

CAPÍTULO 9

Efecto de la Ingesta de Nanoestructuras en el Organismo

Juan Carlos García-Gallegos

Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de
Ingeniería-Mexicali, Bioingeniería

Juan.carlos.garcia.gallegos@uabc.edu.mx

Doi: <http://dx.doi.org/10.3926/oms.290>

Referenciar este capítulo

García-Gallegos, J.C. (2015). *Efecto de la ingesta de nanoestructuras en el organismo*. En Ramírez-Ortiz, M.E. (Ed.). *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos*. Barcelona, España: OmniaScience. 255-287.

Resumen

A mediados del siglo XX, el físico estadounidense Richard Feynman, en su célebre conferencia “En el interior hay espacio de sobra” (There’s plenty of room at the bottom), sugirió la posibilidad de manipular átomos para sintetizar materiales en una escala atómica o molecular. Más adelante, en 1974, el término “nanotecnología” fue acuñado por el científico japonés Norio Taguinuchi (1912-1999) y poco después, en forma independiente, por el científico estadounidense Kim Eric Drexler en su libro *Motores de creación: la próxima era de la nanotecnología* (*Engines of creation: the coming era of nanotechonology*) de 1986 (Drexler, 1986). Por esos años, con el descubrimiento y síntesis del fulereno (esferoide formado por 60 átomos de carbono) por los científicos estadounidenses Robert Curl, Richard Smalley y el británico Harry Kroto (Kroto, Heath, O’Brien, Curl & Smalley, 1985), y con la descripción de los nanotubos de carbono por el científico japonés Sumio Iijima (Iijima, 1991), la nanociencia y la nanotecnología arrancaron formalmente.

El objetivo de la nanociencia y la nanotecnología es la manipulación de la materia dentro del rango de 1 a 100 nm (por lo menos en una de las dimensiones). El avance en estas áreas ha permitido el desarrollo de nanoestructuras de dimensión 0 (nanopartículas), 1D, (nanotubos, nanoalambres), 2D (planos, como el grafeno), y 3D (una combinación de las anteriores), con aplicaciones en áreas como, la física, química, ciencia de materiales, medicina, y prácticamente en todos los campos de la ingeniería.

Precisamente en el área de la ingeniería en alimentos, la nanotecnología ha permitido el desarrollo de diversos empaques

(películas poliméricas con nanoestructuras dispersas) para resguardar y aumentar la vida de anaquel de los alimentos; de bactericidas más eficientes (nanopartículas en una solución coloidal); nanoestructuras naturales –como las provenientes de ciertos cristales de almidón, o interfaces agua-aceite que determinan la estabilidad de las emulsiones– o sintéticas que actúan directamente en la digestión de los alimentos para un determinado objetivo (por ejemplo, la tasa de hidrólisis de las grasas de los alimentos).

Algunas de las nanoestructuras dispersas en un empaque de película polimérica (nylon-6, PET, por ejemplo) podrían pasar al alimento que protegen debido a que están en contacto directo, pero más aún: hay alimentos que en un proceso previo les fue añadido algún tipo de nanoestructura. Estas nanoestructuras pasan al tracto gastrointestinal cuando son ingeridos los alimentos y son sometidas al proceso natural de digestión. Algunas nanoestructuras podrían ser desechadas del cuerpo (en la actualidad, se están recuperando metales de las heces, como oro, plata o vanadio) o podrían ser acumuladas en alguna región del organismo, resultando en altos niveles de toxicidad.

La propuesta de capítulo consiste en una discusión de los estudios más actuales considerando la degradación y toxicidad de nanoestructuras metálicas, de óxidos metálicos, y poliméricas que podrían ser ingeridos. En esta revisión crítica se compararán los tipos de nanoestructuras utilizadas que son potencialmente asimilables, desechables o acumulables en el organismo, así como sus niveles de toxicidad.

Palabras clave

Nanopartículas, nanoestructuras, toxicidad, absorción, tracto gastrointestinal.

1. Introducción

La nanociencia y la nanotecnología han tenido un desarrollo vertiginoso durante las últimas dos décadas. En la actualidad, se comercializan productos con nanoestructuras que potencializan su funcionamiento, por ejemplo, plásticos reforzados con nanotubos de carbono, protectores solares con nanopartículas de óxido de titanio, bactericidas basadas en nanopartículas de plata, entre otros. A la par de estos desarrollos ha aumentado la preocupación por el efecto de estas nanoestructuras en el cuerpo humano al inhalarse, ingerirse o absorberse mediante la piel. Aunque existen muchos estudios sobre la toxicidad de nanopartículas en las vías respiratorias y en la piel, es necesario profundizar en los efectos en el tracto gastrointestinal al ser ingeridas.

La nanotecnología ha permitido el desarrollo de: materiales compuestos de polímeros y nanoestructuras para resguardar y aumentar la vida de anaquel de los alimentos; de nanopartículas bactericidas (de plata o cobre) más eficientes; nanoestructuras naturales –como las provenientes de ciertos cristales de almidón o interfaces agua-aceite que determinan la estabilidad de las emulsiones– o sintéticas que actúan directamente en la digestión de los alimentos para influir en la tasa de hidrólisis de las grasas, por ejemplo.

Es posible que determinadas nanoestructuras puedan desprenderse de la película polimérica que protege a los alimentos y emigrar directamente hacia estos o podrían estar incluidas antes desde su elaboración. Estos nanomateriales podrían ingerirse y someterse al proceso natural de digestión: si no se degradan serían desechados o en el peor de los casos, podrían absorberse y acumularse en alguna región del tracto intestinal o del organismo.

La toxicidad de las nanoestructuras se ha estado estudiando a la par de su desarrollo y aplicación; se ha observado una elevada correlación con su tamaño: en general, entre más pequeños son se incrementa la posibilidad de que el organismo los absorba y se acumulen en alguna región, resultando ser tóxicas si interfieren con la actividad metabólica.

2. Nanociencia y Nanotecnología

A mediados del siglo XX, el físico estadounidense Richard Feynman, en su célebre conferencia “En el interior hay espacio de sobra” (There’s plenty of room at the bottom), sugirió la posibilidad de manipular átomos para sintetizar materiales en una escala atómica o molecular. Más adelante, en 1974, el término “nanotecnología” fue acuñado por el científico japonés Norio Taguinuchi (1912-1999) y poco después, en forma independiente, por el científico estadounidense Kim Eric Drexler en su libro *Motores de creación: la próxima era de la nanotecnología* (*Engines of creation: the coming era of nanotechnology*), de 1986 (Drexler, 1986). Por esos años, con el descubrimiento y síntesis del fulereno (esferoide formado por 60 átomos de carbono) (Figura 1) por los científicos estadounidenses Robert Curl, Richard Smalley y el británico Harry Kroto (Kroto et al., 1985), y con la descripción de los nanotubos de carbono por el científico japonés Sumio Iijima en 1991 (Iijima, 1991), la nanociencia y la nanotecnología arrancaron formalmente.

El objetivo de la nanociencia y la nanotecnología es el estudio y manipulación de la materia dentro del rango de 1 a 100 nm (10^{-9} m) por lo menos en una de las dimensiones. El avance en estas áreas ha permitido el desarrollo de nanoestructuras de dimensión 0 (nanopartículas), 1 D, (nanotubos, nanoalambres), 2 D (planos, como el grafeno), y 3 D (una combinación de las anteriores) (Terrones, Botello-Méndez, Campos-Delgado, López-Urías, Vega-Cantú, Rodríguez-Macías et al., 2010), con aplicaciones en áreas como la física, química, ciencia de materiales, medicina, y prácticamente en todos los campos de la ingeniería.

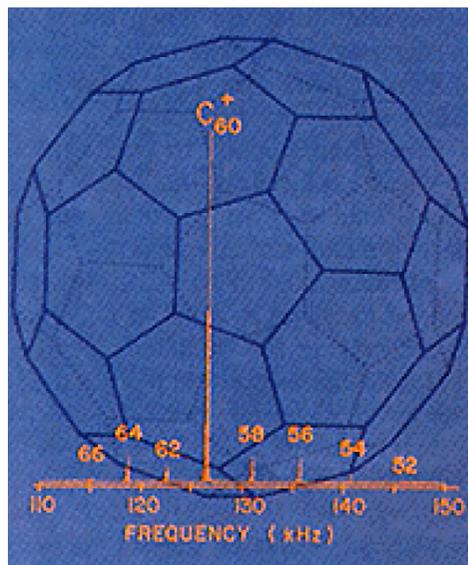


Figura 1. Estructura del fulereno (Baum, 1997)

El sentido común nos dice que si pulverizamos un pedazo de materia, bastaría solo uno de los gránulos para estudiar las propiedades fisicoquímicas totales del elemento o compuesto; no obstante, si tal gránulo se dividiera sucesivamente hasta llegar a dimensiones nanométricas, las propiedades fisicoquímicas, como: punto de fusión, potencial químico, color, densidad, ductilidad, elasticidad, resistividad (eléctrica y térmica), dureza, entre otras propiedades, cambiarían en función de su tamaño y morfología. Por ejemplo, se ha visto que las nanopartículas suspendidas en solución producen diferente color al ojo humano en función de su tamaño y forma: los efectos cuánticos ópticos (y también electrónicos) comienzan a ser más evidentes en materiales con una estructura a escala nanométrica.

