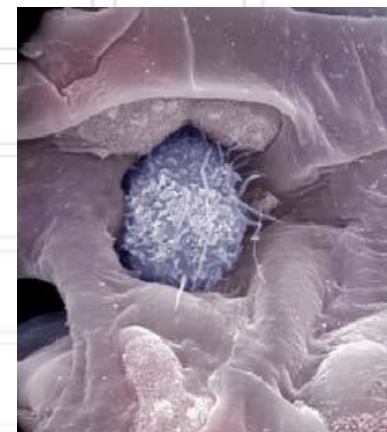
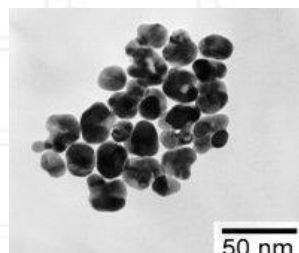




Nanotecnología y efectos adversos en la salud: Nanotoxicología



Carlos Fito López
Responsable A.T. Seguridad & Coordinador de Proyectos de Nanoseguridad
cfito@itene.com

Sevilla – 3 de Diciembre de 2014

Jornada de Nanotecnología y prevención de riesgos

Nuevos desarrollos en la evaluación y control de la exposición laboral a NMs: Experiencias en el marco del proyecto LIFE NanoRISK

NANORISK

www.itene.com

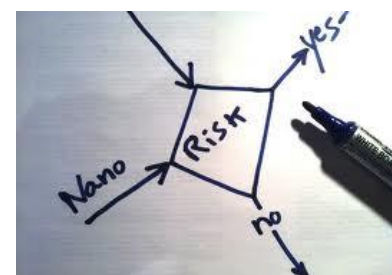




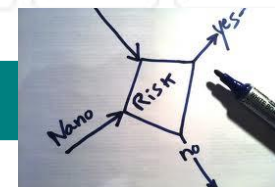
Índice

1. Principales Riesgos de la Nanotecnología
 - Aspectos clave en los riesgos de los nanomateriales
 - Estado del conocimiento - Incertidumbres
2. Perfil toxicológico de los nanomateriales
3. Conclusiones

1. Principales Riesgos de la Nanotecnología



1. Principales Riesgos de la Nanotecnología



❑ Aspectos clave en los riesgos de los nanomateriales

El creciente aumento de las aplicaciones de la nanotecnología, unido a la obtención de importantes mejoras en las propiedades de los productos resultantes, ha provocado un incremento considerable en el uso de los nanomateriales, sin embargo todavía existen numerosas **incertidumbres** sobre sus riesgos para la salud y el medio ambiente.

Nuevas propiedades = Nuevos riesgos ... ?



...en la Salud Humana ?



... en el Medio Ambiente?



...por exposición laboral ?



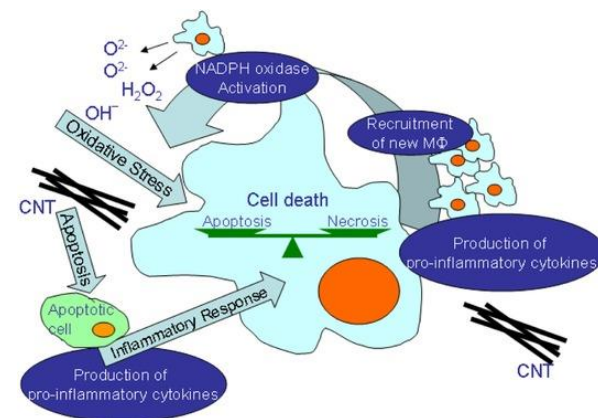
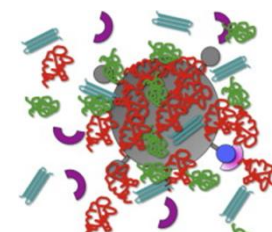
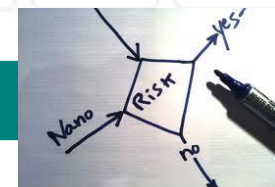
... en el consumidor?

1. Principales Riesgos de la Nanotecnología

❑ Aspectos clave en los riesgos de los nanomateriales

Los materiales a escala nanométrica presentan propiedades y comportamientos característicos que determinan en gran medida sus riesgos, destacando:

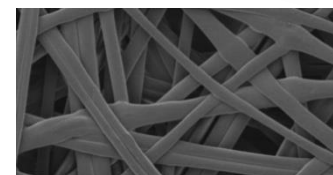
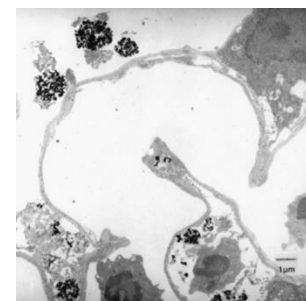
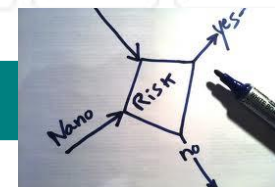
- ✓ Su elevada **relación superficie / volumen** supone un aumento de su reactividad y potencial de interacción con el entorno, así como una mayor actividad biológica (↑ ROS)
- ✓ Debido a su tamaño (< 100 nm), son **fácilmente incorporados por nuestro organismo** a través de las vías respiratorias, torrente sanguíneo, fagocitosis celular,.....
- ✓ Presentan una **alto nivel de interacción a nivel celular** debido a su capacidad de adsorber macromoléculas en su superficie, afectando los mecanismos de regulación celular y por tanto provocando efectos adversos directos.



1. Principales Riesgos de la Nanotecnología

❑ Aspectos clave en los riesgos de los nanomateriales

- ✓ En base a las propiedades físicas de las partículas y a diversos estudios realizados con materiales ultrafinos, los nanomateriales se encuentran en los rangos de tamaño con mayor potencial de persistencia en el aire (**Dustiness**).
- ✓ Son fácilmente inhalables, **depositándose en todas las regiones del tracto respiratorio**, con especial relevancia en la región alveolar, donde se han observado tasas de deposición > 35 %.
- ✓ Presentan una **alta velocidad de difusión**, afectando negativamente a la efectividad de medidas de gestión del riesgo, incluyendo equipos de protección respiratoria, sistemas de ventilación/filtración y/o equipos de protección dérmica.

