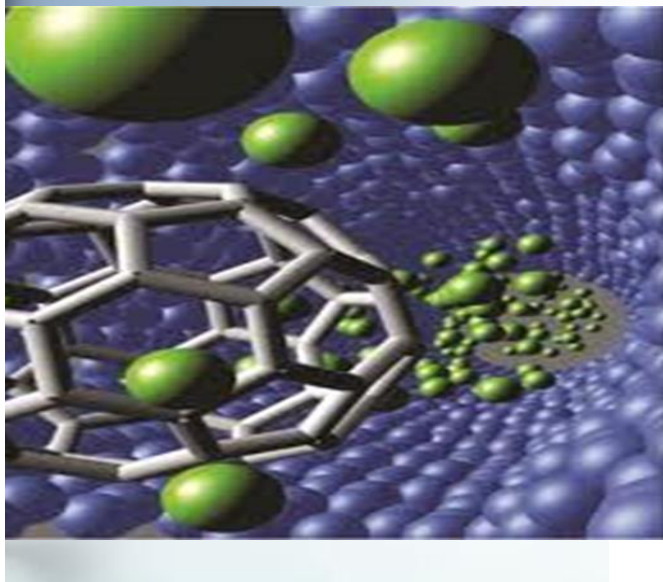


Potential transformation of ENMs in aquatic environments. Once suspended in water, ENMs are likely to be modified by aggregation, adsorption and dissolution. The impact of each pathway will be influenced strongly by water chemistry, especially the identity and concentration of natural organic matter (NOM), pH, and ionic composition.

La reactividad de las partículas las hace peligrosas, los nanomateriales proporcionan el único tipo de toxicidad debido a la modificación de la superficie que es su característica deseable y necesaria.

Full-shell Clusters		Total Number of Atoms	Surface Atoms (%)
1. Shell		13	92
2 Shells		55	76
3 Shells		147	63
4 Shells		309	52
5 Shells		561	45
7 Shells		1415	35

Características físico químicas que se conoce tienen influencia en la toxicidad y distribución



Physical Size

- Length, width, diameter
- Molecular weight
- Volume
- Surface area
- Aspect ratio

Shape

- Sphere, rod, tube, wire, shell
- Linear, branched

Polydispersity

Material(s)

Chemical

Hydrophobicity/hydrophilicity

Charge

- Positive

- Negative

- Neutral

Surface chemistry

- Bare

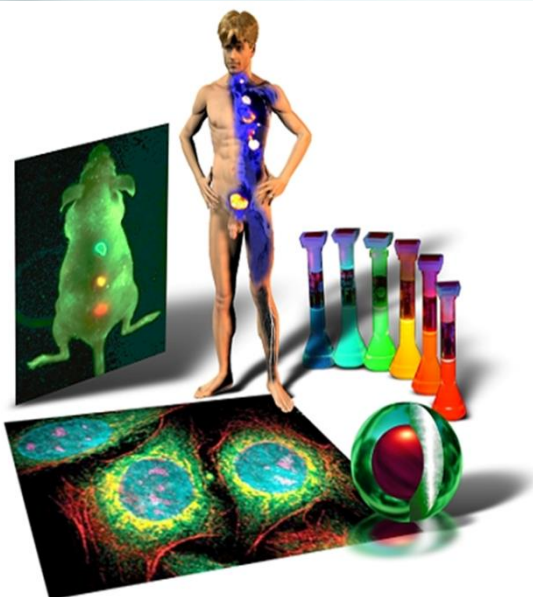
- Stabilizing agent

- Bound molecules (PEG)

Functionality

- Drugs

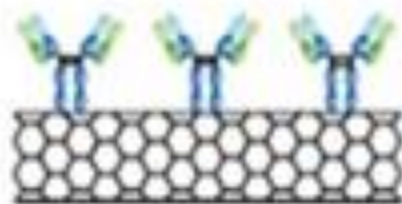
- Targeting moieties



Fusión fármaco/proteína



Nanotubos de carbón



Micelas

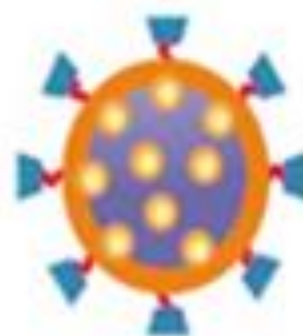
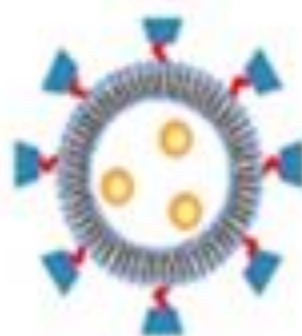
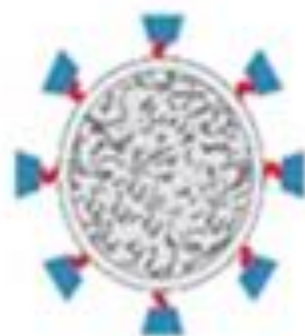


Polímeros conjugados



Materiales
inteligentes para el
tratamiento y la
detección de
Cáncer

Dendritas



Nanoesferas

Liposomas

Portadores poliméricos



Lipsomas



Polímero biodegradable



Quimioterapéutico



Superficie funcionalizada



Agente de alta circulación



Anticuerpos



Partícula inorgánica



Esfera metálica



Molécula anfipática



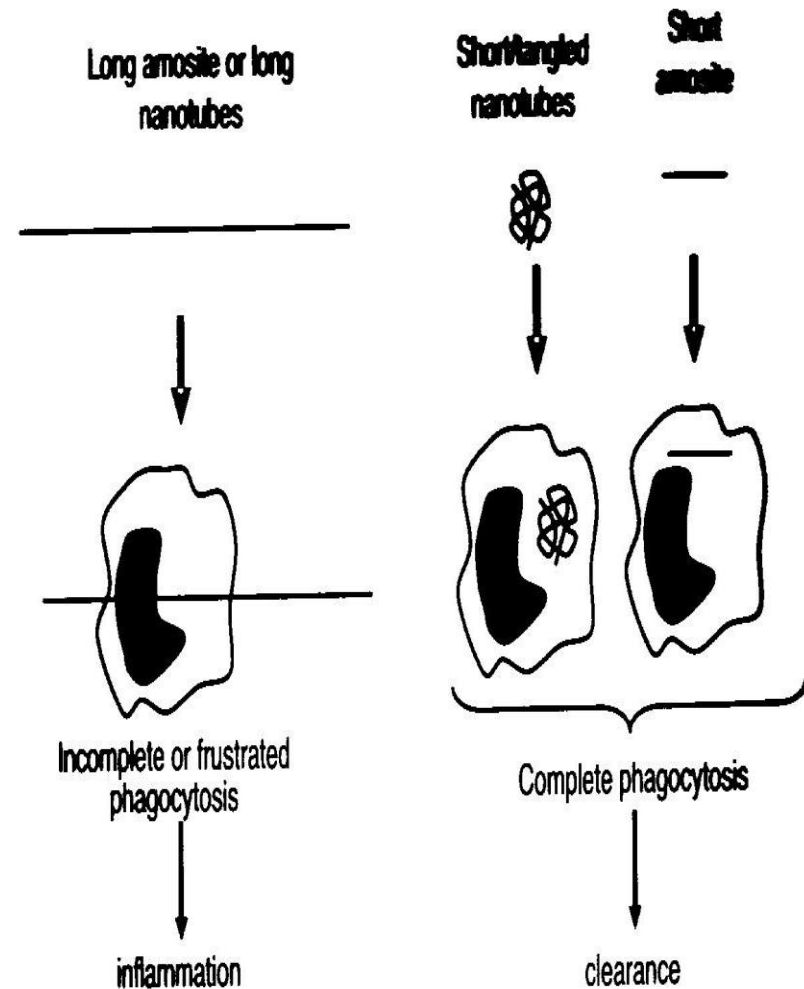
Dendrimero



Nanotubos de carbón

Propiedades físico-químicas relacionadas con toxicidad

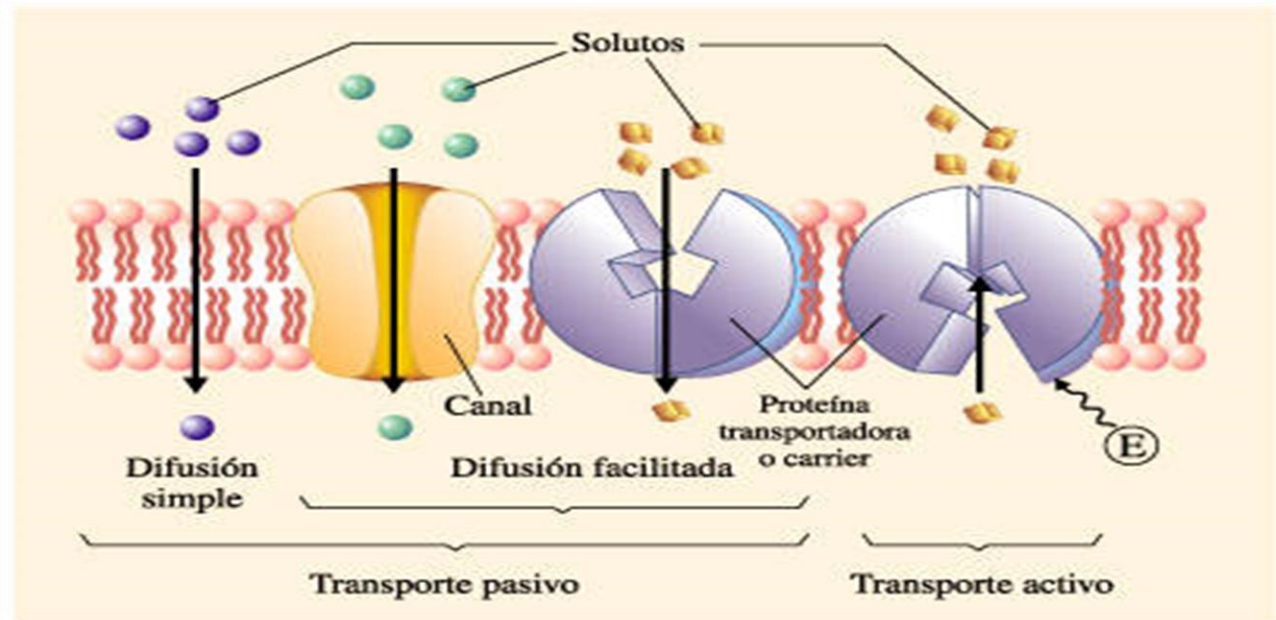
- ✓ Se pueden transportar a través de las membranas con mayor facilidad o interrumpir la fagocitosis normal de células inmunológicas como los macrófagos.
- ✓ Las NPs se relacionan también con agregación y activación plaquetaria.
- ✓ Procesos autoinmunes