A continuación, se listan algunas propiedades cualitativas y cuantitativas de materiales que cambian al estar en la escala nanométrica:

- **Tamaño:** las nanopartículas de plata, en suspensión, por debajo de los 5 nm de diámetro son más tóxicas (más reactivas) para las bacterias (Choi & Hu, 2008); de igual manera, las partículas de aluminio también tienden a ser más reactivas al llegar a la escala nanométrica (Sun, Pantoya & Simon, 2006).
- **Morfología:** los nanotubos de carbono (láminas de grafeno enrollados) tienen menor efecto en las células neuronales que el grafeno (lámina de carbono de un átomo de espesor con bordes potencialmente reactivos) a bajas concentraciones: la reactividad de los nanotubos es relativamente baja por carecer de bordes (Zhang, Ali, Dervishi, Xu, Li, Casciano et al, 2010).
- **Espesor:** Las propiedades electrónicas, mecánicas y térmicas del grafeno individual cambian al irse apilando hasta obtener grafito (Klintenberg, Lebegue, Ortiz, Sanyal, Fransson & Eriksson, 2009; Lee, Wei, Kysar & Hone, 2008; Alofi & Srivastava, 2013).
- **Puntos de fusión/ebullición:** estas temperaturas fijas para todos los materiales, bajo ciertas condiciones, varían a escala nanométrica. Por ejemplo, el punto de fusión del oro comienza a variar cuando el diámetro de la partícula es menor a los 15 nm (Koga, Ikeshoji & Sugawara, 2004).

- Propiedades ópticas, electrónicas y magnéticas: el tamaño de las nanopartículas influye en el color de la solución en la que están suspendidas. Concretamente, en partículas de óxido de titanio, el color de la solución cambia de café oscuro a negro azulado conforme el tamaño se disminuye de 300 a 20 nm; asimismo, la interacción electrónica en las moléculas cambia, lo cual repercute en las propiedades electrónicas y magnéticas de las nanoestructuras (Tsujiyamoto, Matsushita, Yu, Yamaura & Uchikoshi, 2015).
- Estado químico superficial: la funcionalización química de la superficie de ciertas nanoestructuras ha permitido que interactúen en ambientes compatibles: desde la síntesis de materiales compuestos (Rahmat & Hubert, 2011) (con grupos funcionales afines a la matriz polimérica) hasta nanoestructuras con compatibilidad biológica para aplicaciones médicas (Tang & Cheng, 2013). Como ejemplo, se puede mencionar el dopaje de nanotubos de carbono con nitrógeno con el objetivo de aumentar la cantidad de defectos en el cristal y permitir el anclaje de distintos grupos químicos funcionales.

Tal variedad de nanoestructuras y posibilidades morfológicas y de funcionalización química está permitiendo aplicaciones tecnológicas en prácticamente todas las áreas de la ciencia y la tecnología. Se han diseñado y desarrollado sensores, dispositivos opto-electrónicos, nanomateriales compuestos, celdas solares, actuadores, agentes antimicrobianos, vías de transporte y liberación de fármacos y nutrientes, agentes anticancerígenos, entre otros muchos (Castle, Gracia-Espino, Nieto-Delgado, Terrones, Terrones & Hussain, 2011; Wujcik & Monty, 2013; Kang, Kadia, Celli., Njuguna, Habibi & Kumar, 2013; Fathi, Mozafari & Mohebbi, 2012; Rodrigues & Emeje, 2012).

3. Tipos de Nanoestructuras

El desarrollo de la nanotecnología ha permitido un mayor análisis sobre la morfología y propiedades de cristales, agregados moleculares, dendrímeros, polímeros en general y también de moléculas (y macromoléculas) sintetizadas por los propios organismos: proteínas, ADN, celulosa, almidón, entre otros. Bajo este enfoque, algunos materiales nanoestructurados tienen un origen biológico y otros han sido sintetizados mediante la naturaleza (bajo las condiciones de un volcán, por ejemplo) o mediante la acción del hombre.

Las nanoestructuras de origen biológico, se metabolizan y aprovechan para formar otras estructuras biológicas; en cambio, las nanoestructuras no biológicas, como las nanopartículas metálicas o de óxidos metálicos, no pueden ser metabolizadas por lo que son desechadas en las heces o absorbidas y retenidas en el tracto gastrointestinal. Algunas de estas nanoestructuras son: fulerenos, nanotubos de carbono (de pared simple, doble y múltiple), nanoestructuras de óxido de zinc, de silicio o de titanio; nanopartículas metálicas (oro, plata, cobre, hierro, cobalto, entre otros); polímeros nanoestructurados (polianilina, polipirrol, poliuretano, poliestireno, entre otros) y dendrímeros (como los formados de poliamidamina, PAMMAM), y nanoarcillas (como los silicatos laminares o filosilicatos).

Por otra parte, además de las nanoestructuras biológicas que conforman órganos y sistemas hay algunas otras que se han armado a partir de estas: como los nanotubos de α -lactoalbúmina, desarrollados por Graveland-Bikker y de Kruif (2006) mediante una proteasa de *Bacillus licheniformis* (Figura 2). Asimismo, se ha aprovechado la estructura del ADN, constituida de nucleótidos y aminoácidos, para desarrollar elaboradas nanoestructuras 2D y 3D que podrían servir para generar una amplia gama de proteínas (Gradisar & Jerala, 2014).

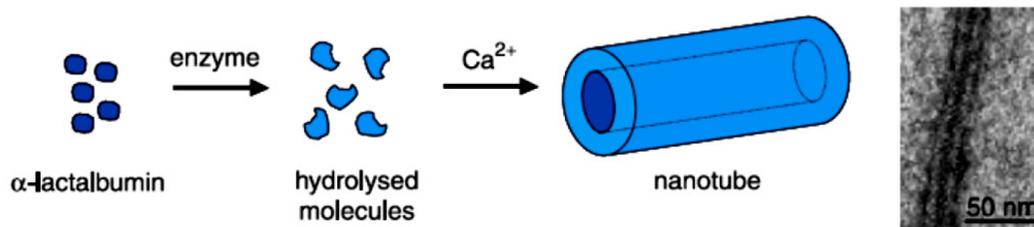


Figura 2. Representación esquemática del autoensamblado de la α -lactoalbúmina en nanotubos en presencia de Ca^{2+} (izquierda). Micrografía de transmisión electrónica de nanotubos de α -lactoalbúmina (derecha) (Graveland-Bikker & de Kruif, 2006)

También se han desarrollado sistemas de nanopartículas metálicas ancladas en biomoléculas (ARN, ADN, polisacáridos, entre otras) para: generar reacciones químicas en cascada; obtener biomoléculas multienzimáticas; ensamblar estructuras híbridas entre biomoléculas y catalizadores ionorgánicos, entre otras aplicaciones (Filice & Palomo, 2014). En el caso de nanoestructuras de origen no biológico, e híbridos, podrían ser biocompatibles solo si se funcionaliza su superficie con grupos funcionales adecuados.

Algunas de las nanoestructuras utilizadas como refuerzo en materiales plásticos, por ejemplo, los empaques de alimentos, podrían emigrar hacia los alimentos mismos y ser ingeridas. Más aún, existe el riesgo de ingerir nanopartículas que intervinieron en cierto proceso de elaboración de alimentos, por ejemplo, nanopartículas de plata proveniente de plata coloidal utilizada como bactericida o nanopartículas de óxido de titanio, utilizadas como aditivos en colorantes de alimentos (Trouiller, Reliene, Westbrook, Solaimani & Schiestl, 2009; Weir, Westerhoff, Fabricius, Hristovski & von Goetz, 2012).

4. Nanoestructuras Potencialmente Ingeribles

Diferentes tipos de nanoestructuras en la actualidad están presentes en pigmentos, pinturas, colorantes de alimentos, cosméticos, cremas corporales y protectores solares (Trouiller et al., 2009, Weir et al., 2012), también en bactericidas (coloides de plata, oro), en termoplásticos de diversa aplicación, y empaques de alimentos (Chaudry, Scotter, Blackburn, Ross, Boxall, Castle et al., 2008).

Estas nanopartículas pueden ser inhaladas, absorbidas por la piel o ingeridas (Bergin & Witzmann, 2013). Para los fines de este capítulo, solamente se revisarán algunos estudios de toxicidad que tienen que ver con la ingesta de nanoestructuras.

Como se ha visto, es posible que muchos de los alimentos procesados y empacados que se ofrecen al consumidor en los anaqueles de mercados posiblemente contengan nanopartículas que se incorporaron en su proceso de elaboración o porque emigraron hacia ellos de los empaques que los protegen.