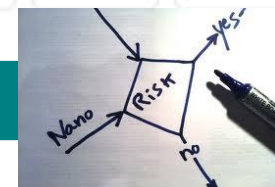
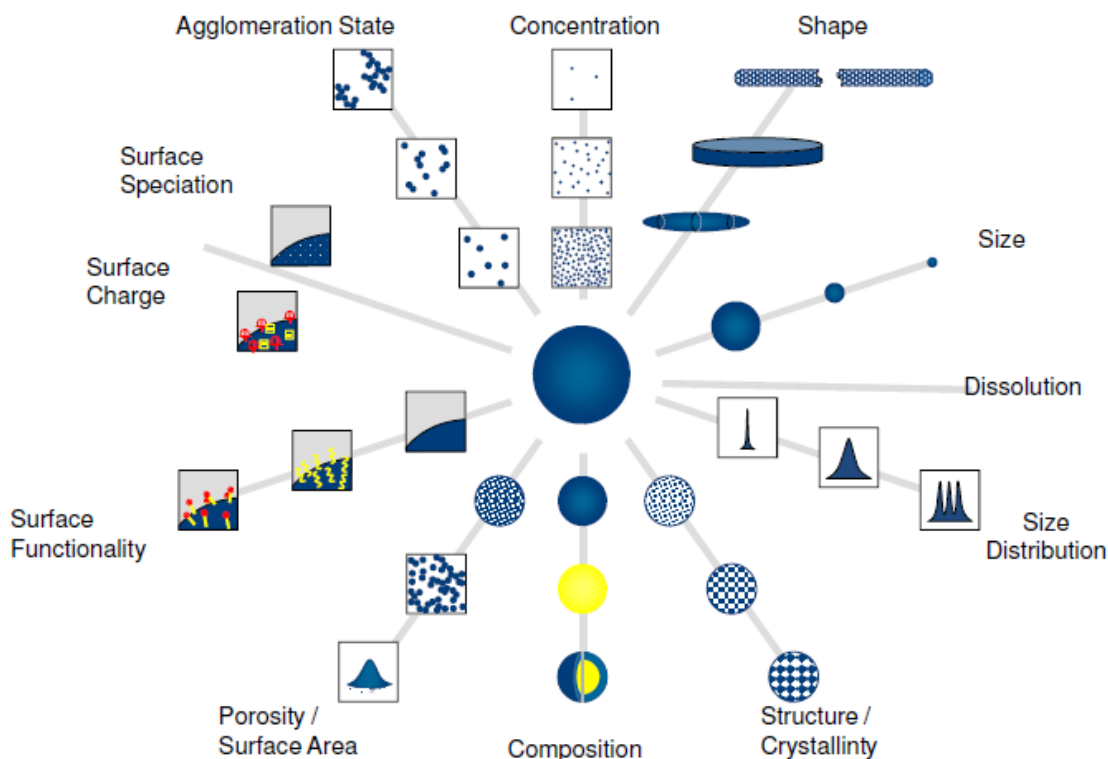


1. Principales Riesgos de la Nanotecnología

❑ Aspectos clave en los riesgos de los nanomateriales

De forma general, los efectos biológicos de los NMs se relacionan con sus propiedades físicas y químicas, especialmente:

- ▶ Forma
- ▶ Tamaño
- ▶ Comp. Química
- ▶ Área superficial
- ▶ Solubilidad
- ▶ Química superficial
- ▶ Aglomeración/Agregación

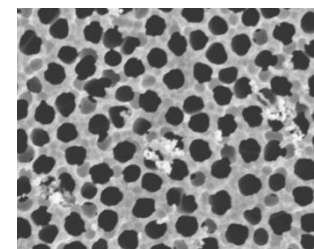
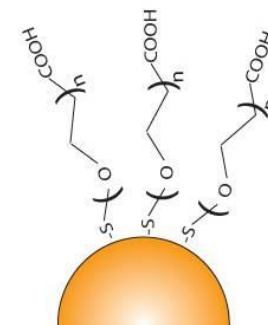
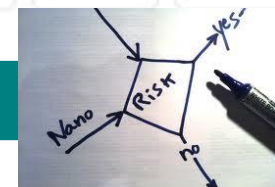


1. Principales Riesgos de la Nanotecnología

❑ Aspectos clave en los riesgos de los nanomateriales

La siguiente tabla muestra algunos de los parámetros de especial interés en el riesgo potencial de los nanomateriales:

Parámetros	Influencia
Área Superficial	El área superficial está directamente involucrada en las interacciones biológicas de los nanomateriales "Nanobiointeractions"
Química Superficial	Asociada directamente con la actividad biológica de la partícula "particle's biological activity"
Composición Química	Variaciones sistemáticas en la composición química del core y/o superficie afectan directamente al comportamiento de la partícula
Solubilidad	La solubilidad de una NM en un determinado medio afecta a su disponibilidad biológica y distribución en el ambiente
Carga (en fluidos biológicos)	Efectos en el potencial de agregación/aglomeración, comportamiento en el tracto respiratorio
Porosidad	Capacidad para el transporte de sustancias contaminantes como metales pesados
Distribución de Tamaños	Influye directamente en la rutas de exposición
Estado de Agregación / Aglomeración	El estado de agregación / aglomeración está vinculado a su potencial de actividad biológica y/ potencial de exposición



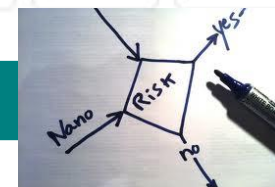
1. Principales Riesgos de la Nanotecnología