Propiedades físico-químicas relacionadas con toxicidad

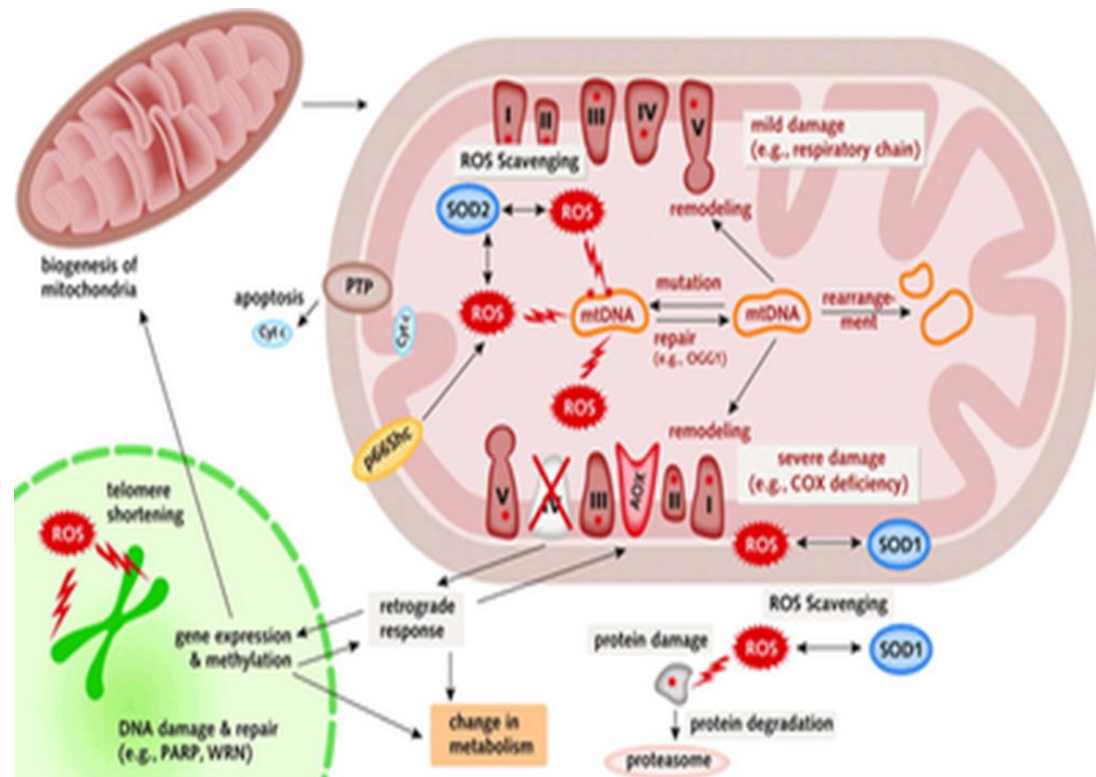
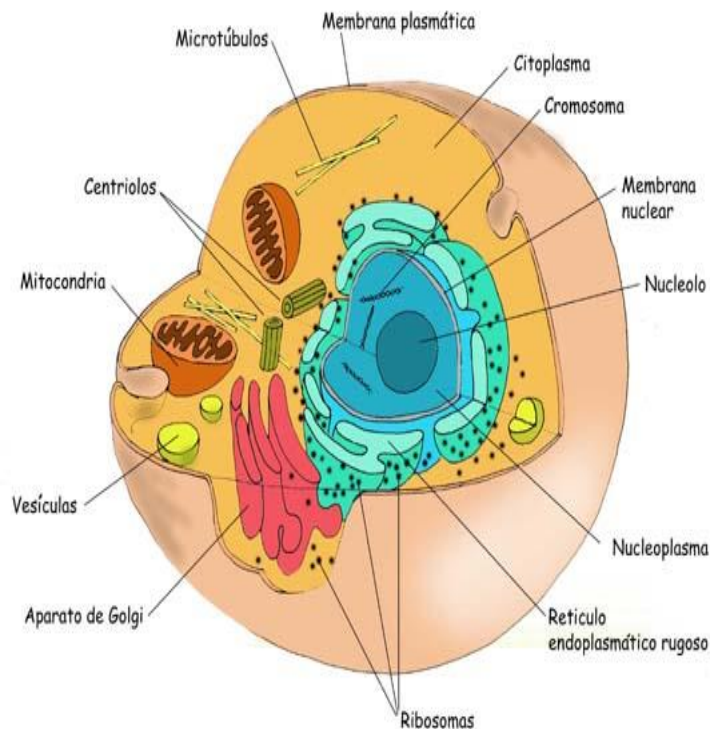
Tamaño, distribución y dispersión

- A medida que disminuye el tamaño de la partícula (y aumenta la superficie) disminuye la velocidad de sedimentación, lo que aumenta su movilidad, el transporte potencial, y la biodisponibilidad en el medio ambiente. Esta movilidad se puede traducir en el transporte pasivo a través de las membranas celulares.



Propiedades físico-químicas relacionadas con toxicidad

Las nanopartículas que crucen las membranas serán capaces de interactuar con el ADN, el ARN, el núcleo y otras organelas importantes.