Como ejemplo del primer caso, se han utilizado nanopartículas de óxido de titanio (TiO_2) como aditivo de colorantes para la cubierta dura de gomas de mascar y dulces (Weir et al., 2012). Sin duda, las nanopartículas que se emplearon para dar color a estos alimentos fueron a dar al tracto gastrointestinal de quienes los consumieron.

El segundo caso ocurre porque se ha buscado reforzar las películas poliméricas que sirven de empaque a ciertos alimentos con nanopartículas. Por ejemplo, las nanoarcillas permiten que las películas poliméricas sean más impermeables al flujo de ciertos gases no deseados (como el oxígeno del aire o el vapor de agua) que podrían estropear la textura, color y sabor de los alimentos. Además de las nanoarcillas, las propiedades bactericidas de las nanopartículas de plata, las hacen idóneas para recubrir las caras internas de los empaques al combatir el crecimiento de microorganismos. Por lo tanto, existe la posibilidad de que algunas nanoarcillas o nanopartículas emigren a los alimentos (Metak, Nabhani & Connolly, 2015).

Los polímeros que se han empleado para el mejoramiento de las propiedades de barrera, mediante materiales compuestos, han sido el tereftalato de polietileno (PET, por sus siglas en inglés) y el poliestireno. También se han empleado biopolímeros (aunque sus propiedades de barrera aún son bajas). Los refuerzos más utilizados han sido nanoarcillas, nanocristales de celulosa y nanopartículas de plata (Mihindukulasuriya & Lim, 2014).

Así como la aplicación de sistemas nanoestructurados en la industria alimentaria está en aumento en la actualidad, así se ha elevado el temor de la sociedad sobre estas tecnologías: el solo hecho de pensar que se está introduciendo dentro del organismo material nanoestructurado con una nomenclatura técnica y rebuscada podría ser una genuina causa de alarma. Como veremos en la siguiente sección, no hay por qué preocuparse tanto aunque sí es fundamental realizar más estudios toxicológicos y sobre todo, es necesario divulgar los resultados hacia la sociedad.

5. Tracto Gastrointestinal

El tracto gastrointestinal humano es una barrera selectiva mucosa con un área superficial de unos 200 m² en un adulto, capaz de interactuar con nanoestructuras ingeridas. Cada zona del tracto gastrointestinal lleva a cabo funciones digestivas, de absorción, secreción y protección. Las nanopartículas dentro del tracto gastrointestinal podrían ser absorbidas en algunas zonas y migrar así al torrente sanguíneo, y en consecuencia, a otros órganos, o también interactuar localmente con la capa mucosa y el microbioma. Esta interacción podría acarrear problemas fisiológicos, metabólicos e inmunológicos (Hansson, 2012; Young, 2012).

Todas las zonas del tracto gastrointestinal están protegidas por el tejido epitelial y por una capa mucosa de espesor y composición variables, que es producida por las células epiteliales.

En el estómago, la digestión de proteínas comienza por la actividad de la proteasa pepsina. Su activación depende de la secreción de ácido clorhídrico de las

células parietales junto con el epitelio mucoso. El pH gástrico en el estómago humano varía de 1.2-2.0 en el estado de ayuno a 5.0 con el bolo alimenticio, luego, se produce una reacidificación gradual (McConnell, Basit & Murdan, 2008).

En el intestino delgado ocurre una elevada digestión y absorción de nutrientes: carbohidratos, péptidos y grasas; también tiene funciones inmunológicas de protección. El pH del duodeno se ubica entre 6-7 en humanos (Evans, Pye, Bramley, Clark, Dyson & Hardcastle, 1988). La cavidad intestinal es muy compleja: la absorción es facilitada por el incremento del área superficial (pliegues elongados) ocasionada por los enterocitos (o células absorbentes). Cada uno tiene bordes en forma de cepillo, lo cual incrementa el área superficial total.

La capa de mucosa es producida por células caliciformes especializadas en secreción de mucosa. Esta contiene mucopolisacáridos y glicoproteínas que generan una barrera física a las bacterias laminales, previniendo que alcancen la superficie de los enterocitos.

En el intestino delgado, la membrana mucosa también contiene enzimas para la digestión de carbohidratos y emulsión de grasas que permiten la absorción de nutrientes. Mientras que en el intestino delgado superior se absorbe una mayor cantidad de nutrientes, en el intestino delgado distal y colon se favorece la absorción de agua, vitamina B y ácidos grasos (Kararli, 1995).

Además de las funciones innatas, el tracto gastrointestinal posee regiones del sistema inmune en forma de tejido linfático. En el intestino delgado, estas regiones reciben el nombre de placas de Peyer (folículos linfáticos agregados) y son más numerosos en el íleo, la porción terminal del intestino delgado (Mason, Huffnagle, Noverr & Kao, 2008). También la región del ciego (unión entre los intestinos grueso y delgado) tiene sitios inmunológicos activos.

Las funciones del tracto gastrointestinal se facilitan por la actividad simbiótica de microbios la cual es muy alta en el ciego y colon. El microbioma en humanos adultos se ha estimado en 1 kg y consiste de más de 5000 especies de bacterias (Manson, Rauch & Gilmore, 2008; Hansson, 2012; Zoetendal, Collier, Koike, Mackie & Gaskins, 2004); la mayoría de las especies pertenecen a la categoría Bacteroidetes y Firmicutes. Más del 50% de las bacterias intestinales no pueden cultivarse. Estos organismos juegan un rol crítico en la

digestión normal y en las funciones inmunológicas del tracto. Esto incluye la conjugación de ácidos de la bilis, regulación de la salud de los enterocitos mediante la producción de ácido butírico graso de corta cadena, producción de vitaminas B₁₂ y K, y la maduración del sistema inmune (Manson et al., 2008; Young, 2012; Mason et al., 2008).

Asimismo, el microbioma ocupa un lugar que en otras condiciones, sería ocupado por especies patógenas (Walk & Young, 2008). Si llegara a alterarse el microbioma, el riesgo de cáncer podría incrementarse (Canani, Costanzo, Leone, Pedata, Meli & Calignano, 2011) con un consiguiente desequilibrio xenometabólico (Clayton, Baker, Lindon, Everett & Nicholson, 2009).

6. Toxicidad de las Nanoestructuras en el Organismo

Cuando ciertas nanopartículas rebasan cierto umbral de concentración dentro del organismo, comienzan a ser tóxicas. Además, se debe tomar en cuenta sus características como, tipo de nanoestructura, tamaño, funcionalización química, entre otras.

6.1. Nanoestructuras en el Tracto Gastrointestinal

Para estudiar el impacto y toxicidad de las nanoestructuras al ser ingeridas se deben tomar en cuenta todas sus características fisicoquímicas: tamaño, área superficial, número de partículas, estado de aglomeración/agregación, carga eléctrica, funcionalización química y recubrimiento, ya que estas podrían tener un impacto biológico (Oberdörster, Oberdörster & Oberdörster, 2005; Abbott & Maynard, 2010).

Aún no se cuenta con un consenso sobre la toxicidad de nanopartículas estudiadas *in vivo*; sin embargo, las guías Animal Research: Reporting *In Vivo* Experiments (ARRIVE) y la sección correspondiente de Metabolomics Standards Initiative han recopilado y estandarizado los metadatos disponibles.

La migración de ciertas nanopartículas a través de la barrera intestinal consiste de varios pasos: difusión en la capa mucosa, el contacto con los

enterocitos o las células M (enterocitos especializados en la captación de antígenos lumenales) y un posible transporte celular (o paracelular). El camino más común de las nanopartículas mediante las células epiteliales parece ser la endocitosis (proceso en el cual la célula engulle moléculas grandes o partículas) (Frohlich & Roblegg, 2012). Esto último se ha demostrado con nanopartículas de poliestireno, las cuales han sido transportadas mediante células M (des Rieux, Fievez, Théate, Mast, Prétat & Schneider, 2007). El tamaño de la nanoestructura influencia la absorción: se han obtenido mayores absorciones con nanopartículas pequeñas de aproximadamente 50 nm (Jani, Halbert, Langridge & Florence, 1990).

La estabilidad de las nanopartículas en cuando a su dilución y consiguiente liberación de iones potencialmente tóxicos depende del pH del fluido donde están inmersas, la duración de su permanencia en el fluido y su composición (Xie, Williams, Tolic, Chrisler, Teegarden, Maddux et al., 2012). El nivel de pH depende de las regiones gastrointestinales. Este podría alterar la agregación o aglomeración de las nanoestructuras y alterar se superficie química (Peters, Kramer, Oomen, Herrera-Rivera, Oegema, Tromp et al., 2012). El conocimiento sobre los parámetros de disolución en los fluidos gastrointestinales podría ayudar a predecir el transporte de nanopartículas y su consiguiente concentración en la sangre.