❑ Estado del conocimiento - Incertidumbres

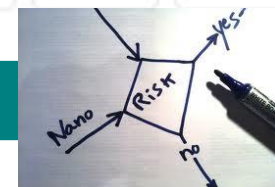
Los peligros identificados indican que los nanomateriales tienen **efectos tóxicos potenciales en el ser humano y el medio ambiente**, sin embargo, es preciso señalar que no todos los nanomateriales inducen efectos tóxicos

❑ Riesgos Ambientales

- ❌ Presentan a un **amplio rango de toxicidades** dependiendo de su naturaleza química, distribución de partículas, forma, área superficial, estado de agregación/aglomeración, etc.
- ❌ La mayor parte de los datos son **relativos a especies utilizadas en el marco regulador**, con una evidente falta de conocimiento de efectos en bacterias, especies terrestres y plantas superiores.
- ❌ Todavía es incierta la aplicación de test estandarizados (OCDE) en la evaluación de la toxicidad ambiental de los NMs

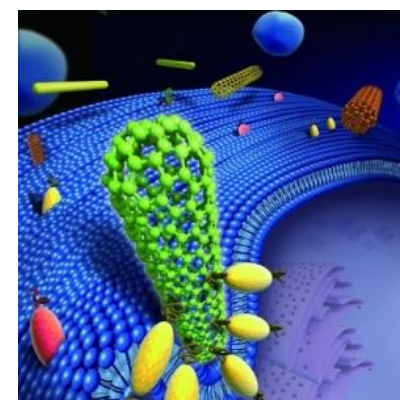


1. Principales Riesgos de la Nanotecnología



❑ Riesgos para la Salud Humana

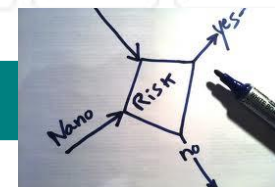
- ❌ Existe una gran incertidumbre relativa a la adecuación de los ensayos toxicológicos clásicos al caso específico de las formas nanométricas de las sustancias y/o materiales
- ❌ Dependiendo de las rutas de exposición (inhalación, ingestión o dérmica), los **NMs muestran patrones diferentes de bio-distribución**, provocando efectos muy diversos como fibrosis, daños en el ADN y cáncer.
- ❌ A pesar de la información disponible, todavía son **desconocidos los mecanismos de acción de los NMs**, no existiendo un consenso relativo a las condiciones de ensayo a utilizar.
- ❌ Se **desconocen en gran medida las interacciones entre los NMs y los Sistemas Vivos**, existiendo una evidente falta de conocimiento sobre los efectos crónicos de los NMs



1. Principales Riesgos de la Nanotecnología

❑ Potencial de Exposición

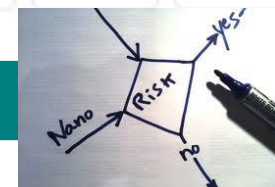
- ❌ Existe un número limitado de datos publicados relativos a los niveles de exposición, incluyendo datos cuantitativos obtenidos principalmente en laboratorios y entornos no industriales.
- ❌ Los NMs muestran comportamientos aerodinámicos diversos debido a su alto potencial de reactividad y a las interacciones cuánticas entre las partículas.
- ❌ No existen valores límites de exposición aceptados (OELs), dificultando el establecimiento de medidas de control y la evaluación objetiva de los riesgos por exposición



1. Principales Riesgos de la Nanotecnología

❑ Gestión y Control del Riesgo

- ❌ Un **número limitado de estudios han reportado la eficacia de equipos de protección respiratoria (EPR)** y/o protección dérmica, siendo necesaria la realización de nuevos estudios para evaluar la eficacia de los distintos equipos de control.
- ❌ Los sistemas de ventilación y captación parecen ser efectivos, disminuyendo los niveles de NMs en el ambiente, sin embargo su alto **potencial de difusión genera incertidumbres en ambientes industriales**, donde un número limitado de publicaciones demostrado su eficacia.
- ❌ En el caso de los equipos de protección dérmica, se han obtenido resultados divergentes debido fundamentalmente a la **variabilidad de factores que afectan a la eficacia de guantes** o ropa de protección, incluyendo en el caso de los guantes, variaciones debidas a la deformación y la existencia de microclimas .



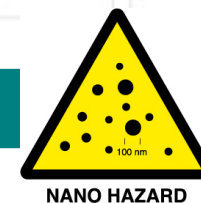
2. Perfil toxicológico de los nanomateriales



2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

❑ Nanotoxicología

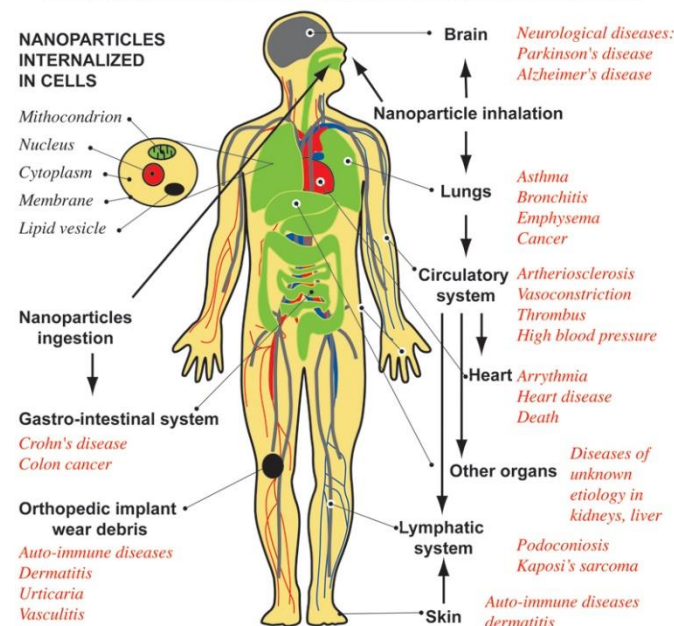
“Nanotoxicology: an emerging discipline that can be defined as “science of engineered nanodevices and nanostuctures that deals with their effects in living organisms”

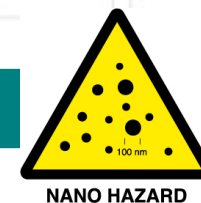


- ✓ Estudios recientes muestran la **habilidad de los NMs para pasar a través de las barreras biológicas**, alcanzar el torrente sanguíneo y transportarse hacia órganos primarios y secundarios.
- ✓ La vía **entrada más común en el organismo es la vía inhalatoria**, especialmente si se trata de un material poco soluble, aunque no hay que descartar la dérmica y la ingestión.
- ✓ Dependiendo de las rutas de exposición (inhalación, ingestión o dérmica), los **NMs muestran diversos patrones de bio-distribución**, provocando diversos efectos como fibrosis, daños en el ADN y cáncer.