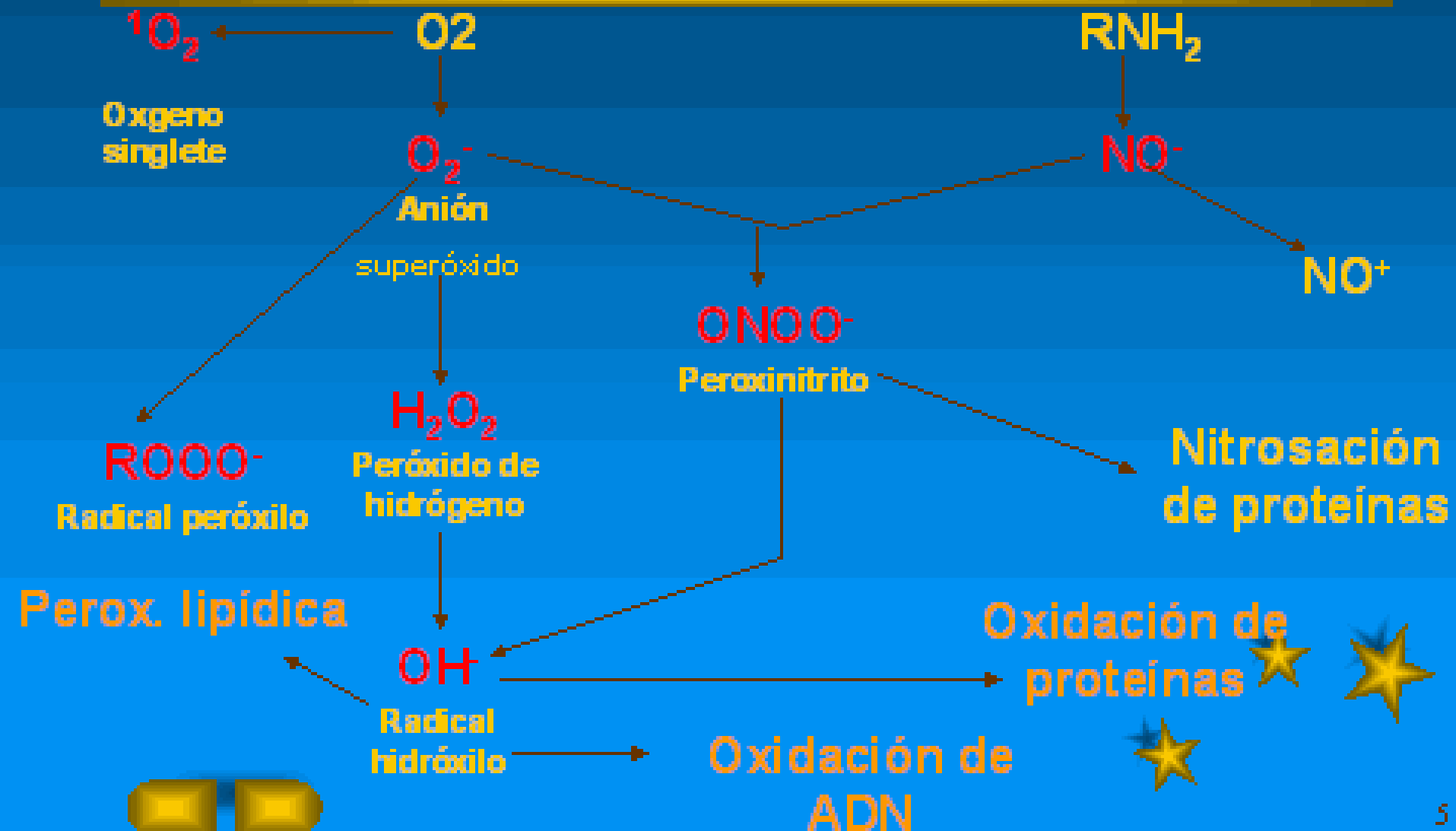


Propiedades físico-químicas relacionadas con toxicidad

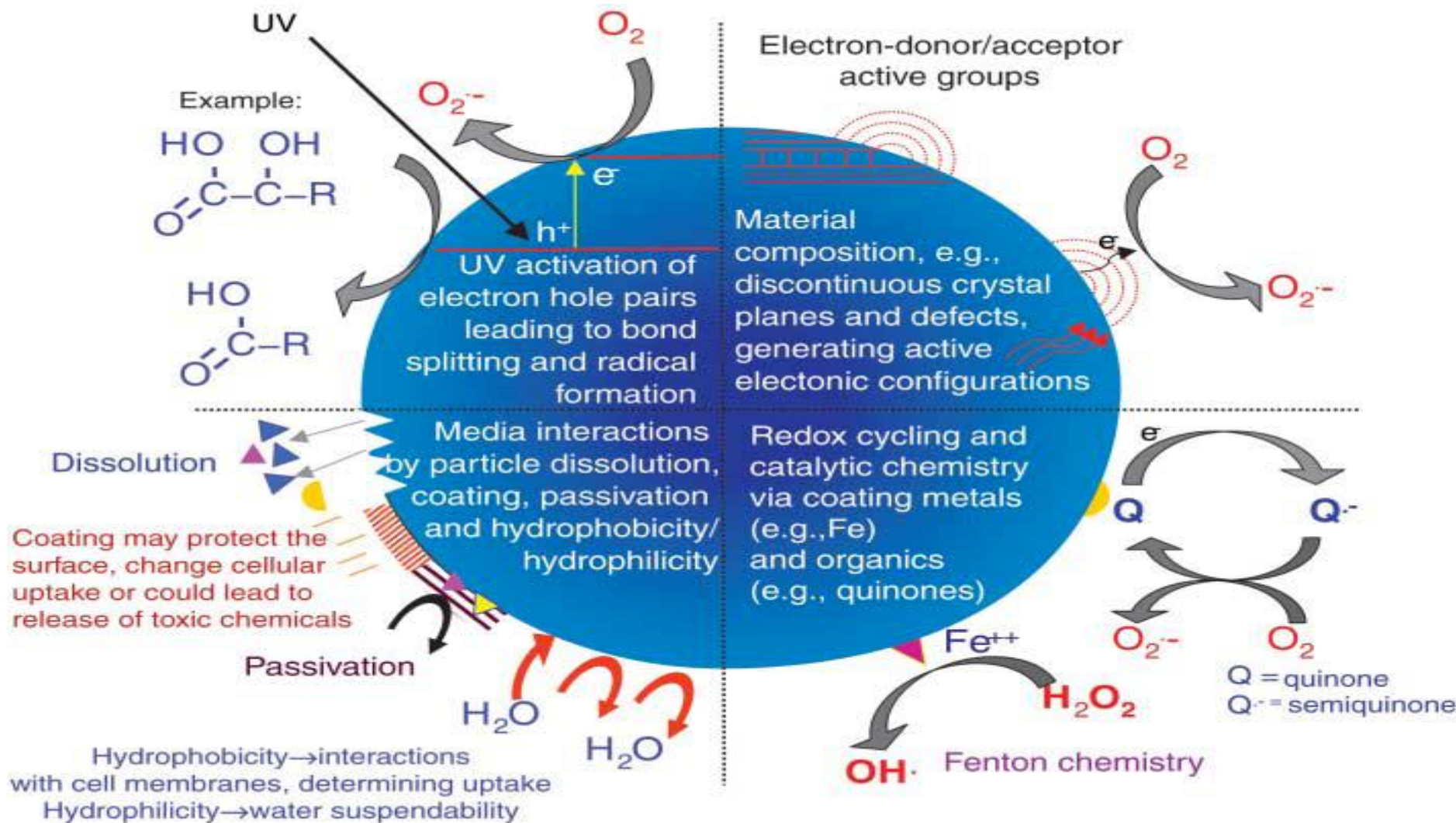
Actividad superficial

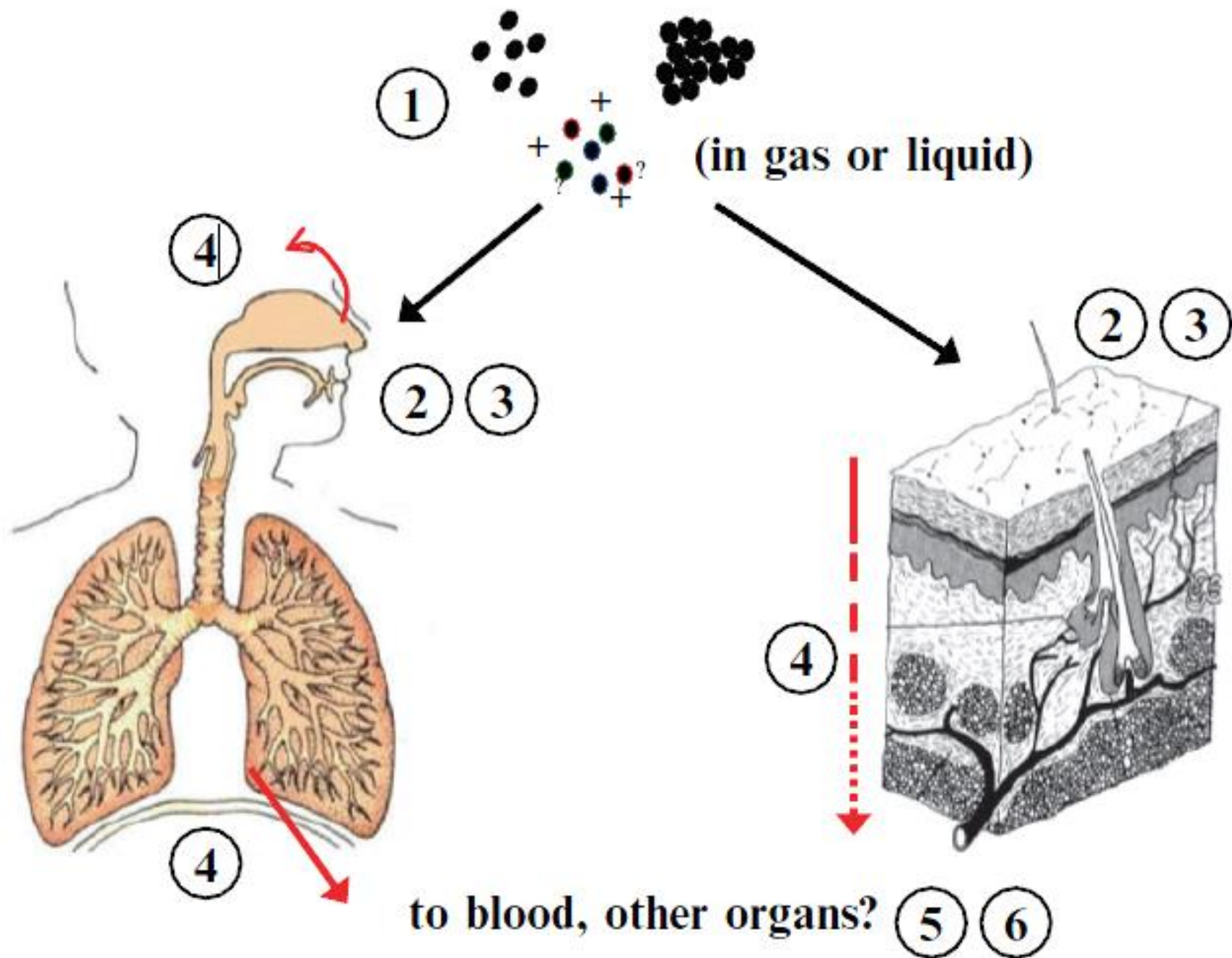
- Si la superficie del nanomaterial es altamente reactiva (incluyendo otros componentes, tales como metales de transición y revestimientos) en un ambiente acuoso, entonces su potencial de generar especies reactivas es muy alto