El grupo de Walczak, Fokkink, Peters, Tromp, Herrera-Rivera, Rietjens, et al. (2013) utilizó un modelo digestivo humano *in vitro* para demostrar que después de la digestión gástrica, el número de nanopartículas de plata de 60 nm decrece debido a que se aglomeran por la interacción con iones Cl^- ; sin embargo, el número se incrementó otra vez cuando estuvieron bajo condiciones intestinales. Por otra parte, el grupo de Peters et al. (2012) encontró hallazgos similares con nanopartículas de óxido de silicio (SiO_2) en alimentos utilizando un modelo de disolución *in vitro*. El estudio se comenzó en condiciones que emulan la cavidad oral, después, cuando el pH disminuyó y el número de electrolitos aumentó (como sucede en el compartimento gástrico) se aglomeraron. Al final, bajo un pH intestinal, las nanopartículas

reaparecieron de nuevo. Por lo tanto, es probable que en el epitelio de absorción intestinal se puedan encontrar nanopartículas.

6.1.1. Interacción de la Mucosa Intestinal con Ciertas Nanoestructuras

La mucosa intestinal es una compleja red de glicoproteínas, lípidos, células y macromoléculas de suero (anticuerpos); es la primera barrera que las nanopartículas se encuentran (Crater & Carrier, 2010). La carga eléctrica superficial puede ser crucial para que sea atravesada (Frohlich & Roblegg, 2012). Una red neutral o con carga eléctrica superficial positiva podría prevenir la mucoadhesión: favorece así la penetración; en tanto que el paso de compuestos hidrofílicos (o lipofílicos) cargados negativamente, es impedido. Se ha evidenciado además que las nanopartículas pequeñas penetran la capa mucosa con mayor facilidad que las grandes.

Por otra parte, Jachak, Lai, Hida, Suk, Markovic, Biswal et al. (2012) encontraron que las partículas de óxido metálico y dos tipos de nanotubos de carbono de capa simple se adherían en la capa de mucosa humana por interacciones no estéricas (es decir, no por la interacción química con grupos funcionales). En contraste, nanopartículas de óxido de Zinc lograron penetrar rápidamente la capa, lo cual podría explicar la toxicidad general del ZnO.

6.1.2. Corona Proteínica en las Nanopartículas

Si las nanopartículas permanecen en el tracto intestinal, es usual que desarrollen una “corona” de: proteínas adsorbidas, pequeñas moléculas e iones en su superficie (Figura 3) (Cedervall, Lynch, Lindman, Berggård, Thulin, Nilsson, et al., 2007; Faunce, White & Matthaei, 2008; Lundqvist, Stigler, Elia, Lynch, Cedervall & Dawson, 2008). La formación de esta estructura podría “secuestrar” nutrientes y generar una entidad biológica activa que podría interferir en los estudios *in vivo* (Lynch, Cedervall, Lundqvist, Cabaleiro-Lago, Linse & Dawson, 2007; Monopoli, Walczyk, Campbell, Elia, Lynch, Baldelli-Bombelli et al., 2011). En algunos casos la corona disminuye la toxicidad de las nanopartículas al impedir que se trasladen a otras regiones

(Jiang, Weise, Hafner, Röcker, Zhang, Parak et al., 2010; Casals, Pfaller, Duschl, Oostingh & Puentes, 2011). En un estudio de nanopartículas de poliestireno, Zhang, Burnum, Luna, Petritis, Kim, Qian et al. (2011) fueron capaces de clasificarlas con respecto a su corona proteínica basados en el tamaño y propiedades de la superficie.

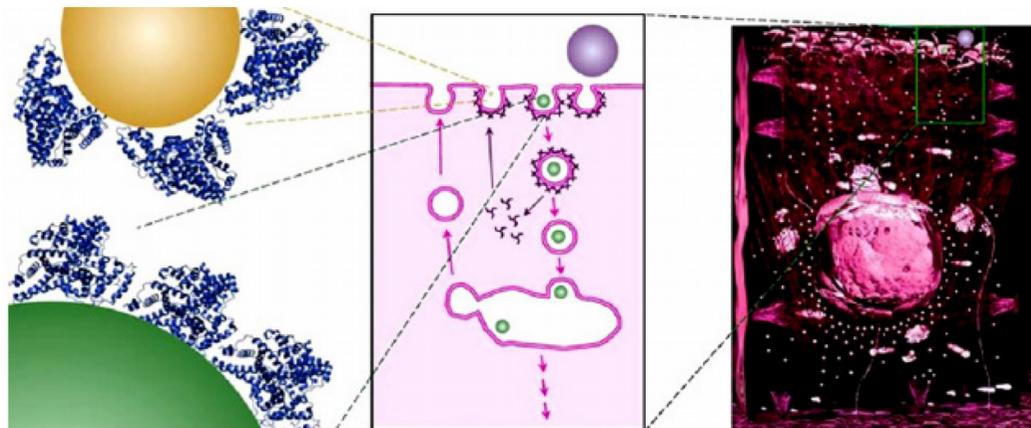


Figura 3. Endocitosis mediada por receptor: nanopartículas recubiertas por una corona de proteína (Cedervall et al., 2007)

6.1.3. Efectos Genéticos de las Nanopartículas en el Tracto Gastrointestinal

Bouwmeester, Poortman, Peters, Wijma, Kramer, Makama et al. (2011) investigaron el efecto de nanopartículas de plata (Ag) en la expresión del genoma. Utilizaron un cocultivo único de células Caco-2 (células adenocarcinoides colorectales heterogéneas humanas) y células M. No observaron citotoxicidad; sin embargo, 97 genes resultaron con sobre-regulación (incremento de los componentes celulares) en un solo tratamiento debido al estrés oxidativo, a la apoptosis, al no desdoblamiento en la respuesta proteínica y al estrés del retículo endoplasmático. Ningún gen mostró infra-regulación. Los autores concluyeron que la exposición a nanopartículas de Ag resultó en un estrés generalizado debido más a los iones Ag^+ que a las nanopartículas.

En otro estudio, Moos, Chung, Woessner, Honegger, Shane-Cutler y Veranth (2010), estudiaron nanopartículas de SiO₂, Fe₂O₃, ZnO y TiO₂ en RKO (línea de células de cáncer de colon) y células Caco-2 en monocapa utilizando microarreglos de oligonucleótidos del genoma humano completo. Sólo el ZnO fue significativamente citotóxico generando una supra-regulación de genes relacionados con el desdoblamiento proteínico y respuestas de estrés.

6.2. Efectos Particulares de algunas Nanoestructuras en el Organismo

Aunque el número de nanopartículas potencialmente ingeribles es alto, solo se han realizado estudios de toxicidad con algunas de las más comunes: plata, cobre, óxido de silicio, óxido de titanio, nanotubos de carbono, dendrímeros poliméricos, entre otras. Se espera que pronto se profundice en los efectos de estas nanoestructuras en el organismo humano y se incluyan otras nanoestructuras.

6.2.1. Nanopartículas de Plata

Las sales de Ag y las suspensiones coloidales fueron utilizadas para combatir infecciones antes del desarrollo de los modernos antibióticos (Varner, El-Badawy, Feldhake & Venkatapathy, 2010). Con la resistencia a los antibióticos que ahora muestran las bacterias, el interés ha resurgido (Drake & Hazelwood, 2005). La plata coloidal generalmente consiste de partículas de tamaño que oscila entre los 250-300 nm, pero que están conformados de partículas más pequeñas (<100 nm) (Varner et al., 2010). La biodisponibilidad de la plata coloidal se ha estimado en un 10 %, con retención de <2-3% en los tejidos del cuerpo. La eliminación de la mayoría del material es por defecación (Armitage, White & Wilson, 1996; Drake & Hazelwood, 2005).

Los efectos de una ingesta alta de Ag se observan en un padecimiento denominado argiria, que ocasiona una pigmentación azul grisácea en la piel; se asocia con la absorción de Ag soluble y su reducción y por tanto,

precipitación en la piel y tejido conectivo. La argiriosis es similar pero ocurre en los tejidos oculares. La argiria se ha asociado con una dosis de retención entre 1-8 g de Ag en los tejidos (Varner et al., 2010). La más baja dosis asociada con la argiria es de 0.014 mg/kg/día (CASRN 1988). Al parecer, este problema es más estético que de salud, ya que no ocasiona daños importantes.

Aún no hay estudios de toxicidad *in vivo* en humanos, por lo que se han realizado investigaciones sobre la distribución de nanopartículas de Ag en tejidos de ratas y cerdos (Kim, Kim, Cho, Rha, Kim, Park et al., 2008; Park, Bae, Yi, Kim, Choi, Lee et al., 2010; Loeschner, Hadrup, Klaus-Qvortrup, Larsen, Gao, Vogel et al., 2011). No se ha podido distinguir la diferencia entre la Ag y nanopartículas de Ag en los tejidos.