DISEASES ASSOCIATED TO NANOPARTICLE EXPOSURE

C. Buzzea, I. Pacheco, & K. Robbie, Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity, Biointerphases 2 (2007) MR17-MR71





2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

❑ Nanotoxicología

La nanotoxicología actual se centra en estudios *in vitro*, estudios de toxicodinámica y estudios *in vivo*

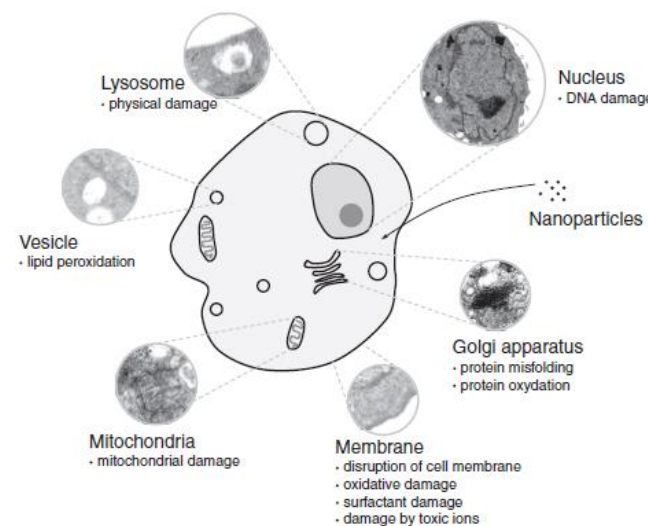
❑ Estudios *in vitro*

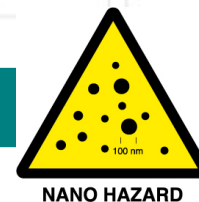
Básicamente estudios en órganos aislados, cultivo celular (una o varias líneas), piezas de tejido, sistema subcelulares como microsomas para estudios de inducción enzimática (ej: P450)

Se buscan conocer los mecanismos toxicológicos agudos, subcrónicos y crónicos

Los paradigmas actuales del mecanismo toxicológico de nanopartículas incluyen:

- ❗ 1. Apoptosis,
- ❗ 2. Disfunción mitocondrial
- ❗ 3. Stress oxidativo





2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

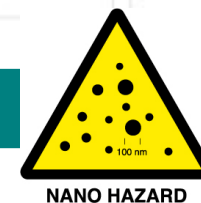
□ Nanotoxicología

La nanotoxicología actual se basa en el paradigma de exposición-dosis-respuesta de las NPs, según el cual, la exposición a NP con diversas características fisicoquímicas mediante la inhalación, ingestión o a través de la piel puede derivar en su distribución a otros sistemas del organismo distintos del de entrada.



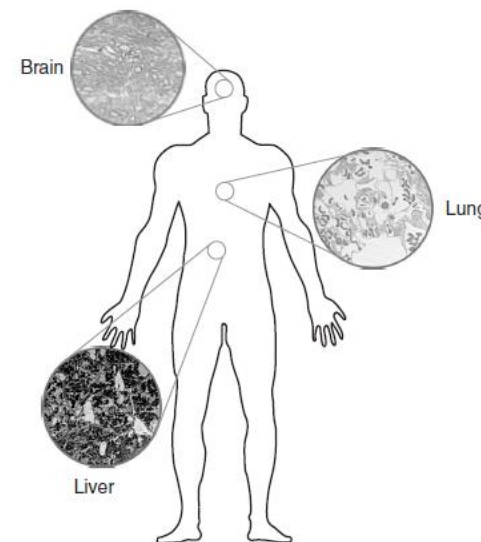
2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

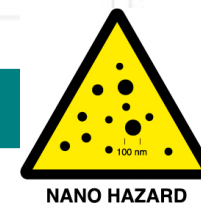
□ Nanotoxicología



los posibles mecanismos de toxicidad inducidos por la exposición a las partículas son muy complejos y dependen de la vía de exposición, la dosis, la respuesta del organismo, la susceptibilidad y las propiedades fisicoquímicas específicas de las partículas

- ✓ La exposición primaria a las nanopartículas puede producirse a través de los pulmones, de la piel o del intestino, pero su desplazamiento hacia otros órganos plantea la posibilidad de que actúen distintos **mecanismos de toxicidad** en función del órgano de destino.
- ✓ Por ejemplo, las condiciones de oxido-reducción pueden ser desde muy oxidantes, como sucede en la piel o en los pulmones, hasta muy reductoras, por ejemplo, en el intestino o en zonas intersticiales; esto puede afectar considerablemente a los mecanismos que desencadena el estrés oxidativo.





2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

☐ Nanotoxicología

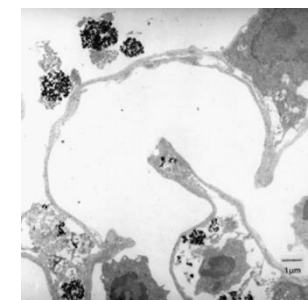
✓ Efectos en el Pulmón

Los **radicales libres** o la **actividad oxidativa** de las NPs han resultado ser un factor predominante en la capacidad de producir inflamación pulmonar, y se sabe que un mecanismo similar interviene en la genotoxicidad pulmonar de partículas más grandes.