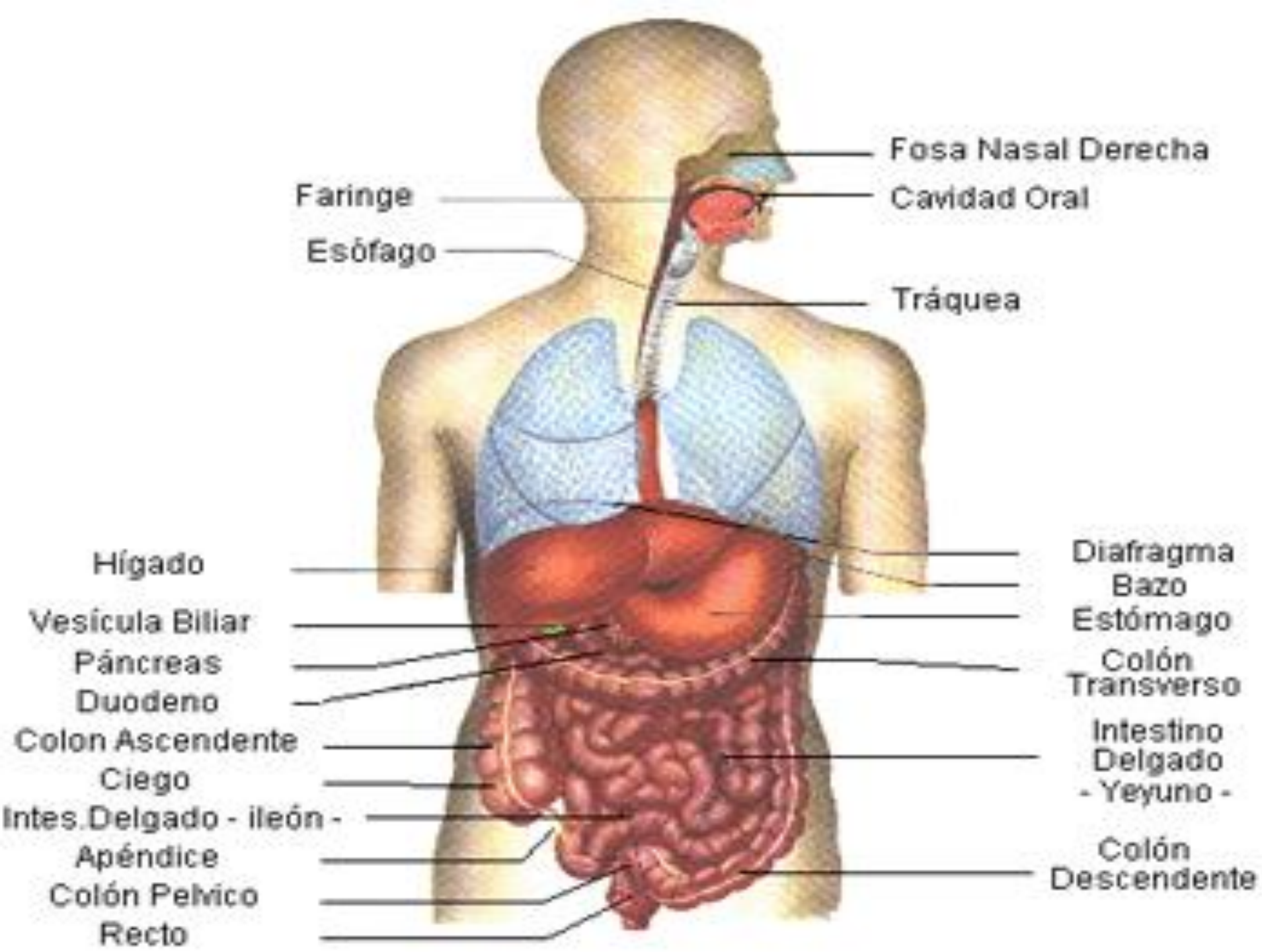
ESPECIES REACTIVAS



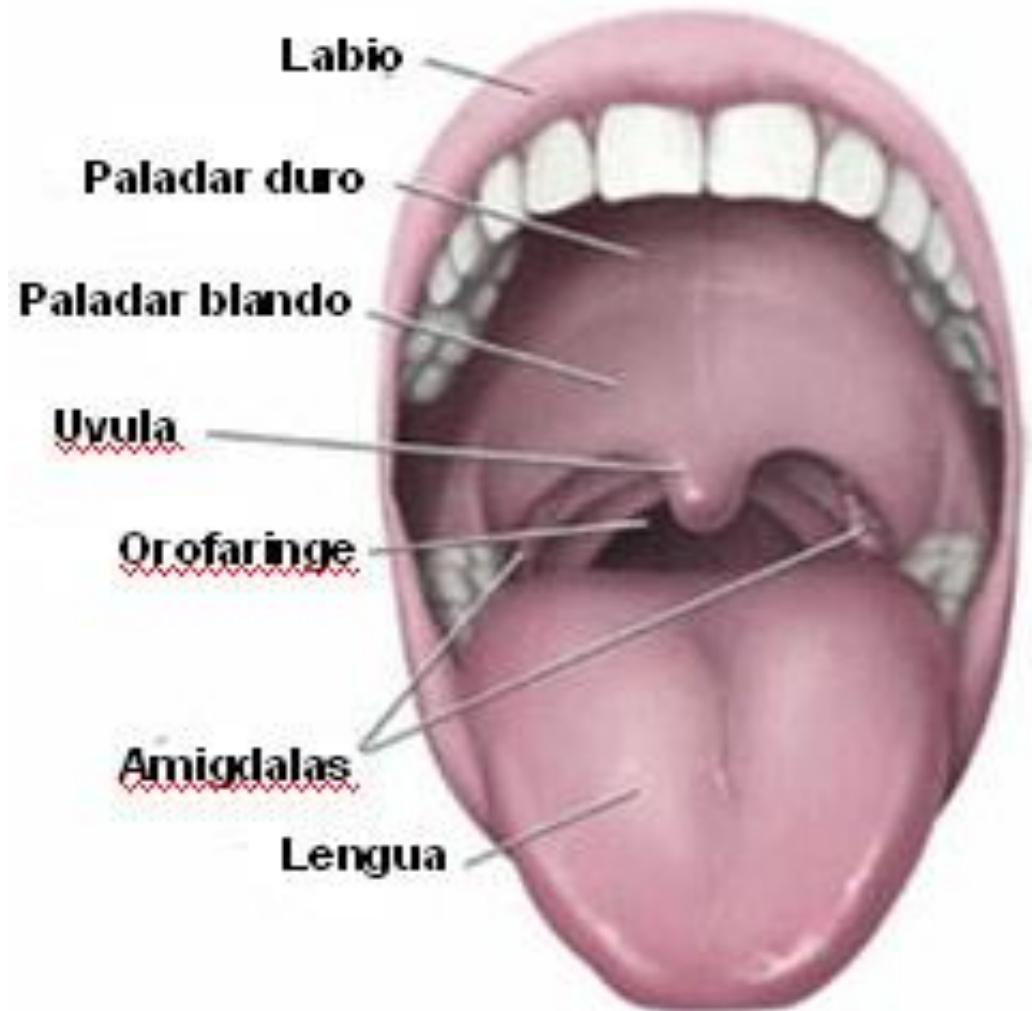
Mecanismos por los cuales los nanomateriales interactúan con tejidos biológicos