Con respecto a la distribución de la Ag en el organismo de la rata, Jeong, Kim y Loeschner encontraron Ag en la lámina propia de la mucosa intestinal y a lo largo de la superficie del intestino delgado (Jeong, Jo, Ryu, Kim, Song & Yu, 2010; Kim, Song, Park, Song, Ryu, Chung et al., 2010; Loechsner et al., 2011). Así, una parte de Ag absorbida por los enterocitos permaneció en el tejido submucoso del intestino y nunca alcanzó la circulación sistémica ni los órganos viscerales. La distribución de nanopartículas de Ag fue muy baja en todos los tejidos fuera del tracto intestinal: la distribución y biodisponibilidad de nanopartículas de Ag ingeridas fue baja, por lo tanto, las nanopartículas son menos biodisponibles que la Ag iónica. Efectos adversos debido a las dosis orales de las nanopartículas de Ag fueron bajos. Solo fueron evidentes arriba de los 125 mg/kg.

6.2.2. Nanopartículas de Oro

En la actualidad, las nanopartículas de oro (Au) se utilizan en aplicaciones médicas: terapias antiinflamatorias y también en el transporte y liberación de fármacos (Khlebtsov & Dykman, 2011).

Los estudios de toxicidad *in vivo* de las nanopartículas de Au también se han llevado a cabo en animales. El grupo de Hillyer y Albrecht (2001) evaluó la distribución e identificación de nanopartículas de Au en el cuerpo de ratas, quienes ingirieron 200 µg/mL en el agua de beber por siete días. Las

partículas fueron visualizadas por microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) y se cuantificaron por espectroscopía de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS, por sus siglas en inglés) para determinar su distribución. Las más pequeñas (4 nm) fueron retenidas en mayor cantidad que las grandes (58 nm) que ni siquiera fueron detectadas. Las nanopartículas de 4 nm se encontraron en mayor cantidad en los riñones, las de 10 nm en el estómago y las de 28 nm en el estómago e intestino delgado. Esto sugiere que las partículas más pequeñas fueron capaces de atravesar la capa mucosa mientras que las mayores quedaron atrapadas en la mucosa o en las paredes intestinales.

6.2.3. Nanopartículas de Óxido de Titanio

Las nanopartículas de óxido de titanio (TiO₂) son componentes de pigmentos en cosméticos, protectores solares, pinturas, plásticos y colorantes de alimentos (Trouiller et al., 2009; Weir et al., 2012). Con excepción de los alimentos, estos productos podrían liberar nanopartículas y ser ingeridas. La evidencia experimental de carcinogenicidad en ratas han colocado al TiO₂ en la categoría 2B (posible carcinógeno para humanos) aunque aún falta obtener evidencia epidemiológica (Trouiller et al., 2009; Weir et al., 2012).

El TiO₂ puede estar en tres estructuras cristalinas: rutilo (forma tetragonal distorsionada), anatasa (forma tetragonal) y brookita (forma ortorrómbica). La anatasa ha resultado ser mucho más tóxico que el rutilo (Weir et al., 2012).

Algunas estimaciones de exposición al TiO₂ están por debajo de 0.035 mg/kg/día (Fröhlich & Roblegg, 2012). Otros han obtenido estimaciones más altas, como el grupo de Weir el cual estimó 1-2 mg/kg/día (niños) y 0.2-0.7 mg/kg/día (adultos) debido a la presencia del TiO₂ en las cubiertas rígidas de gomas de mascar y dulces en Estados Unidos (Weir et al., 2012). En cuanto a los estudios de toxicidad por la ingesta de nanopartículas de TiO₂, solo pocos han considerado la contribución de la forma anatasa del TiO₂ en las dosis suministradas.

El grupo de Gui, Zhang, Zheng, Cui, Liu, Li et al. (2011) suministró en forma oral bajas dosis de nanopartículas de TiO_2 (2.5-50 mg/kg) a ratones durante 60-90 días, los cuales al transcurrir el estudio sufrieron acumulación de nanopartículas en los riñones. El grupo de Cui, Liu, Zhou, Duan, Li, Gong et al. (2011), ante un estudio similar observaron acumulación en el hígado y una elevación de citoquinas (proteínas que regulan interacciones de las células con el sistema inmune) pro-inflamatorias. En otro estudio, se evaluó alteraciones metabólicas urinarias y de suero en ratas tratadas con dosis de nanopartículas de <50 nm a 1000 mg/kg (Bu, Yan, Deng, Peng, Lin, Xu et al., 2010). Se detectaron alteraciones metabólicas serias así como daños en el microbioma.

6.2.4. Nanopartículas de Óxido de Silicio

El óxido de silicio es un compuesto de silicio y oxígeno llamado comúnmente sílice. La sílice grado alimento es amorfa (pirogénica, gel, sol, precipitado) y es utilizada como aditivo para aclarar bebidas alcohólicas o como agente antiapelmazante (“anticaking”) (Dekkers, Bouwmeester, Bos, Peters, Rietveld & Oomen, 2012). Asimismo, las nanopartículas de SiO_2 han sido propuestas como conjugados de drogas para mejorar la eficiencia en la liberación de sustancias activas, particularmente, enfocado hacia la inflamación intestinal (Moulari, Pertuit, Pellequer & Lamprecht, 2008).

En general, la síntesis de la sílice u óxido de silicio (SiO_2) comienza con partículas (10-100 nm) que se agregan o aglomeran para desarrollar partículas de mayor tamaño.

Hasta el momento no se han realizado los suficientes estudios *in vivo* sobre la toxicidad de la ingesta de nanopartículas de SiO_2 . Dekkers et al. (2012) han utilizado información de estudios previos y han extrapolado la información de los estudios de la sílice amorfa para sugerir que menos del 1% de la sílice suministrada se recupera de los tejidos.

6.2.5. Nanopartículas de Cobre

De manera similar a las nanopartículas de Ag, las nanopartículas de cobre (Cu) han mostrado eficacia como agente antimicrobial *in vivo*, y ha sido propuesto como alternativa antibiótica. Las nanopartículas de Cu son producidas como aditivos industriales para lubricantes, plásticos y cubiertas metálicas, tintas y partes de ánodos de baterías de litio (Chen, Meng, Xing, Chen, Zhao, Jia et al., 2006).

Sobre los estudios de toxicidad de nanopartículas de Cu, Chen et al. (2006) realizaron estudios con ratas a las que se les suministró de forma oral nanopartículas de 23.5 nm. La dosis media letal (LD₅₀) de las nanopartículas de Cu fue de 413 mg/kg; también utilizaron micropartículas de Cu (17 µm) con una dos dosis de 5610 mg/kg, y 110 mg/kg de Cu iónico (proveniente del compuesto CuCl₂). Los resultados asociados a las nanopartículas de cobre fueron similares a aquellos provocados por intoxicación convencional de Cu en mamíferos, esto es, necrosis renal tubular acompañada por una pigmentación de café oscuro a negro. Estos resultados indican que el Cu iónico y las nanopartículas de Cu son más biodisponibles y tienen los mismos efectos adversos.

6.2.6. Puntos Cuánticos

Los puntos cuánticos (QD, quantum dots en inglés) consisten de un núcleo cristalino de metales o complejos metálicos rodeados por una capa protectora que puede ser biocompatible. Actualmente están siendo utilizados con fines de investigación para la generación de bioimágenes y desarrollo de transportadores liberadores de fármacos (Mohs, Duan, Kairdolf, Smith & Nie, 2009).

6.2.7. Nanoestructuras de Carbono

En cuanto a los materiales basados en carbono, los nanotubos han tenido múltiples aplicaciones en áreas como: electrónica, tecnología aeroespacial, computación, ciencia de materiales. También se están desarrollando

acarreadores y liberadores de drogas (Bianco, Kostarelos & Prato, 2005; Lam, James, McCluskey, Arepalli & Hunter, 2006). Asimismo, los nanotubos de carbono han sido propuestos para el desarrollo de terapias antimicrobianas y antiparasitarias mediante ingesta oral (Prajapi, Awasthi, Yadav, Rai, Srivastava & Sundar, 2011). La funcionalización química de los nanotubos de carbono incrementa su solubilidad, decreciendo las manifestaciones citotóxicas (Lam et al., 2006). Cabe mencionar un estudio en el que se anclaron nanopartículas de plata en la superficie de nanotubos de carbono multicapa dopados con nitrógeno, lo cual permitió reducir significativamente la toxicidad de los nanotubos al interactuar con queratinocitos humanos, línea celular HaCat (Castle et al., 2011).

En estudios de inhalación y cultivo de células, los nanotubos de carbono han sido asociados a problemas de inflamación granulomatosa, daño oxidativo y mutagenicidad. Con respecto a la ingesta de estos materiales, se han realizado evaluaciones en ratas. Particularmente, en la investigación de Lim, Kim, Lee, Moon, Kim, Shin y Kim (2011) se suministró dosis de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs, 10-15 nm de diámetro por 20 μ m de longitud) a ratas en gestación (días 6-19). Se determinó el índice de toxicidad NOAEL (por sus siglas en inglés no-observed adverse effect level) en 200 mg/kg/día. No se observaron anomalías en los parámetros reproductivos (malformaciones, resorción fetal, entre otras) y no se encontraron marcadores reproductivos alterados en la orina.