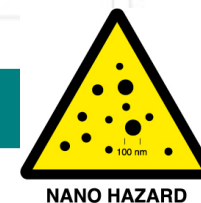
Igualmente, es posible que exista una diferencia significativa en cuanto al potencial y al mecanismo de toxicidad de las NPs en función de su solubilidad.

Se ha demostrado que las características de las NPs, como el **área** y la **reactividad de su superficie**, son los parámetros en los que se basa el estrés oxidativo para provocar inflamación pulmonar.

Dado que el pulmón es un importante punto de entrada de NPs en el organismo, es necesario conocer los mecanismos que relacionan las características fisicoquímicas de las NPs con el sistema de defensa pulmonar.



2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

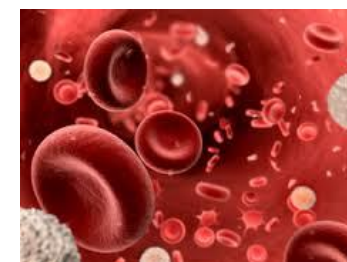
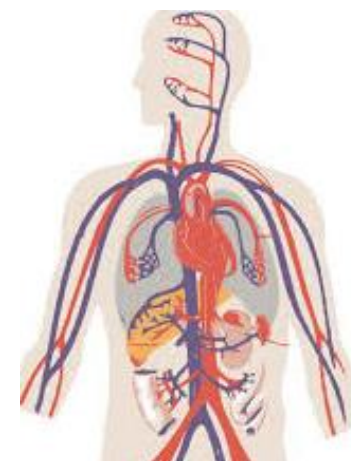


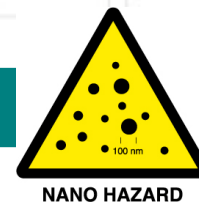
☐ Nanotoxicología

✓ Efectos en el Sistema cardiovascular

Se han encontrado asociaciones estadísticamente significativas entre la **contaminación aérea por partículas y la aparición de isquemias, arritmias e insuficiencias cardiacas**, y en estudios realizados con animales la exposición a partículas en el aire ambiental incrementa los casos de trombosis periférica y la formación de lesiones ateroscleróticas. Esto podría deberse a la penetración de partículas en el torrente sanguíneo.

Se desconoce la naturaleza exacta de la toxicidad o la «dosis efectiva » a la que las NPs ejercen su efecto nocivo en el torrente sanguíneo. Este proceso tóxico podría surgir de la **capacidad de las NPs para estimular directamente la agregación/ activación plaquetaria** o bien por afectación del endotelio, de manera que favorezcan la formación de trombos.





2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

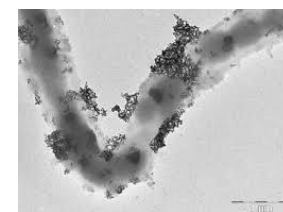
❑ Nanotoxicología

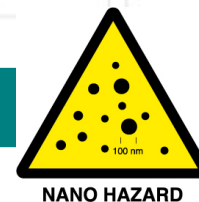
✓ Efectos en el Hígado - daño hepático

El hígado es sensible al **estrés oxidativo**, y se ha observado que las células de hígado de rata tratadas con diversas NPs sufren estrés oxidativo y lesiones.

Las consecuencias de dichas lesiones provocadas por las NPs en el hígado pueden traducirse en **inflamación o alteraciones en la producción hepática** de factores de coagulación que pueden contribuir a desencadenar una trombosis sistémica.

Nada se sabe sobre el papel del **tamaño y la composición de las partículas en este daño hepático**. Los efectos adversos para la salud aún no se han relacionado con las características de las NA, y todavía no se conocen bien los mecanismos por los que se produce esta toxicidad hepática..





2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

☐ Nanotoxicología

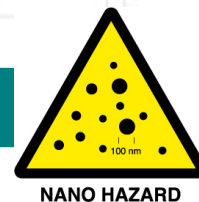
✓ Efectos en el Riñón

El riñón recibe el 20% del flujo sanguíneo que sale del corazón. Así pues, cuando las partículas entran en la sangre, el riñón puede recibir una dosis elevada en comparación con otros órganos.

Para conocer las posibles consecuencias de la exposición renal es necesario investigar el potencial de excreción urinaria, de acumulación renal y de toxicidad. Sin duda, las nanopartículas inyectadas en la sangre pueden filtrarse en los riñones y excretarse, como muestra un estudio realizado con nanotubos de carbono derivatizados.

Nada se sabe acerca del **papel de las características de las partículas (como su tamaño o su superficie) en sus efectos sobre el riñón**. Sin embargo, dada la importancia que sabemos que posee la carga eléctrica en la filtración glomerular, tal vez influya aquí de forma relevante el potencial zeta de las NPs.





2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

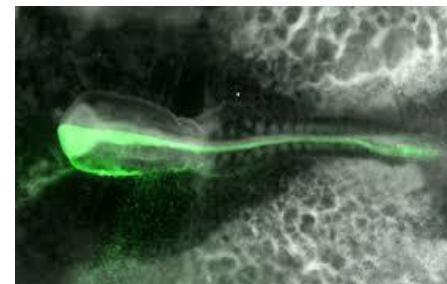
☐ Nanotoxicología

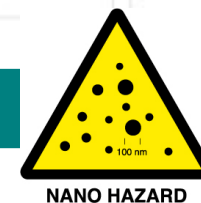
✓ Efectos en el desarrollo

Efectos sobre el desarrollo. La aparente proclividad de las NPs a desplazarse desde su lugar de entrada implica que existe al menos la **posibilidad de que se vean afectados los tejidos en desarrollo**. Esto es preocupante en el caso de los niños, sometidos a diversos cambios de desarrollo, así como para embriones y fetos.