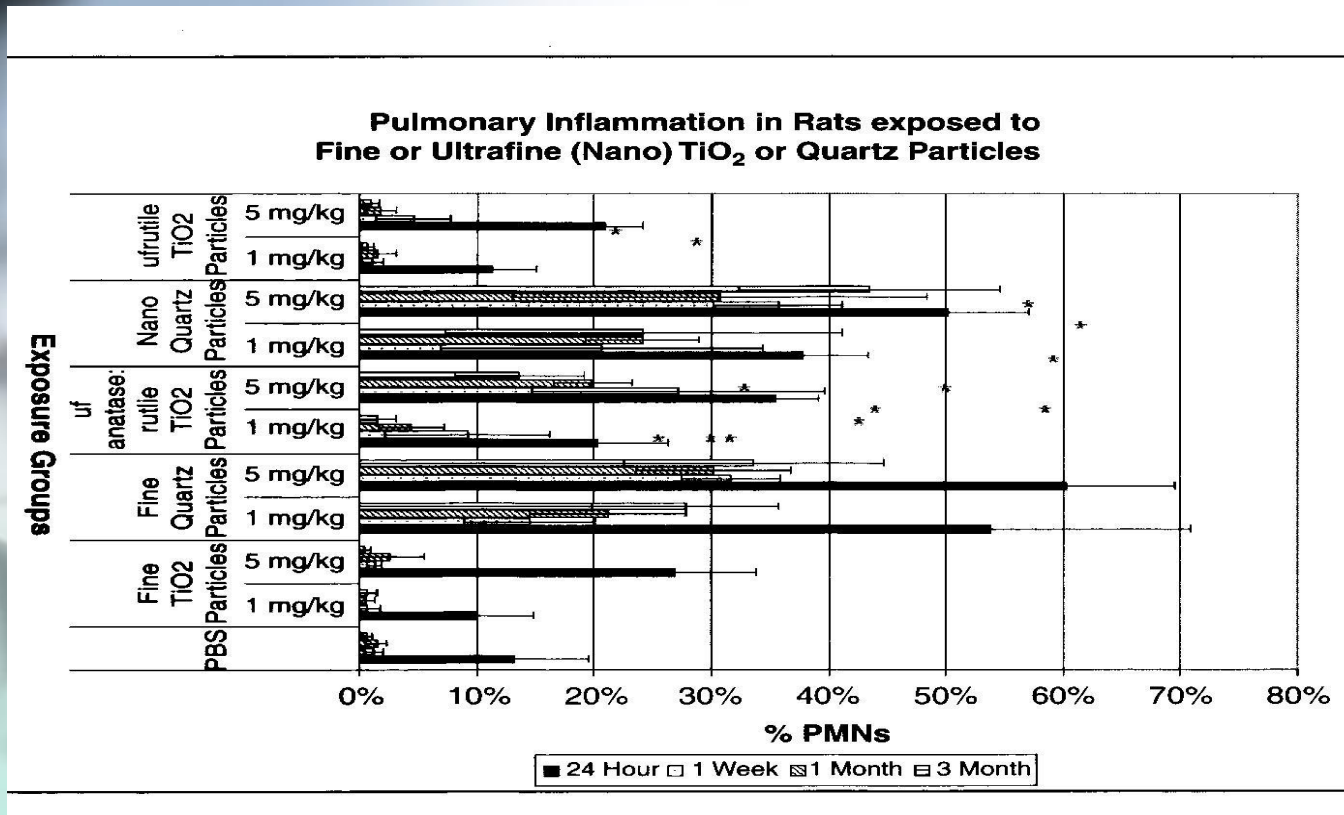




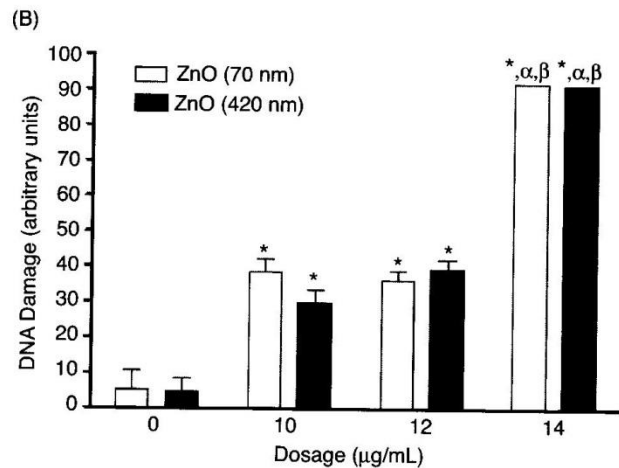
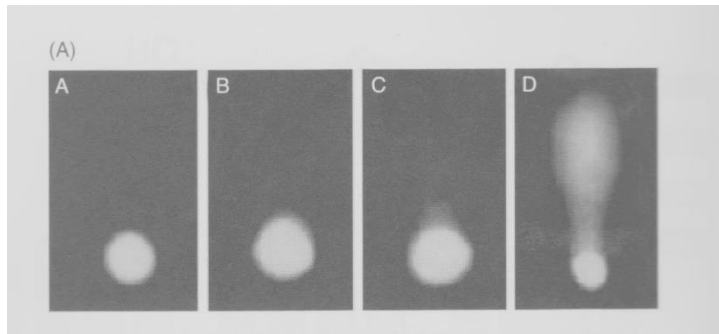
- Muchas sustancias penetran la mucosa por difusión simple, por sí mismas o en combinación con alguna molécula transportadora ("carrier") secretada en la saliva.



Ejemplos de ensayos de toxicidad

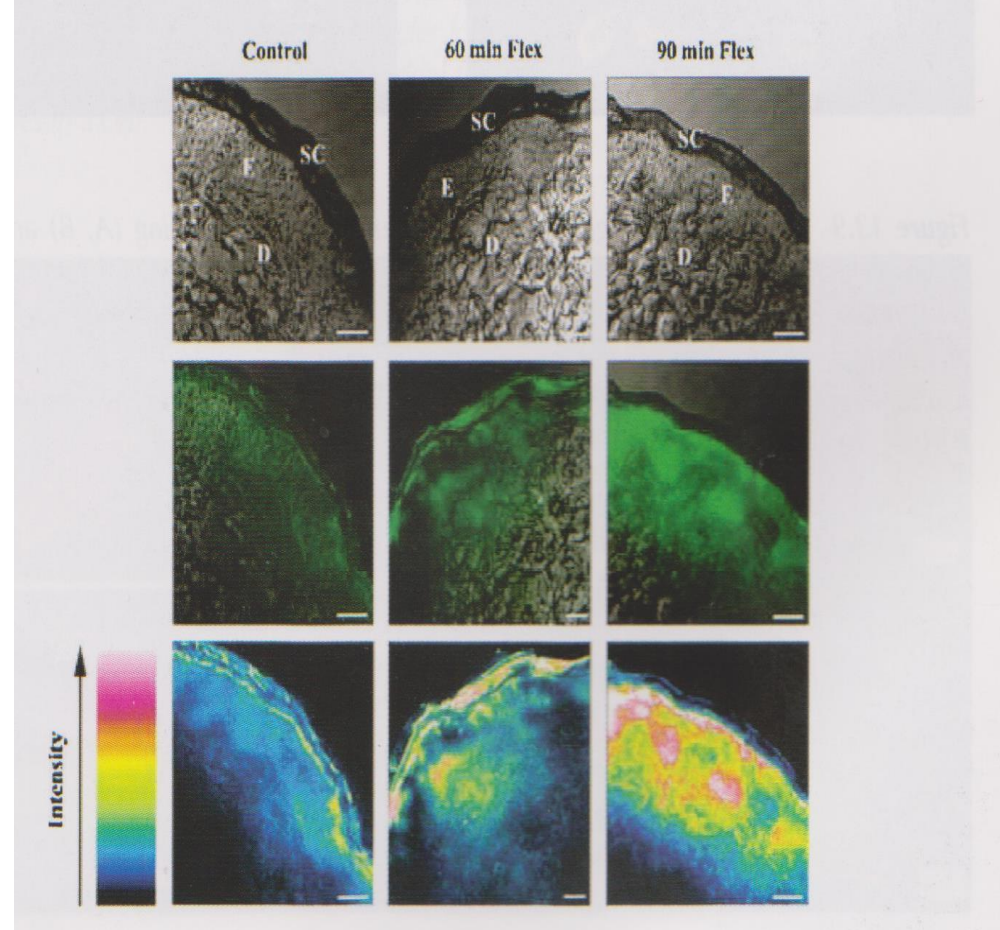


Tomado de : Nanotoxicity. From In Vivo and In Vitro Models to Health Risks 2010. Editorial WILEY . United Kingdom.

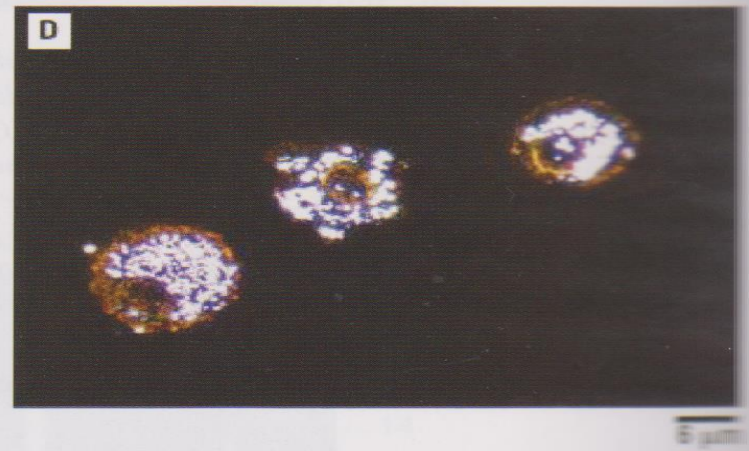
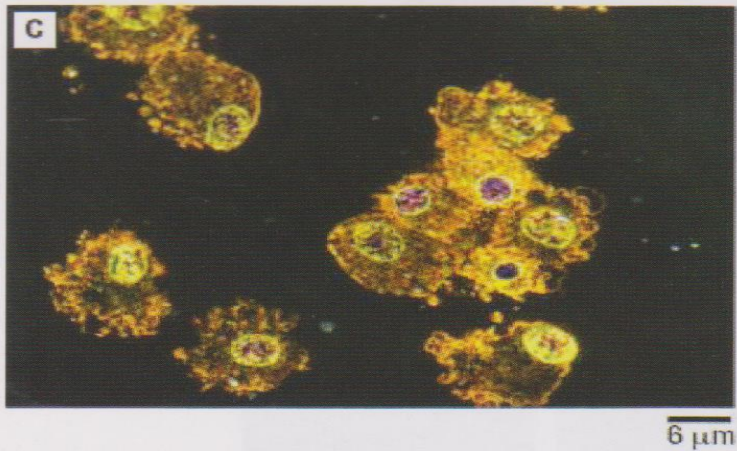
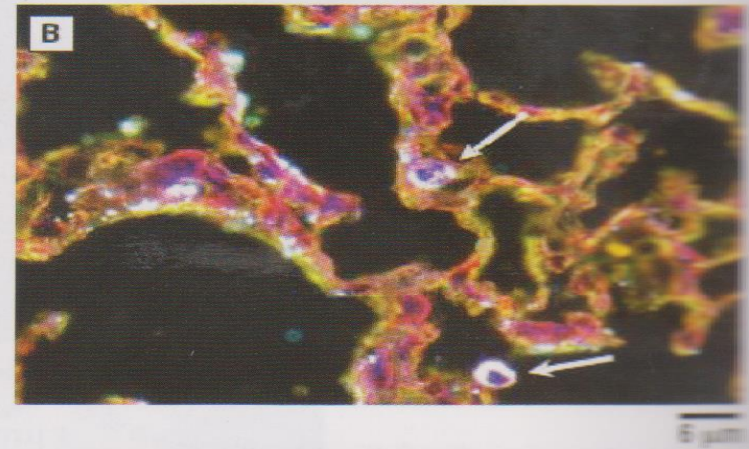
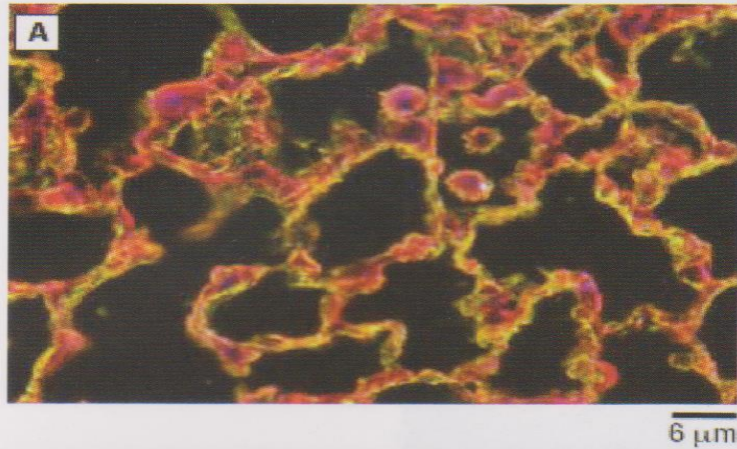


- Ensayo cometa en NPs de ZnO.