En contraste, al suministrar oralmente nanotubos de carbono de pared simple (SWCNTs, 1-2 nm de diámetro por 5-30 μ m de longitud) funcionalizados con grupos hidroxilo a ratas en el noveno día de gestación se hallaron marcadores reproductivos alterados: la resorción fetal se incrementó y se observaron anomalías oculares y en el esqueleto (Philbrook, Walker, Nabiul-Afrooz, Saleh & Winn, 2011). En este mismo estudio, no se encontraron efectos adversos en los parámetros reproductivos al incrementar la dosis de SWCNTs 100 mg/kg. La posible respuesta a esta anomalía es que a mayores concentraciones los nanotubos se agregan o aglomeran más en el intestino, impidiendo así su absorción.

Por otra parte, en otro estudio no se encontró mutagenicidad en ratas con dosis de 50 mg/kg de SWCNTs o MWCNTs (Szendi & Varga, 2008). Tampoco se encontró toxicidad al suministrar dosis muy altas de 1000 mg/kg de SWCNTs ratas (Kolosnjaj-Tabi, Hartman, Boudjemaa, Ananta, Morgant, Szwarc et al., 2010). Estos estudios sugieren que la absorción oral de nanopartículas de carbono es facilitada a bajas dosis; con una longitud corta de nanotubos, y con una funcionalización química superficial.

La agregación o aglomeración de las nanoestructuras de carbono depende de la funcionalización química, transporte de nanopartículas, tipo de nanomaterial y concentración, así como de las condiciones del tracto gastrointestinal: pH, ingesta, microbiota, entre otras.

6.2.8. Nanoestructuras de Polímeros y Dendrímeros

En cuanto a las nanopartículas de polímeros y dendrímeros, estos últimos tienen el potencial de poder acarrear y liberar fármacos en distintas zonas del tracto gastrointestinal (Patri, Majoros & Baker, 2002; Malik, Goyal, Zakir & Vyas, 2011). Últimamente ha habido numerosos estudios acerca de la factibilidad de los dendrímeros para transportar y liberar fármacos (Malik et al., 2011; El-Ansary & Al-Daihan, 2009). El problema es que se han enfocado más en la eficacia de estos sistemas que en su toxicidad intrínseca. De cualquier manera, la toxicidad de estas nanoestructuras es relativamente baja puesto que gran parte de ellas se diseñaron para aplicaciones médicas. Aún así es necesario hacer más estudios (DeJong & Borm, 2008).

Hace algunos años, en un estudio llevado a cabo por Wiwattanapatapee, Carreño-Gomez, Malik y Duncan (2000) se extrajo el intestino de una rata para estudiar el efecto de dendrímeros PAMAM (poliamidamina) aniónicos: estos tuvieron una rápida absorción. Se encontró una correlación entre un mayor diámetro molecular del dendrímero y la facilidad de absorción. En contraste, los dendrímeros PAMAM catiónicos tuvieron una baja absorción debido a que se adhirieron a las membranas celulares cargadas negativamente del epitelio (Wiwattanapatapee et al., 2000).

No está de más mencionar que se está realizando investigación para desarrollar nanosistemas lipídicos: nanoemulsiones, nanopartículas de lípido sólido, micelas; y no lipídicos: micelas de proteína y nanoemulsiones, que podrían proteger nutrientes como vitaminas, curcumina y ácidos grasos encapsulándolos y aislándolos del ambiente desfavorable en el tracto digestivo para un posterior y mejor aprovechamiento (Yao, McElements & Xiao, 2015).

7. Conclusiones

La nanociencia y la nanotecnología son campos fascinantes que están impactando en forma notable la vida diaria. Conocer con relativa profundidad sobre nanoestructuras que interactúan con nosotros en productos como, protectores solares, plásticos, talcos, y alimentos, es imperativo conocer su nivel de toxicidad.

Particularmente en la ingesta de nanoestructuras, aún falta que se realice más investigación en las estructuras que se han estudiado hasta el momento y es necesario incluir algunas otras con potencialidad de ser absorbidas y acumuladas en el organismo. Asimismo, es importante que se realice una mayor divulgación científica sobre los resultados que se han obtenido: solo así, se tendrá la confianza suficiente en los productos comerciales que actualmente utilizan la nanotecnología.

Referencias

- Abbott, L.C., & Maynard, A.D. (2010). Exposure assessment approaches for engineered nanomaterials. *Risk Analysis*, 30(11), 1634-1644.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1539-6924.2010.01446.x>
- Alofi, A., & Srivastava G.P. (2013). Thermal conductivity of graphene and graphite. *Phys. Rev. B*, 87, 115421.
<http://dx.doi.org/10.1103/physrevb.87.115421>
- Armitage, S.A., White, M.A., & Wilson, H.K. (1996). The determination of silver in whole blood and its application to biological monitoring of occupationally exposed groups. *Annals of Occupational Hygiene*, 40(3), 331-338.
<http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/40.3.331>
- Baum, R. (1997). Fullerenes gain nobel stature. Discovery of C_{60} and its relatives in 1985 reshaped chemists' understanding of the fundamental properties of carbon. *Chemical & Engineering News*. 6 de Enero. Disponible en:
<http://pubs.acs.org/cen/hotarticles/cenear/970106/full.html> (Fecha último acceso: Septiembre 2015)
<http://dx.doi.org/10.1021/cen-v075n001.p029>
- Bergin, I.L., & Witzmann, F.A. (2013). Nanoparticle toxicity by the gastrointestinal route: evidence and knowledge gaps. *Int. J. Biomedical Nanoscience and Nanotechnology*, 3(1-2), 163-210.
<http://dx.doi.org/10.1504/IJBNN.2013.054515>
- Bianco, A., Kostarelos, K., & Prato, M. (2005). Applications of carbon nanotubes in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 9(6), 674-679.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.10.005>
- Bouwmeester, H., Poortman, J., Peters, R.J., Wijma, E., Kramer, E., Makama, S. et al. (2011). Characterization of translocation of silver nanoparticles and effects on whole-genome gene expression using an *in vitro* intestinal epithelium coculture model. *ACS Nano*, 5(5), 4091-4103.
<http://dx.doi.org/10.1021/nn2007145>
- Bu, Q., Yan, G., Deng, P., Peng, F., Lin, H., Xu, Y. et al. (2010). NMR-based metabonomic study of the sub-acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles in rats after oral administration. *Nanotechnology*, 21(12), 125105.
<http://dx.doi.org/10.1088/0957-4484/21/12/125105>
- Canani, R.B., Costanzo, M.D., Leone, L., Pedata, M., Meli, R., & Calignano, A. (2011). Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol*, 17(12), 1519-1528.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v17.i12.1519>
- Casals, E., Pfaller, T., Duschl, A., Oostingh, G.J., & Puntès, V.F. (2011) Hardening of the nanoparticle-protein corona in metal (Au, Ag) and oxide (Fe_3O_4 , CoO , and CeO_2) nanoparticles. *Small*, 7(24), 3479-3486.
<http://dx.doi.org/10.1002/sml.201101511>

Castle, A.B., Gracia-Espino, E., Nieto-Delgado, E., Terrones, H., Terrones, M., & Hussain, S. (2011) Hydroxyl-functionalized and N-doped multiwalled carbon nanotubes decorated with silver nanoparticles preserve cellular function. *ACS Nano*, 5(4), 2458-2466.

<http://dx.doi.org/10.1021/nn200178c>

Cedervall, T., Lynch, I., Lindman, S., Berggård, T., Thulin, E., Nilsson, H. et al. (2007) Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(7), 2050-2055.

<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0608582104>

Chaudry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L. et al. (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 25(3), 241-258.

<http://dx.doi.org/10.1080/02652030701744538>

Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G. et al. (2006). Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*. *Toxicology Letters*, 163(2), 109-120.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.10.003>

Choi, O., & Hu, Z. (2008). Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environ. Sci. Technol.*, 42(12), 4583-4588.

<http://dx.doi.org/10.1021/es703238h>

Clayton, T.A., Baker, D., Lindon, J.C., Everett, J.R., & Nicholson, J.K. (2009). Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(34), 14728-14733.

<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0904489106>

Crater, J.S., & Carrier, R.L. (2010). Barrier properties of gastrointestinal mucus to nanoparticle transport. *Macromol. Biosci.*, 10(12), 1473-1483.

<http://dx.doi.org/10.1002/mabi.201000137>

Cui, Y., Liu, H., Zhou, M., Duan, Y., Li, N., Gong, X. et al. (2011). Signaling pathway of inflammatory responses in the mouse liver caused by TiO₂ nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 96(1), 221-229.

<http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.32976>

DeJong, W.H., & Borm, P.J.A. (2008). Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *International Journal of Nanomedicine*, 3(2), 133-149.