La entrada de NPs en el torrente sanguíneo implica que pueden viajar a través de la placenta, donde la circulación fetal se aproxima a la materna. Sin embargo, la placenta es un órgano diseñado para transferir moléculas de la madre al embrión o al feto, por lo que existe la posibilidad de que éste reciba partículas muy pequeñas. **Los efectos adversos sobre el desarrollo son enormemente preocupantes.**

Actualmente existen **muy pocos conocimientos al respecto**, y los datos que muestren la interacción de las NA y sus características con las células embrionarias contribuirán a evaluar el riesgo que conlleva la exposición de tejidos en desarrollo a las NA.



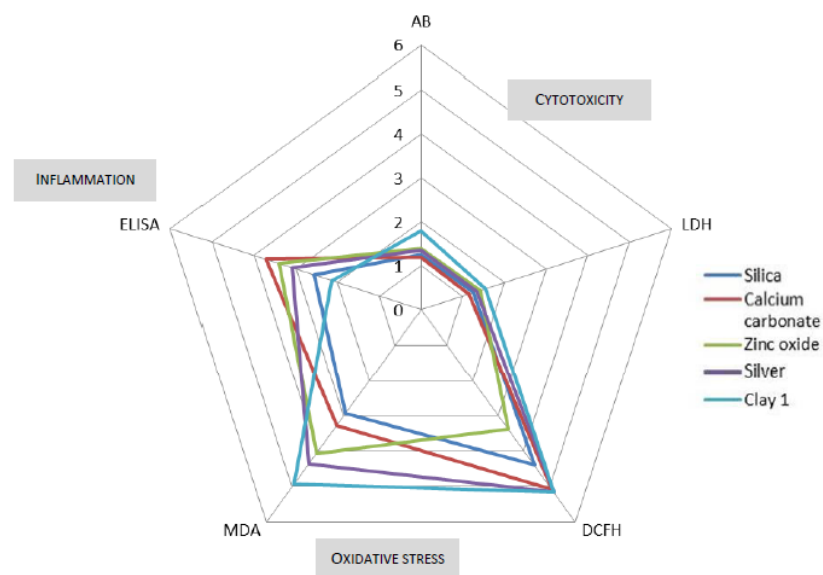
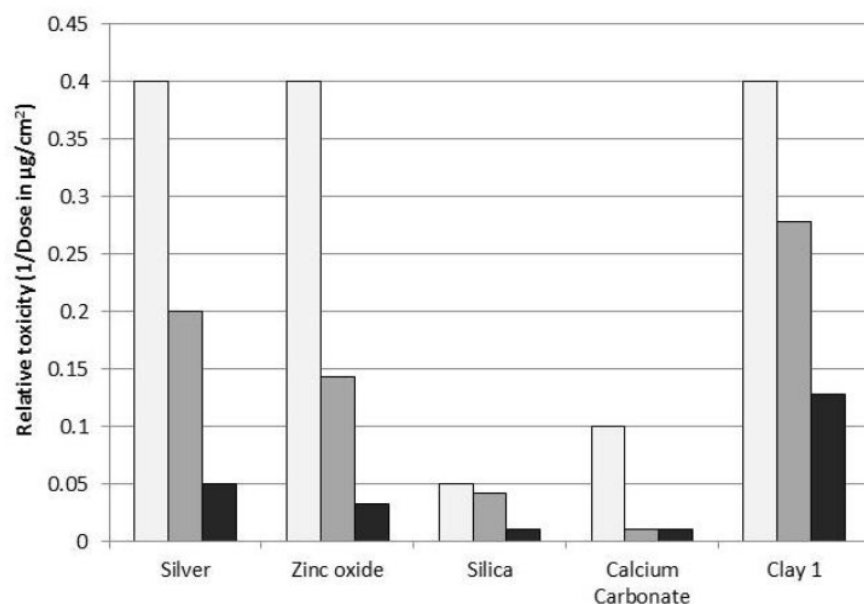


2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

☐ Nanotoxicología

✓ Estudios en el marco de proyectos de investigación

Toxicidad de NPs en líneas celulares de epitelio pulmonary A549.

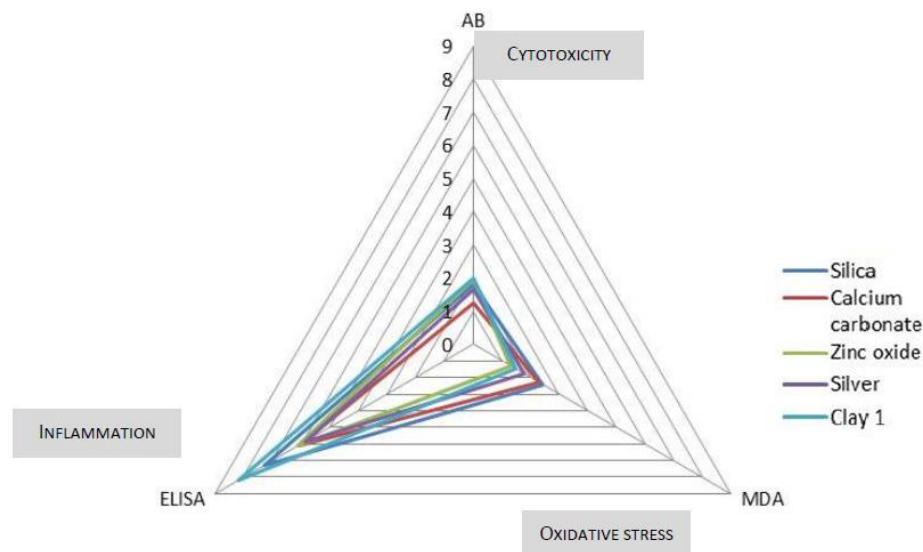
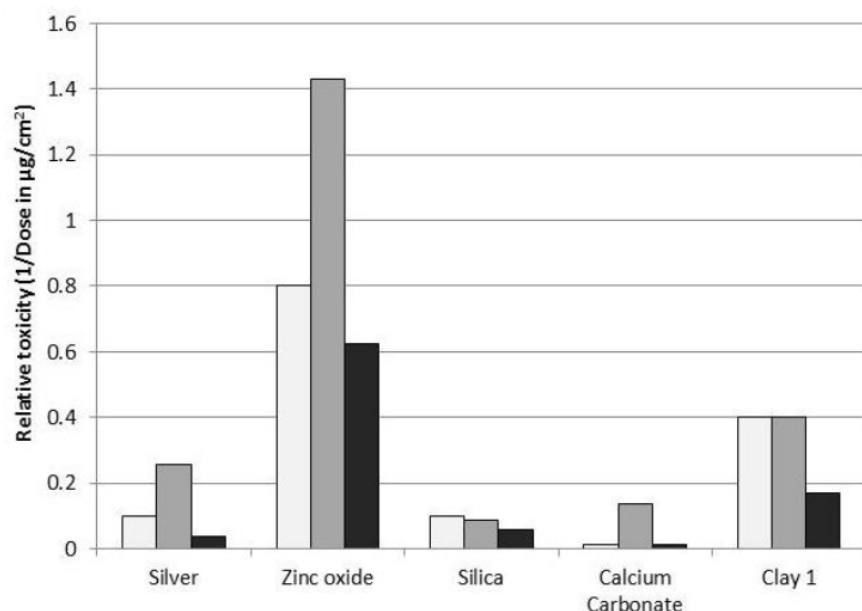
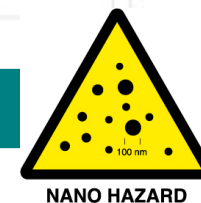