Tomado de : Nanotoxicity. From In Vivo and In Vitro Models to Health Risks 2010. Editorial WILEY . United Kingdom.



- Microscopia de escaneado confocal, piel de cerdo, penetración de fulerenos a través de las capas dérmicas y epidérmicas



Macrófagos alveolares en tejido de pulmón y células de piel expuestas a NP de TiO_2 con tamaño de 2 a 5 nm necropsiado inmediatamente después de la última exposición.

- Tomado de : Nanotoxicity. From In Vivo and In Vitro Models to Health Risks 2010. Editorial WILEY . United Kingdom.

- 
- Las nanoparticulas de plata tienen aprobación clínica en suturas y se logra un buen control de infección en las heridas, se ha demostrado biocompatibilidad dermica, no obstante también se ha demostrado que inhibe la polifерación de queratinositos y por lo tanto la morfología celular.

An Overview. On the Toxicity of Therapeutically Used Nanoparticles:

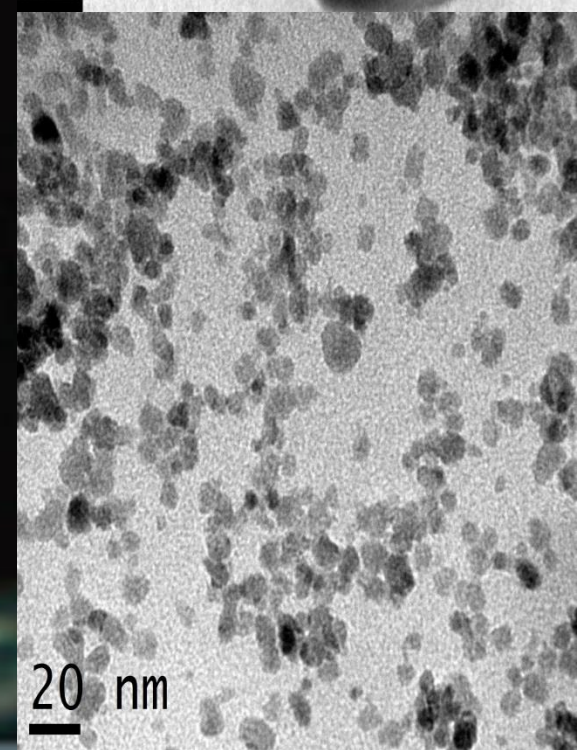
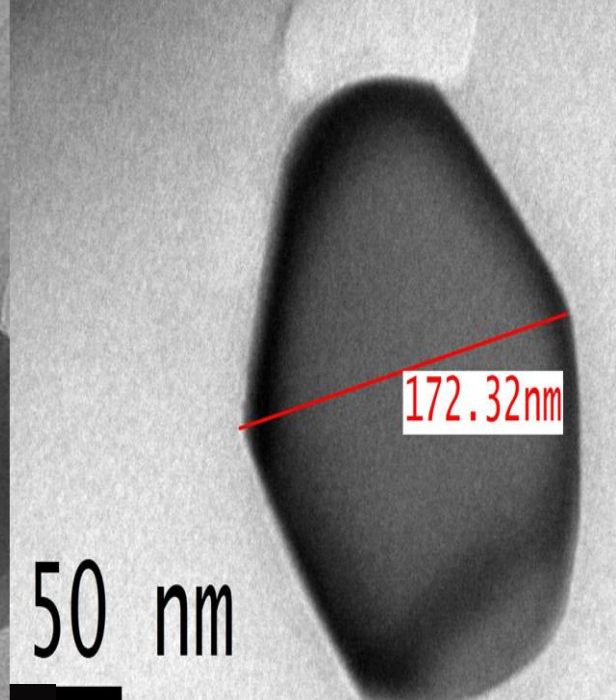
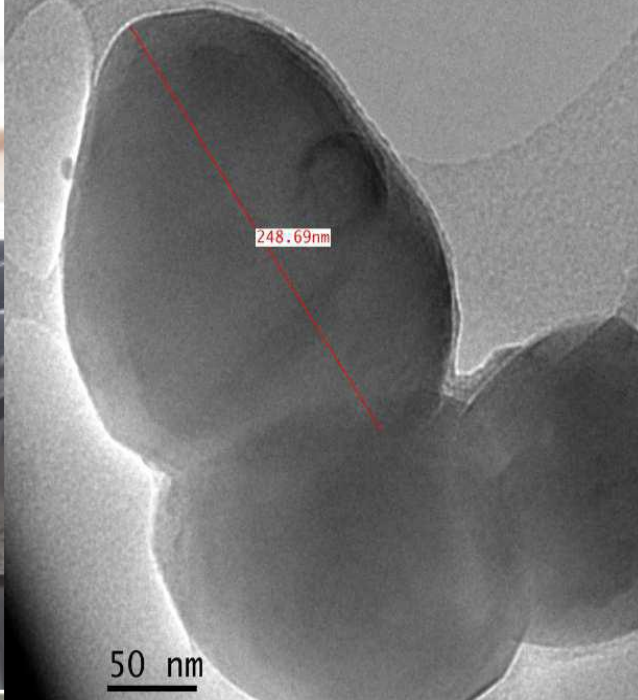
El-Ansary and S. Al-Daihan. Journal of Toxicology

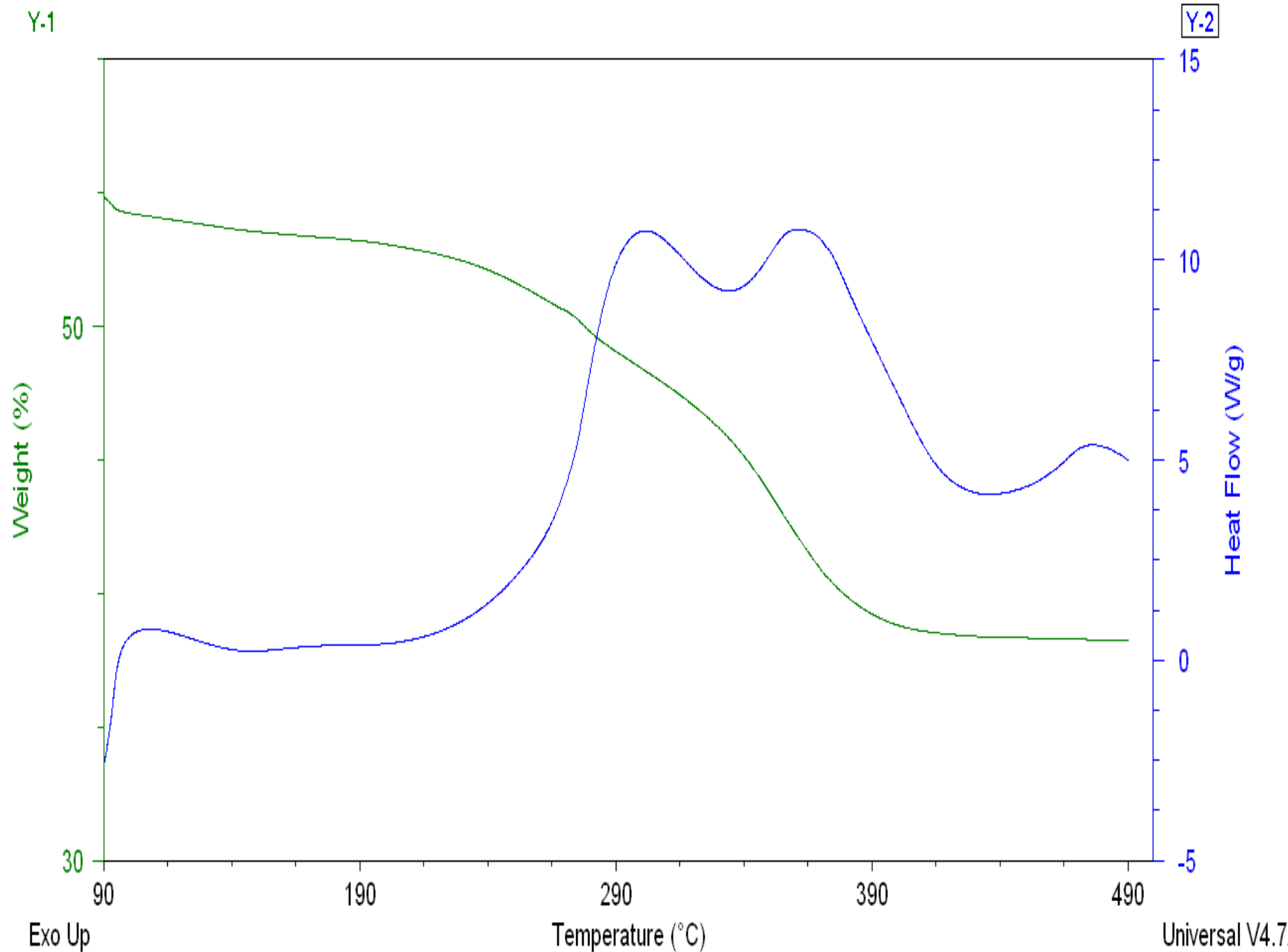
2009, Article ID 754810, 9 pages

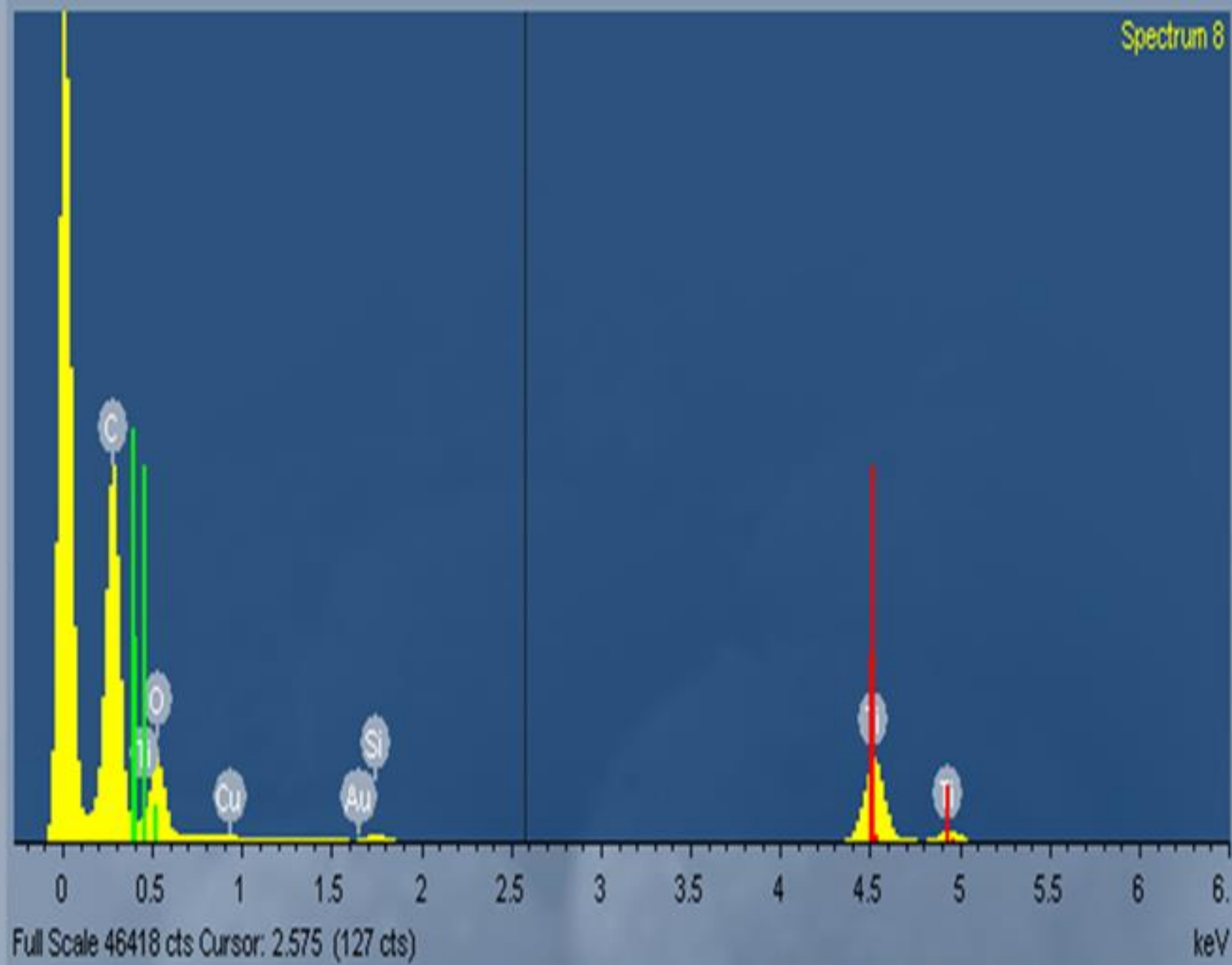
Nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 para tratamiento de arsénico en abastecimiento de agua

- V Montero; R Starbird; J Calvo; A Puente. ITCR.
- Mezcla del $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ en ausencia de oxígeno, mantener a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 40 min, precipitar las partículas de hierro usando NH_4OH .
- Utilizando básicamente la metodología* a la que se realizaron modificaciones fueron obtenidas partículas con un emulsificante: ácido esteárico y solvente final tetrahidrofurano.

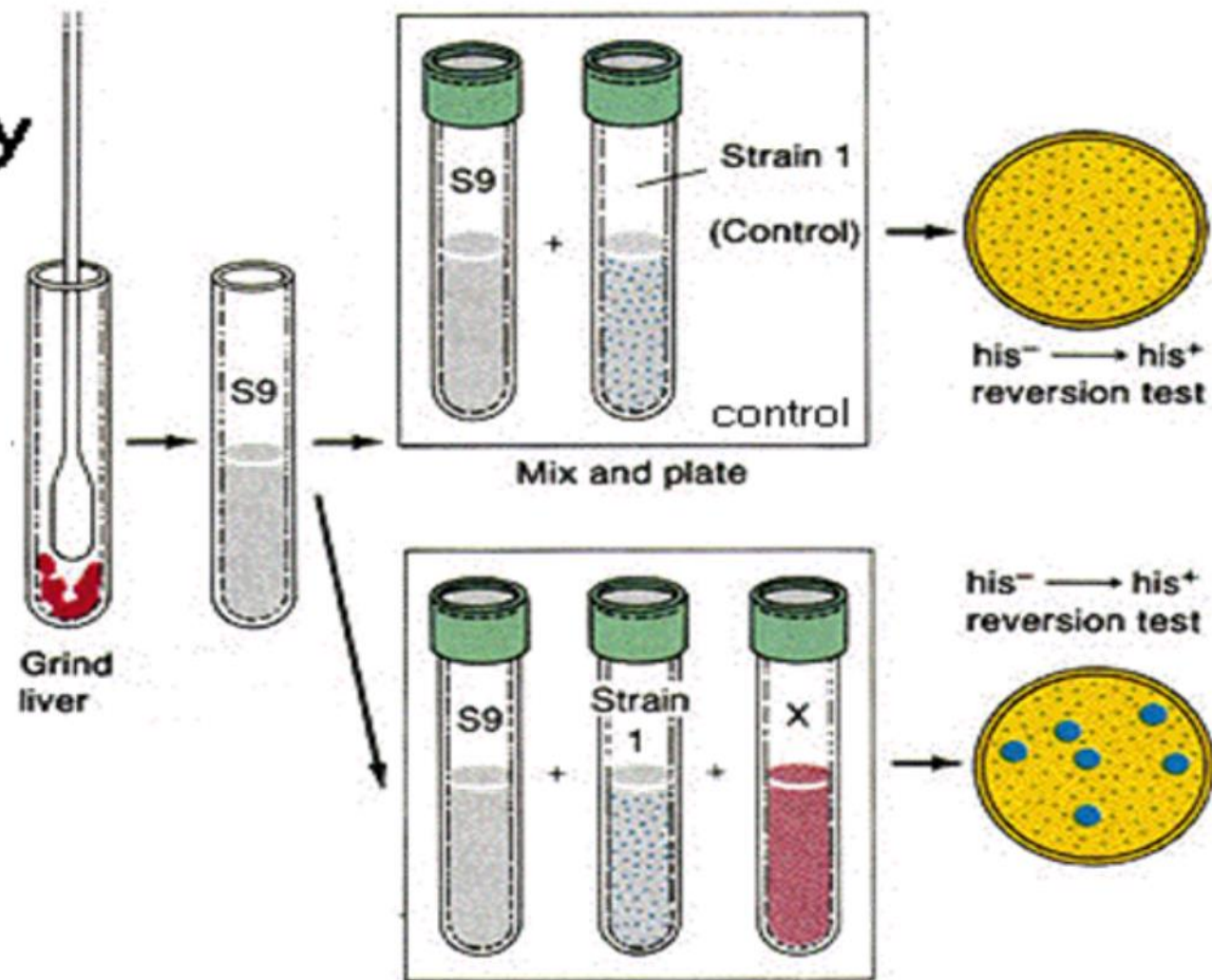
*Koo, H., Chang, S., & Choi, W. (2006). Emulsion-based synthesis of reversibly swellable, magnetic nanoparticle-embedded polymer microcapsules.







Ames Test for mutagenicity



- Ensayos de mutagénesis UMU C variación del Test de Ames que utiliza microplacas de titulación, técnica fluorescente para agua.