<http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S596>

Dekkers, S., Bouwmeester, H., Bos, P.M., Peters, R.J., Rietveld, A.G., & Oomen, A.G. (2012). Knowledge gaps in risk assessment of nanosilica in food: evaluation of the dissolution and toxicity of different forms of silica. *Nanotoxicology Early Online*.

- des Rieux, A., Fievez, V., Théate, I., Mast, J., Pr at, V., & Schneider, Y.-J. (2007). An improved *in vitro* model of human intestinal follicle associated epithelium to study nanoparticle transport by M cells. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30(5), 380-391.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2006.12.006>
- Drake, P.L., & Hazelwood, K.J. (2005). Exposure-related health effects of silver and silver compounds: a review. *Annals of Occupational Hygiene*, 49(7), 575-585.
<http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/mei019>
- Drexler, K.E. (1986). *Engines of creation: the coming era of nanotechnology*. Anchor Books.
- El-Ansary, A., & Al-Daihan, S. (2009). On the toxicity of therapeutically used nanoparticles: an overview. *J. Toxicol.*, 754810.
<http://dx.doi.org/10.1155/2009/754810>
- Evans, D.F., Pye, G., Bramley, R., Clark, A.G., Dyson, T.J., & Hardcastle, J.D. (1988). Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects. *Gut.*, 29(8), 1035-1041.
<http://dx.doi.org/10.1136/gut.29.8.1035>
- Fathi, M., Mozafari, M.R., & Mohebbi, M. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid-based delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 23, 13-27.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.003>
- Faunce, T.A., White, J., & Matthaiei, K.I. (2008). Integrated research into the nanoparticle-protein corona: a new focus for safe, sustainable and equitable development of nanomedicines. *Nanomedicine (Lond)*, 3(6), 859-866.
<http://dx.doi.org/10.2217/17435889.3.6.859>
- Filice, M., & Palomo, J.M. (2014). Cascade reactions catalyzed by bionanostructures. *ACS Catalysis*, 4, 1588-1598.
<http://dx.doi.org/10.1021/cs401005y>
- Frohlich, E., & Roblegg, E. (2012). Models for oral uptake of nanoparticles in consumer products. *Toxicology*, 291(1-3), 10-17.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2011.11.004>
- Gradisar, H., & Jerala, R. (2014). Self-assembled bionanostructures: proteins followings the lead of DNA nanostructures. *J. of Nanobiotechnology*, 12(4).
<http://dx.doi.org/10.1186/1477-3155-12-4>
- Graveland-Bikker, J.F., & de Kruif, C.G. (2006). Unique milk protein based nanotubes: Food and nanotechnology meet. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 196-203.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.009>
- Gui, S., Zhang, Z., Zheng, L., Cui, Y., Liu, X., Li, N. et al. (2011). Molecular mechanism of kidney injury of mice caused by exposure to titanium dioxide nanoparticle. *J. Hazard Mater.*, 195, 365-370.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.08.055>

- Hansson, G.C. (2012). Role of mucus layers in gut infection and inflammation. *Curr. Opin Microbiol.*, 15(1), 57-62.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2011.11.002>
- Hillyer, J.F., & Albrecht, R.M. (2001). Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(12), 1927-1936.
<http://dx.doi.org/10.1002/jps.1143>
- Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354, 56-58.
<http://dx.doi.org/10.1038/354056a0>
- Jachak, A., Lai, S.K., Hida, K., Suk, J.S., Markovic, N., Biswal, S. et al. (2012). Transport of metal oxide nanoparticles and single-walled carbon nanotubes in human mucus. *Nanotoxicology Early Online*.
<http://dx.doi.org/10.3109/17435390.2011.598244>
- Jani, P., Halbert, G.W., Langridge, J., & Florence, A.T. (1990). Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa-quantitation and particle-size dependency. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 42(12), 821-826.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-7158.1990.tb07033.x>
- Jeong, G.N., Jo, U.B. Ryu H.Y., Kim Y.S., Song K.S., & Yu I.J. (2010). Histochemical study of intestinal mucins after administration of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Archives of Toxicology*, 84(1), 63-69.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00204-009-0469-0>
- Jiang, X., Weise, S., Hafner, M., Röcker, C., Zhang, F., Parak, W.J. et al. (2010). Quantitative analysis of the protein corona on FePt nanoparticles formed by transferrin binding. *Journal of The Royal Society Interface*, 7(1), 5-13.
<http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2009.0272.focus>
- Kang, S., Kadia, S., Celli, A., Njuguna, J., Habibi, Y., & Kumar, R. (2013). Surface modification of inorganic nanoparticles for development of organic-inorganic nanocomposites – A review. *Progress Polym. Sci.*, 38, 1232-1261.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.02.003>
- Kararli, T. (1995). Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 16(5), 351-380.
<http://dx.doi.org/10.1002/bdd.2510160502>
- Khlebtsov, N., & Dykman, L. (2011). Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of *in vitro* and *in vivo* studies. *Chemical Society Reviews*, 40(3), 1647-1671.
<http://dx.doi.org/10.1039/C0CS00018C>
- Kim, Y.S., Kim, J.S., Cho, H.S., Rha, D.S., Kim, J.M., Park, J.D. et al. (2008). Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology*, 20(6), 575-583.
<http://dx.doi.org/10.1080/08958370701874663>

- Kim, Y.S., Song, M.Y., Park, J.D., Song, K.S., Ryu, H.R., Chung, Y.H. et al. (2010). Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. *Particle and Fibre Toxicology*, 7(20).
<http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-7-20>
- Klintenberg, M., Lebegue, S., Ortiz, C., Sanyal, B., Fransson, J., & Eriksson, O. (2009). Envolving properties of two-dimensional materials: from graphene to graphite. *J. Phys.: Condens. Matter*, 21, 335502.
<http://dx.doi.org/10.1088/0953-8984/21/33/335502>
- Koga, K., Ikeshoji, T., & Sugawara, K. (2004). Size- and temperature –dependent structural transitions in gold nanoparticles. *Phys. Rev. Lett.*, 92(11), 115507, 1-4.
<http://dx.doi.org/10.1103/physrevlett.92.115507>
- Kolosnjaj-Tabi, J., Hartman, K.B., Boudjemaa, S., Ananta, J.S., Morgant, G., Szwarc, H. et al. (2010). *In vivo* behavior of large doses of ultrashort and full-length single-walled carbon nanotubes after oral and intraperitoneal administration to Swiss mice. *ACS Nano*, 4(3), 1481-1492.
<http://dx.doi.org/10.1021/nm901573w>
- Kroto, H.W., Heath, J.R., O'Brien, S.C., Curl, R.F., & Smalley, R.E. (1985). C 60: buckminsterfullerene. *Nature*, 318, 162.
<http://dx.doi.org/10.1038/318162a0>
- Lam, C.W., James, J.T., McCluskey R., Arepalli S., & Hunter, R.L. (2006). A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks. *Crit. Rev. Toxicol.*, 36(3), 189–217.
<http://dx.doi.org/10.1080/10408440600570233>
- Lee, C., Wei, X., Kysar, J.W., & Hone, J. (2008). Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer grapheme. *Science*, 321, 385-388.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1157996>
- Lim, J.H., Kim, S.H., Lee, I.C., Moon, C., Kim, S.H., Shin, D.H., & Kim, J.C. (2011). Evaluation of maternal toxicity in rats exposed to multi-wall carbon nanotubes during pregnancy. *Environ. Health Toxicol.*, 26, 2011006.
<http://dx.doi.org/10.5620/eht.2011.26.e2011006>
- Loeschner, K., Hadrup, N., Klaus-Qvortrup, K., Larsen, A., Gao, X., Vogel, U. et al. (2011). Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Particle and Fibre Toxicology*, 8(18).
<http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-8-18>
- Lundqvist, M., Stigler, J., Elia, G., Lynch, I., Cedervall, T., & Dawson, K.A. (2008). Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105(38), 14265-14270.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0805135105>

Lynch, I., Cedervall, T., Lundqvist, M., Cabaleiro-Lago, C., Linse, S., & Dawson, K.A. (2007). The nanoparticle-protein complex as a biological entity; a complex fluids and surface science challenge for the 21st century. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 134-135, 167-174.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2007.04.021>

Malik, B., Goyal, A.K., Zakir, F., & Vyas, S.P. (2011). Surface engineered nanoparticles for oral immunization. *J. Biomed. Nanotechnol*, 7(1), 132-134.

<http://dx.doi.org/10.1166/jbn.2011.1236>

Manson, J.M., Rauch, M., & Gilmore, M.S. (2008b). The commensal microbiology of the gastrointestinal tract. En Huffnagle, G.B., & Noverr, M.C. (Eds.). *GI Microbiota and Regulations of the Immune System*, 15-28. *Advances in Experimental Medicine and Biology (series)*, 635, New York: Springer.

http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-09550-9_2

Mason, K.L., Huffnagle, G.B., Noverr, M.C., & Kao, J.Y. (2008). Overview of gut immunology. En Huffnagle, G.B., & Noverr, M.C. (Eds.). *GI Microbiota and Regulations of the Immune System*, 1-14. *Advances in Experimental Medicine and Biology (series)*, 635. New York: Springer.

http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-09550-9_1

McConnell, E.L., Basit, A.W., & Murdan, S., (2008). Measurements of rat and mouse gastrointestinal pH, fluid, and lymphoid tissue, and implications for *in vivo* experiments. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(1), 63-70.