2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

☐ Nanotoxicología

✓ Estudios en el marco de proyectos de investigación

Toxicidad de NPs en queratinocitos (piel).



2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

☐ Nanotoxicología

- ✓ Estudios en el marco de proyectos de investigación



	Cytotoxicity		Inflammatory response		Oxidative stress		Oxidative damage	
	AEC	MPH	AEC	MPH	AEC	MPH	AEC	MPH
Clay 1								
Nano-Ag								
Nano-ZnO								
Nano-SiO ₂								
Nano-CaCO ₃								

Intensity of the effect

Very high  Low

AEC alveolar epithelial cells
MPH macrophages





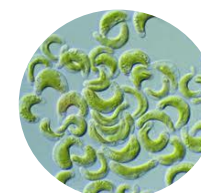
2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

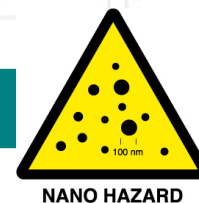
☐ Nanotoxicología

- ✓ Estudios en el marco de proyectos de investigación



	Al ₂ O ₃	Ag (hydrophilic)	CdSe (QDs)	CoAl ₂ O ₄	Fe ₃ O ₄	TiO ₂	ZnO
<i>P. sub-capitata</i>	Green	Red	Orange	Green	Green	Green	Orange
<i>L. variegatus</i>	Green	Yellow	Light Green	Green	Green	Green	Green
<i>D. magna</i>	Green	Red	Orange	Green	Green	Green	Orange
Macro-phages	Yellow	Orange	Orange	Orange	Yellow	Orange	Red
Hepato-cytes	Green	Red	Red	Green	Green	Green	Red
Alveolar type II cells	Green	Red	Red	Green	Green	Green	Red





2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

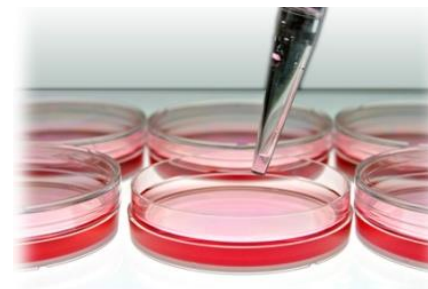
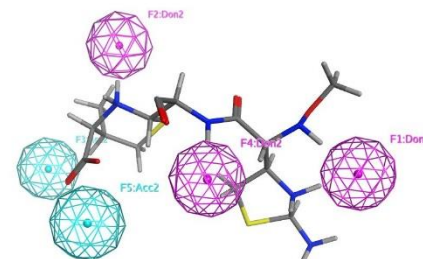
☐ Nanotoxicología

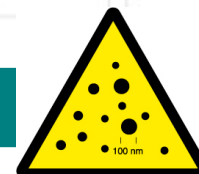
✓ Métodos de Estudio

Las herramientas para investigar y cuantificar el peligro asociado a las NPs se especifican en las directrices de la OCDE y en el reglamento europeo REACH (Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias y Preparados químicos).

Dichas herramientas son:

- (a) pruebas normativas estándar de toxicología;
- (b) relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés);
- (c) los modelos farmacocinéticos basados en la fisiología (PBPK, por sus siglas en inglés).