Tareas pendientes del proyecto

Estabilización físico-química del agua

Cond y solidos
suspendidos

pH

Membrana de sostén

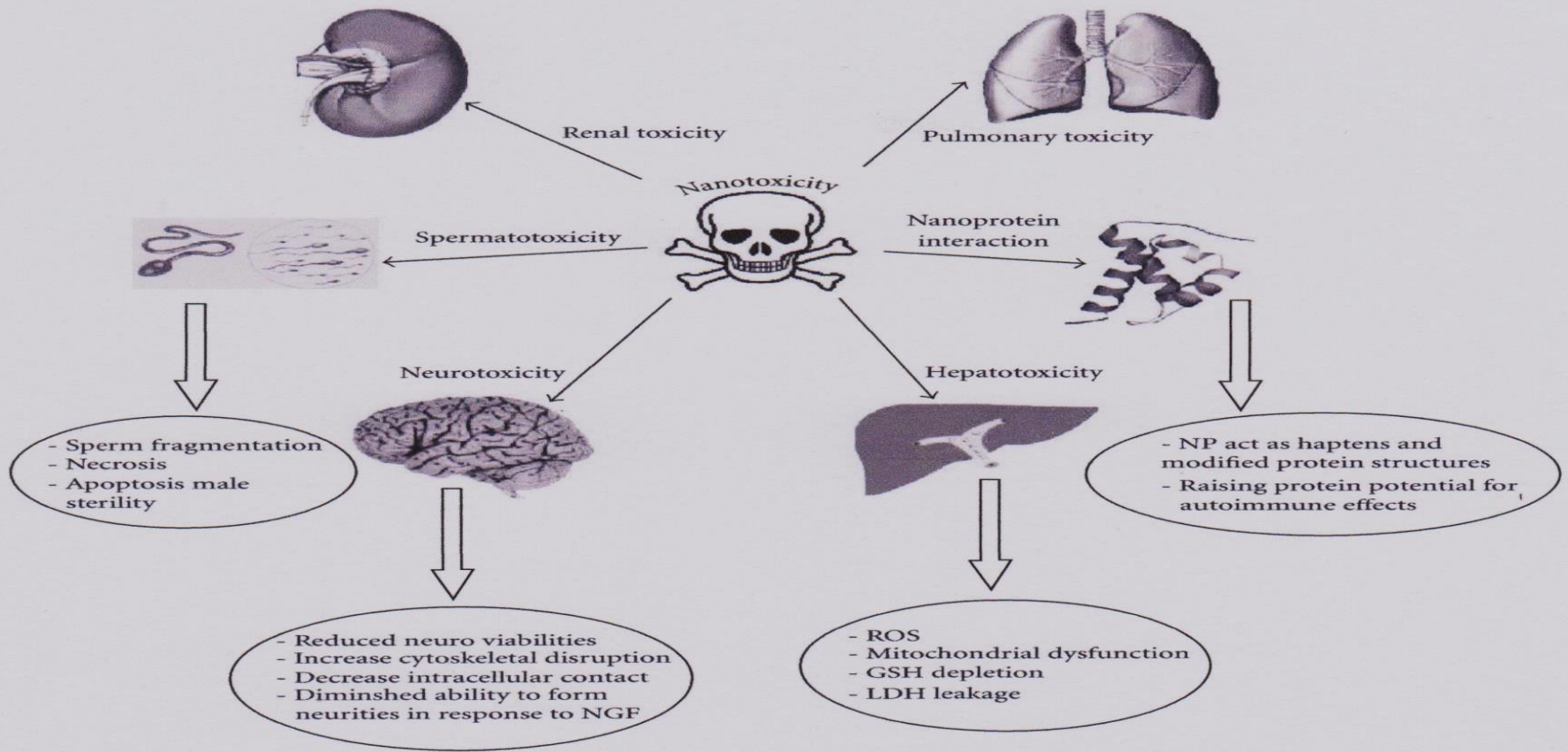
Presencia de
otros aniones y
cationes
naturales

Naturaleza

Retención

Velocidad

Reacción y magnetismo

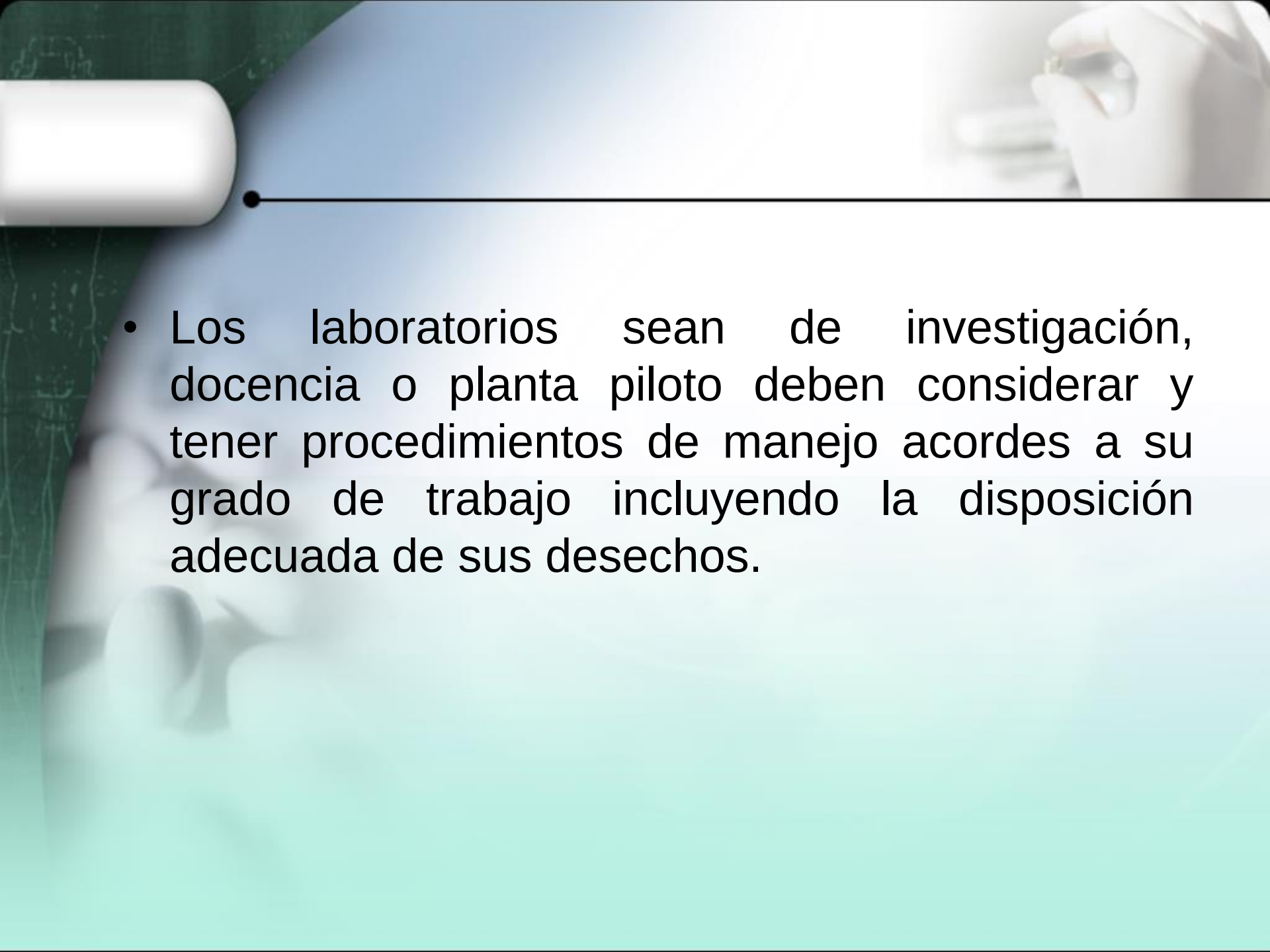


Efectos mas importantes provocados por nanopartículas

(An Overview. On the Toxicity of Therapeutically Used Nanoparticles:
El-Ansary and S. Al-Daihan. Journal of Toxicology
2009, Article ID 754810, 9 pages)

Conclusiones

- Las NPs deben considerarse materiales tóxicos y emplearse, tratarse y disponerse, con los cuidados que este tipo de materiales requieren.
- En el desarrollo de nanodispositivos, nanocompuestos o materiales nanoestructurados con efecto directo o indirecto a la salud humana es imprescindible demostrar que su uso y desempeño son totalmente seguros para las personas directa o indirectamente.

- 
- Los laboratorios sean de investigación, docencia o planta piloto deben considerar y tener procedimientos de manejo acordes a su grado de trabajo incluyendo la disposición adecuada de sus desechos.

Investigaciones necesarias

Desarrollar instrumentos para evaluar la exposición de NM en aire y agua, a su vez aplicarlos a desarrollo de dispositivos específicos.

Validar métodos para evaluar la toxicidad de NP en matrices específicas.

Desarrollar modelos para predecir el potencial impacto de NM y NP en el medio ambiente y en la salud humana educando a la población

Desarrollar sistemas robustos para evaluar la salud y el impacto ambiental de NP y NM sobre su ciclo de vida.

- I. Linkov and J. Steevens (eds.). (2009). Human health risks of engineered nanomaterials: *Critical Knowledge Gaps in Nanomaterials Risk Assessment. Nanomaterials: Risks and Benefits*, 3 © Springer Science + Business Media B.V.
- El-Ansary and S. Al-Daihan. 2009. On the Toxicity of Therapeutically Used Nanoparticles:An Overview. Journal of Toxicology.
- Nanotoxicity. From In Vivo and In Vitro Models to Health Risks 2010.Editorial WILEY . United Kingdom.
- El-Ansary and S. Al-Daihan. 2009. On the Toxicity of Therapeutically Used Nanoparticles:Review Article. Journal of Toxicology. 1-9.



GRACIAS