<http://dx.doi.org/10.1211/jpp.60.1.0008>

Metak, A.M., Nabhani, F., & Connolly, S.N. (2015). Migration of Engineered Nanoparticles from packaging into food products. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 781-787.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.001>

Mihindukulasuriya, S.D.F., & Lim, L-T. (2014). Nanotechnology development in food packaging: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 40, 149-167.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.009>

Mohs, A.M., Duan, H., Kairdolf, B.A., Smith, A.M., & Nie, S. (2009). Proton-resistant quantum dots: stability in gastrointestinal fluids and implications for oral delivery of nanoparticle agents. *Nano Res.*, 2(6), 500-508.

<http://dx.doi.org/10.1007/s12274-009-9046-3>

Monopoli, M.P., Walczyk, D., Campbell, A., Elia, G., Lynch, I., Baldelli-Bombelli, F. et al. (2011). Physical-chemical aspects of protein corona: relevance to *in vitro* and *in vivo* biological impacts of nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.*, 133(8), 2525-2534.

<http://dx.doi.org/10.1021/ja107583h>

Moos, P.J., Chung, K., Woessner, D., Honegger, M., Shane-Cutler, N., & Veranth, J.M. (2010). ZnO particulate matter requires cell contact for toxicity in human colon cancer cells. *Chemical Research in Toxicology*, 23(4), 733-739.

<http://dx.doi.org/10.1021/tx900203v>

- Moulari, B., Pertuit, D., Pellequer, Y., & Lamprecht, A. (2008). The targeting of surface modified silica nanoparticles to inflamed tissue in experimental colitis. *Biomaterials*, 29(34), 4554-4560.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.08.009>
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., & Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), 823-839.
<http://dx.doi.org/10.1289/ehp.7339>
- Park, E. J., Bae, E., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., Lee, S. H. et al (2010). Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental toxicology and pharmacology*, 30(2), 162-168.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2010.05.004>
- Patri, A.K., Majoros, I.J., & Baker Jr, J.R. (2002). Dendritic polymer macromolecular carriers for drug delivery. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 6(4), 466-471.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1367-5931\(02\)00347-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1367-5931(02)00347-2)
- Peters, R., Kramer, E., Oomen, A.G., Herrera-Rivera, Z.E., Oegema, G., Tromp, P.C. et al. (2012). Presence of nano-sized silica during *in vitro* digestion of foods containing silica as a food additive. *ACS Nano*, 6(3), 2441-2451.
<http://dx.doi.org/10.1021/nn204728k>
- Philbrook, N.A., Walker, V.K., Nabiul-Afrooz, A.R.M., Saleh, N.B., & Winn, L.M. (2011). Investigating the effects of functionalized carbon nanotubes on reproduction and development in *Drosophila melanogaster* and CD-1 mice. *Reprod. Toxicol.* 32(4), 442-448.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.09.002>
- Prajapati, V.K., Awasthi, K., Yadav, T.P., Rai, M., Srivastava, O.N., & Sundar, S. (2011). An oral formulation of amphotericin B attached to functionalized carbon nanotubes is an effective treatment for experimental visceral leishmaniasis. *Journal of Infectious Diseases*, jir735.
- Rahmat, M., & Hubert, P. (2011). Carbon nanotube-polymer interactions in nanocomposites: A review. *Comp. Sci. Technol.*, 72, 72-84.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.compscitech.2011.10.002>
- Rodrigues A., & Emeje, M. (2012). Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 87, 987-994.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.044>
- Sun, J., Pantoya, L.M., & Simon, S.L. (2006). Dependence of size and size distribution on reactivity of aluminium nanoparticles in reactions with oxygen and MoO₃. *Thermochim. Acta*, 444(2), 117-127.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2006.03.001>
- Szendi, K., & Varga, C. (2008). Lack of genotoxicity of carbon nanotubes in a pilot study. *Anticancer Res.*, 28(1A), 349-352.

- Tang, L., & Cheng, J. (2013). Nonporous silica nanoparticles for nanomedicine application. *Nano Today*, 8, 290-312.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.nantod.2013.04.007>
- Terrones, M., Botello-Méndez, A.R., Campos-Delgado, J., López-Urías, F., Vega-Cantú, Y.I., Rodríguez-Macías F.J. et al. (2010). Graphene and graphite nanoribbons: morphology, properties, synthesis, defects and applications. *Nano today* 5(4), 351-372.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.nantod.2010.06.010>
- Trouiller, B., Reliene, R., Westbrook, A., Solaimani, P., & Schiestl, R.H. (2009). Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability *in vivo* in mice. *Cancer Res.*, 69(22), 8784-8789.
<http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2496>
- Tsujimoto, Y., Matsushita, Y., Yu, S., Yamaura, K., & Uchikoshi, T. (2015). Size dependence of structural, magnetic, and electrical properties in corundum-type Ti₂O₃ nanoparticles showing insulator-metal transition. *J. of Asian Ceramic Soc.*, 3(3), 325-333.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jascer.2015.06.007>
- Varner, K.E., El-Badawy, A., Feldhake, D., & Venkatapathy, R. (2010). Varner, US Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/R-10/084. Disponible en: http://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=226785&fed_org_id=770&SIType=PR&TIMSType=Published+Report&showCriteria=0&address=nerl/pubs.html&view=citation&sortBy=pubDateYear&count=100&dateBeginPublishedPresented=01/01/2010
- Walczak, A.P., Fokkink, R., Peters, R., Tromp, P., Herrera-Rivera, Z.E., Rietjens, I.M.C.M. et al. (2013). Behavior of silver nanoparticles and silver ions in an *in vitro* human gastrointestinal digestion model. *Nanotoxicology*, 7(7), 1198-1210.
<http://dx.doi.org/10.3109/17435390.2012.726382>
- Walk, S.T., & Young, V.B. (2008). Emerging insights into antibiotic-associated diarrhea and clostridium difficile infection through the lens of microbial ecology. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.*, 125081, PMID: PMC2649424.
<http://dx.doi.org/10.1155/2008/125081>
- Weir, A., Westerhoff, P., Fabricius, L., Hristovski, K., & von Goetz, N. (2012). Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ. Sci. Technol.*, 46(4), 2242-2250.
<http://dx.doi.org/10.1021/es204168d>
- Wiwattanapatapee, R., Carreño-Gomez, B., Malik, N., & Duncan, R. (2000). Anionic PAMAM dendrimers rapidly cross adult rat intestine *in vitro*: a potential oral delivery system? *Pharm. Res.*, 17(8), 991-998.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1007587523543>
- Wujcik, E.K., & Monty, C.N. (2013). Nanotechnology for implantable sensors: carbon nanotubes and graphene in medicine. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol.*, 5, 233-249.
<http://dx.doi.org/10.1002/wnan.1213>

- Xie, Y., Williams, N.G., Tolic, A., Chrisler, W.B., Teeguarden, J.G., Maddux, B. L.S. et al. (2012). Aerosolized ZnO nanoparticles induce toxicity in alveolar type II epithelial cells at the air-liquid interface. *Toxicol. Sci.*, 125(2), 450-461.
<http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfr251>
- Yao, M., McClements, D.J., & Xiao, H. (2015). Improving oral bioavailability of nutraceuticals by engineered nanoparticle-based delivery systems. *Current Opinion in Food Science*, 2, 14–19.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2014.12.005>
- Young, V.B. (2012). The intestinal microbiota in health and disease. *Current Opinions in Gastroenterology*, 28(1), 63-69.
<http://dx.doi.org/10.1097/MOG.0b013e32834d61e9>
- Zhang, H., Burnum, K.E., Luna, M.L., Petritis, B.O., Kim, J.-S., Qian, W.-J. et al. (2011). Quantitative proteomics analysis of adsorbed plasma proteins classifies nanoparticles with different surface properties and size. *Proteomics*, 11(23), 4569-4577.
<http://dx.doi.org/10.1002/pmic.201100037>
- Zhang, Y., Ali, S.F., Dervishi, E., Xu, Y., Li, Z., Casciano, D. et al. (2010). Cytotoxicity effects of graphene and single wall carbon nanotubes in neural Phaeochromocytona-derived PC12 cells. *ACS Nano*, 6(4), 3181-3186.
<http://dx.doi.org/10.1021/nn1007176>
- Zoetendal, E.G., Collier, C.T., Koike, S., Mackie, R.I., & Gaskins, H.R. (2004). Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: a review. *Journal of Nutrition*, 134(2), 465-472.