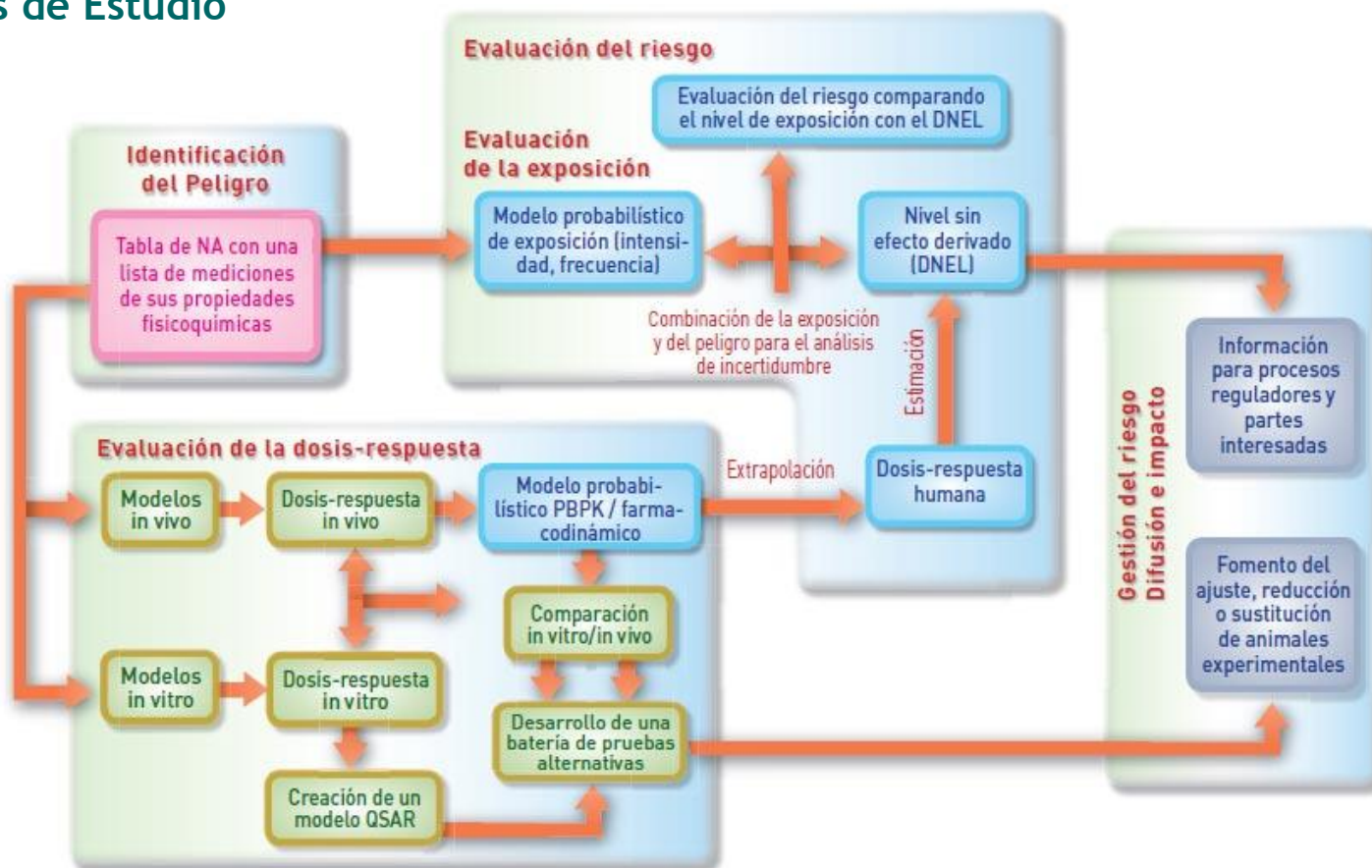


NANO HAZARD

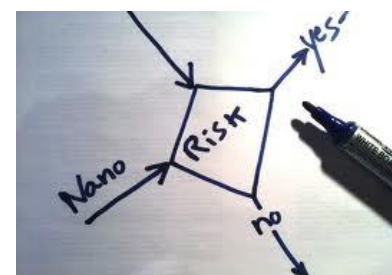
2. Perfil toxicológico de los nanomateriales

☐ Nanotoxicología

✓ Métodos de Estudio



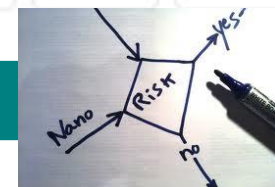
3. Conclusiones



Jornada de Nanotecnología y prevención de riesgos

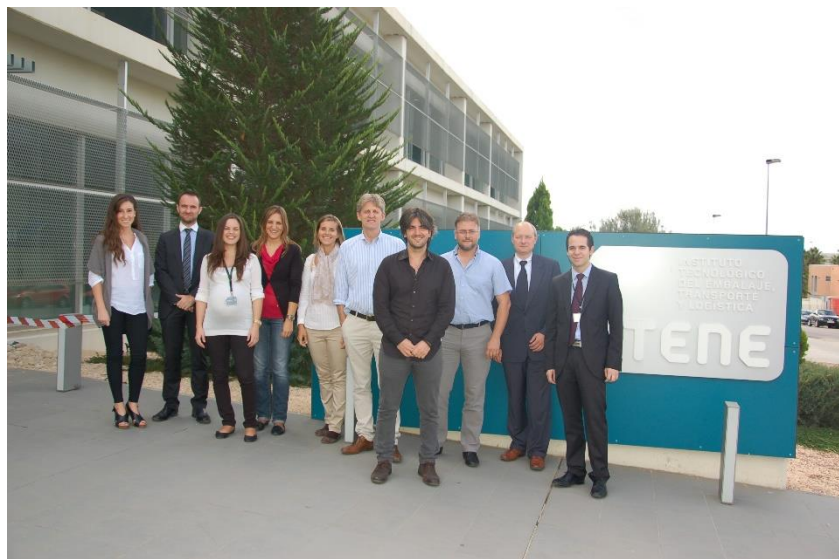
Nuevos desarrollos en la evaluación y control de la exposición laboral a NMs: Experiencias en el marco del proyecto LIFE NanoRISK

3. Conclusiones



- Investigar los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a la respuesta observada en diversos sistemas del organismo (como el aparato respiratorio, el sistema cardiovascular, etc.)
- Desarrollar sistemas de detección in vitro que puedan utilizarse como pruebas alternativas y rápidas de cribado para detectar toxicidad. Estos sistemas in vitro tendrán que verificarse a través de modelos in vivo.
- Desarrollar modelos in silico que engloben: métodos de tipo QSAR para facilitar la identificación de NA tóxicas y predecir el peligro de los nuevos materiales; modelos de exposición específicos para las NPs;
- La posibilidad de translocación (y acumulación) a los distintos órganos tras la exposición a NA potencialmente tóxicas, junto a las limitaciones que ofrecen las actuales herramientas reguladoras sobre evaluación de riesgos, plantean un nuevo problema sobre cómo evaluar mejor los riesgos de la exposición a las NA

► Agradecimientos





GRACIAS POR SU ATENCIÓN

cfito@itene.com

Agradecimientos:

