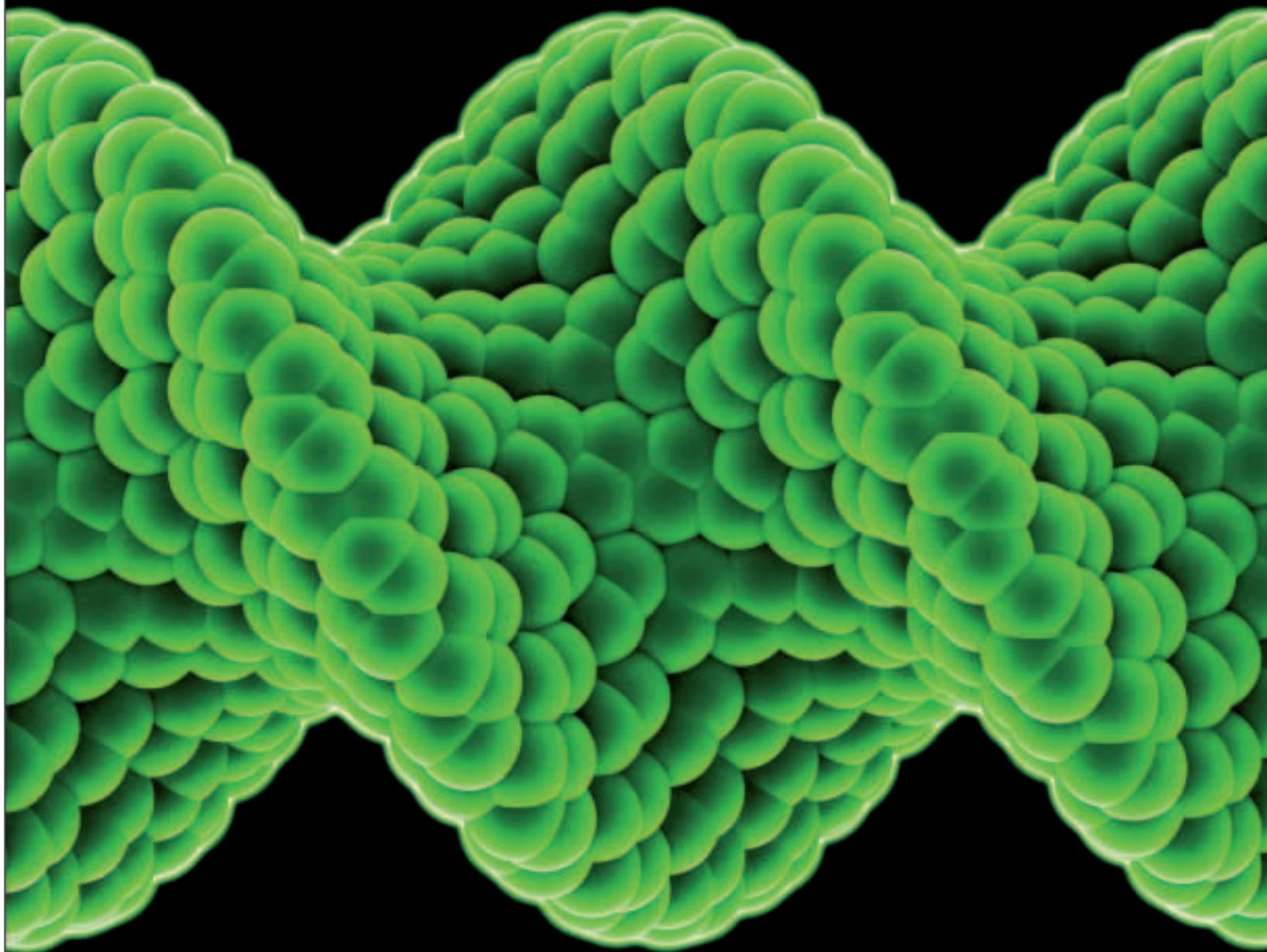


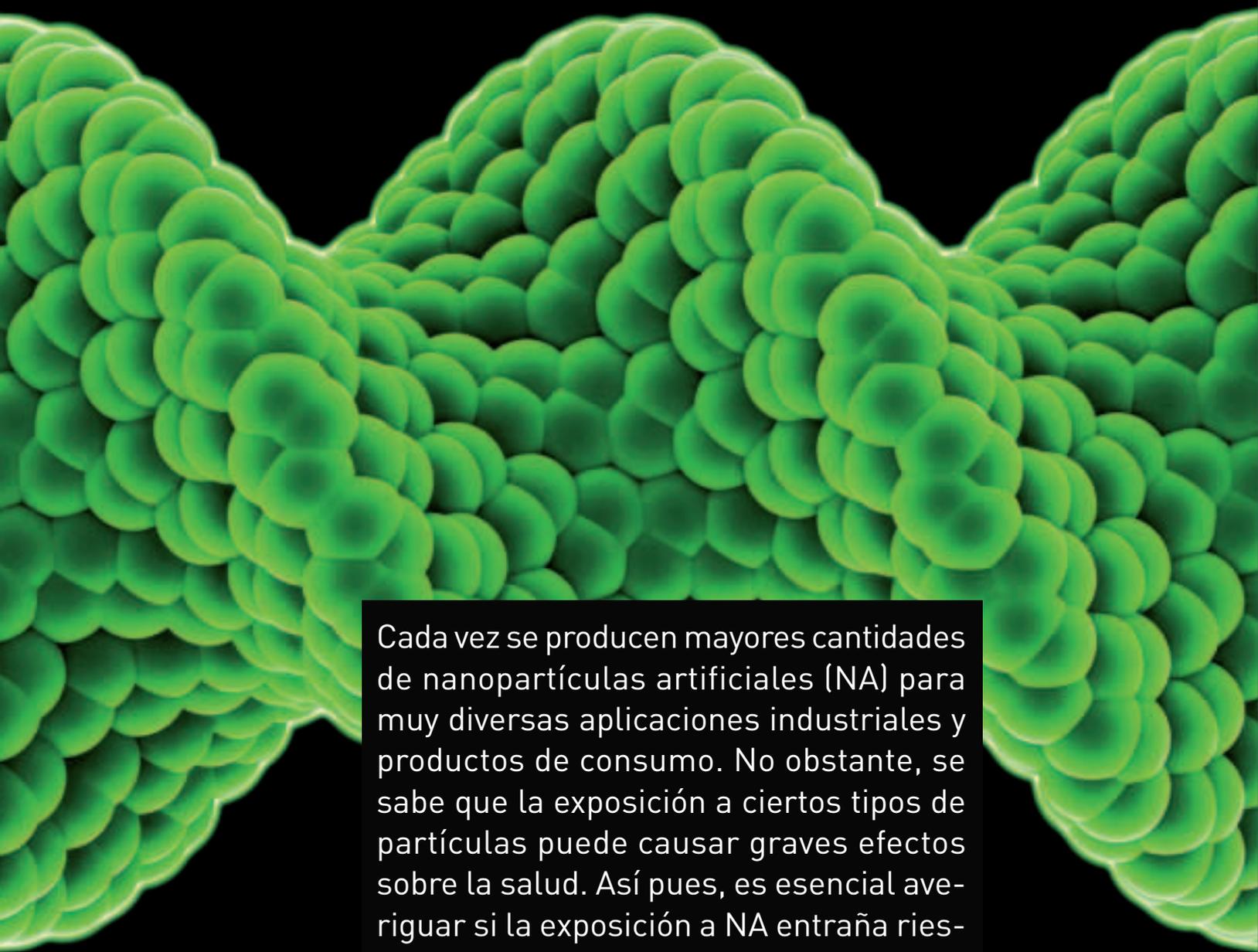
# Las NA y la salud

## LA NANOTOXICOLOGÍA Y LA EVALUACIÓN DEL RIESGO DE



Por **LANG TRAN**, Institute of Occupational Medicine, e-mail: lang.tran@iom-world.org, **JOSÉ M<sup>a</sup> NAVAS ANTÓN**, Director del Departamento de Medio Ambiente, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), e-mail: jmnavas@inia.es

# LAS NANOPARTÍCULAS ARTIFICIALES (ERNA)



Cada vez se producen mayores cantidades de nanopartículas artificiales (NA) para muy diversas aplicaciones industriales y productos de consumo. No obstante, se sabe que la exposición a ciertos tipos de partículas puede causar graves efectos sobre la salud. Así pues, es esencial averiguar si la exposición a NA entraña riesgos para la salud de los trabajadores y de los consumidores. En este documento proponemos un método de evaluación del riesgo de las NA (ERNA) con el objetivo específico de establecer un procedimiento al efecto mediante un enfoque basado en el «peso de la evidencia».

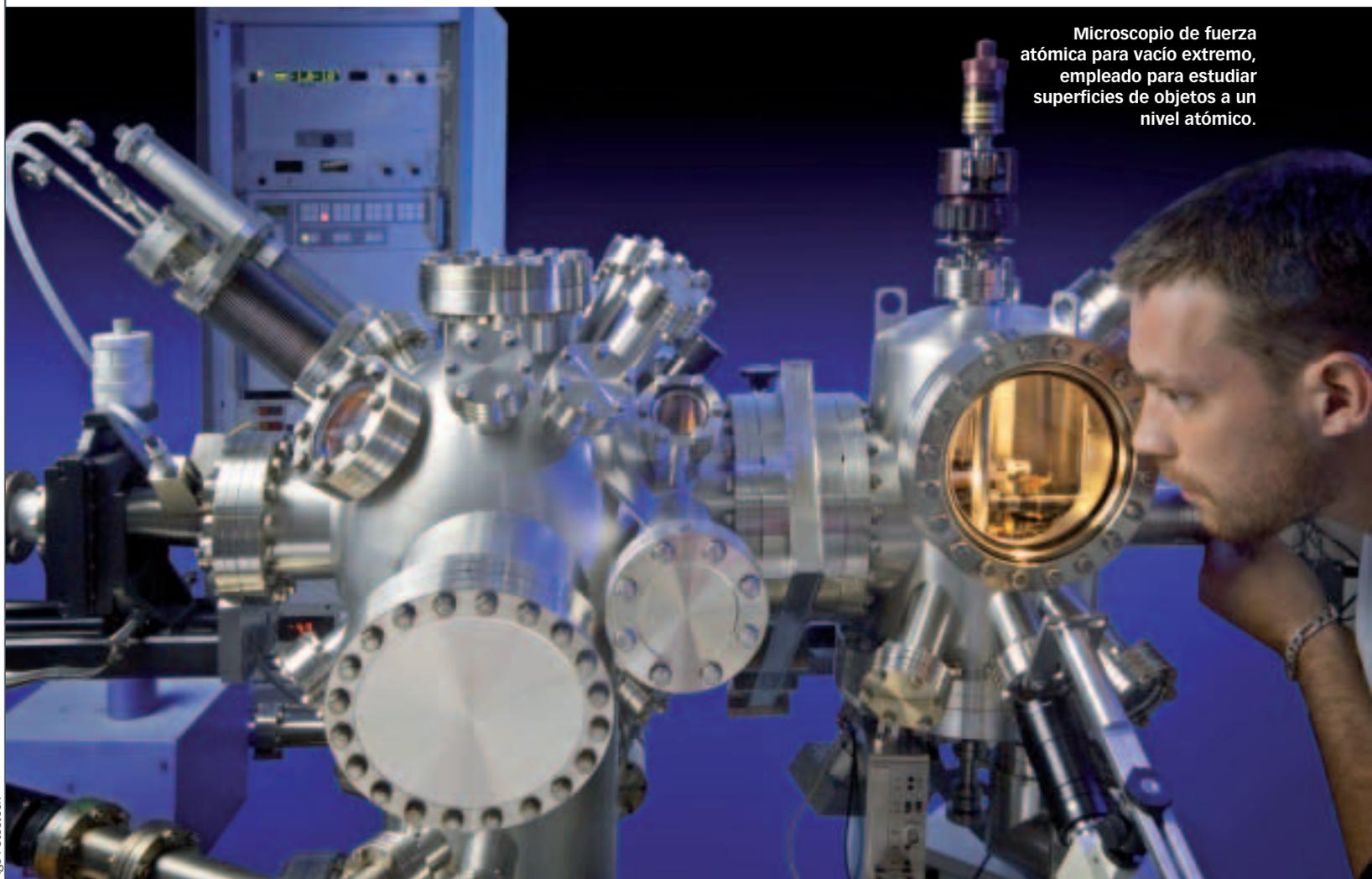
La nanotecnología es una de las principales industrias de Europa [1]. Se calcula que el impacto económico de las nanopartículas en los productos industriales, de consumo y médicos será de 292.000 millones de dólares en 2010 y de un billón de dólares en 2015. La prosperidad de nuestro continente depende del desarrollo seguro y sostenible de esta tecnología emergente [2]. Todo avance tecnológico trae consigo nuevos riesgos y, en el caso de la nanotecnología, los posibles riesgos para la salud de los trabajadores y de los consumidores son enormemente importantes. Dichos riesgos pueden surgir de la exposición a nanomateriales en el trabajo o a través de los

productos de consumo. Si estos riesgos no se evalúan y controlan debidamente, no sólo pueden obstaculizar nuestro desarrollo económico y privarnos de una crucial ventaja competitiva, sino que, lo más importante pueden tener graves consecuencias para la salud humana y medioambiental [2;3]. Conscientes de los problemas de salud que acarrearán los nanomateriales artificiales, en 2006 se escribió un artículo publicado en *Nature* [4] donde se mostraban los grandes obstáculos a los que se enfrenta la manipulación segura de la nanotecnología. Es evidente que la producción de nanomateriales seguros es fundamental para crear y mantener la confianza del usuario final. En definitiva, es esta confianza lo que sien-

ta las bases para el crecimiento de la nanotecnología, por lo que resulta esencial desarrollar un planteamiento eficaz para mejorar la evaluación y el control de los posibles riesgos para la salud derivados de la exposición a NA [5], motivo por el cual hemos escrito este artículo.

### La evaluación del riesgo de las NA

Tradicionalmente, la evaluación de riesgos se basa en describir los elementos de la exposición y el peligro. Los principales componentes de una evaluación de riesgos son: identificación del peligro, evaluación de la dosis-respuesta, evaluación de la exposición y evaluación del riesgo, propiamente dicha, y gestión del riesgo [6]. Este mismo planteamiento



Microscopio de fuerza atómica para vacío extremo, empleado para estudiar superficies de objetos a un nivel atómico.

to puede utilizarse como punto de partida para evaluar los riesgos de las NA. A continuación se muestra un resumen del estado actual en relación con cada uno de estos componentes:

#### Identificación del peligro

Uno de los pasos esenciales en todo proceso de evaluación de riesgos consiste en identificar el peligro asociado. Si podemos definir el peligro como el potencial para causar efectos nocivos, el riesgo es la probabilidad de que se produzca dicho perjuicio.

La identificación del peligro resulta enormemente difícil debido a que 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 (véase, por ejemplo, la revisión efectuada por Hoet y cols. [7]). 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 oxidorreducción 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. Así, para una evaluación adecuada del peligro de las NA, es necesario estudiar todos los sistemas del organismo a los que pueden llegar.

A continuación mostramos un resumen de los posibles peligros de las NA para los principales sistemas de destino:

■ **Pulmón.** Los radicales libres o la actividad oxidativa de las NA han resulta-

## Es esencial desarrollar un planteamiento eficaz para mejorar la evaluación y el control de los posibles riesgos para la salud derivados de la exposición a nanopartículas artificiales

do ser un factor predominante en la capacidad de producir inflamación pulmonar [8; 9], y se sabe que un mecanismo similar interviene en la genotoxicidad pulmonar de partículas más grandes [10]. Igualmente, es posible que exista una diferencia significativa en cuanto al potencial y al mecanismo de toxicidad de las NA en función de su solubilidad y de las condiciones biológicas y ambientales reinantes. Se ha demostrado que las características de las NA, como el área y la reactividad de su superficie, son los parámetros en los que se basa el estrés oxidativo para provocar inflamación pulmonar [11]. Dado que el pulmón es un importante punto de entrada de NA en el organismo, es necesario conocer los mecanismos que relacionan las características fisicoquímicas de las NA con el sistema de defensa pulmonar y los efectos adversos para una mejor evaluación del riesgo de exposición pulmonar a NA.

■ **Sistema cardiovascular.** Se han encontrado asociaciones estadísticamente significativas entre la contaminación aérea por partículas y la aparición de isquemias, arritmias e insuficiencias cardíacas, 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 [12]. Esto po-

dría deberse a la penetración de partículas en el torrente sanguíneo o a las señales de inflamación/estrés oxidativo procedentes del lugar donde se hayan depositado (por ejemplo, en los pulmones). La realidad es que hay lagunas importantes de conocimiento acerca del impacto de las nanopartículas artificiales en el sistema cardiovascular. Las propiedades fisicoquímicas de la superficie de las partículas han demostrado desempeñar un importante papel en los efectos nocivos sobre la circulación sistémica tras su llegada al pulmón [13]. Se desconoce la naturaleza exacta de la toxicidad o la «dosis efectiva» a la que las NA ejercen su efecto nocivo en el pulmón o en el torrente sanguíneo. Este proceso tóxico podría surgir de los mediadores derivados del pulmón o de la capacidad de las NA para estimular directamente la agregación/activación plaquetaria o bien por afectación del endotelio, de manera que favorezcan la desestabilización de la placa aterosclerótica y la formación de trombos. Sin duda, el estrés oxidativo podría desempeñar un importante papel en todos estos efectos. Así pues, para llevar a cabo una evaluación eficaz de los riesgos de las NA en el sistema cardiovascular, es necesario conocer mejor los mecanismos que subyacen a los efectos adversos que provocan las NA.

■ **Hígado.** Por lo que respecta a las partículas que viajan en la sangre, las células fagocitadoras de Kupffer siguen siendo un sistema de limpieza esencial, con el consiguiente potencial de acumulación en el hígado. Las células de Kupffer son similares a los macrófagos, y se sabe que estos últimos se ven afectados por el estrés oxidativo originado por las NA y que producen mediadores inflamatorios como el TNF [14]. El hígado es sensible al estrés oxidativo, y se ha observado que las cé-

lulas de hígado de rata tratadas con diversas NA sufren estrés oxidativo y lesiones [15]. Las consecuencias de dichas lesiones provocadas por las NA 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 [16]. 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.

■ **Riñones.** 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. Esta víscera elimina numerosas sustancias tóxicas mediante filtración plasmática. 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 [17]. Sin embargo, se observó una acumulación de NA de plata dependiente del sexo en los riñones de ratas durante un estudio sobre toxicidad oral de 28 días de duración [18]. 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 NA.

■ **Efectos sobre el desarrollo.** La aparente proclividad de las NA 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 NA en el torrente sanguíneo implica que pueden viajar a través de la placenta, donde la circulación fetal se aproxima a la materna, aunque no exista contacto real ni se lleguen a mezclar las sangres. 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. Las herramientas para investigar y cuantificar el peligro asociado a las NA se especifican en las directrices de la OCDE y en el nuevo reglamento europeo REACH (Registro, Evaluación, Autoriza-

La exposición primaria a las NA puede producirse a través de los pulmones, de la piel o del intestino, pero su desplazamiento hacia otros órganos puede hacer que actúen distintos mecanismos de toxicidad según el órgano de destino

ción y Restricción de Sustancias y Preparados químicos, por sus siglas en inglés [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach\\_intro.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm). Dichas herramientas son: (a) pruebas normativas estándar de toxicología; (b) relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés); y (c) los modelos farmacocinéticos basados en la fisiología (PBPK, por sus siglas en inglés). A continuación se resumen los conocimientos que se poseen actualmente sobre estas herramientas:

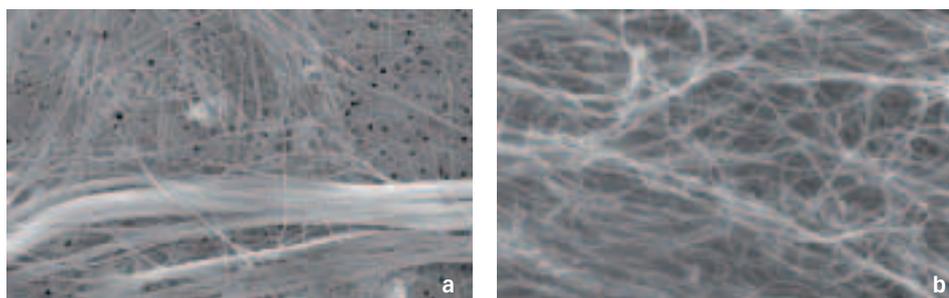
■ **Pruebas normativas de toxicología.** Existen directrices de la OCDE acerca de la realización de pruebas toxicológicas con sustancias químicas solubles. Actualmente, la OCDE está estudiando una estrategia alternativa de pruebas para los nanomateriales que tenga en cuenta las diferentes propiedades fisicoquímicas que presentan con respecto a los materiales de partida, lo que permitirá examinar otras variables además de la mera concentración química para explicar los efectos observados.

■ **Relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR).** La idea que subyace a las QSAR es que estructuras químicas similares muestran actividades biológicas similares en relación con el mecanismo biológico y con la respuesta cuantitativa. La finalidad de los modelos QSAR es averiguar qué propiedades influyen de manera importante en la actividad biológica y predecir la actividad de estructuras y compuestos en los que no se han realizado pruebas previamente. La creciente importancia de los métodos *in silico* como las QSAR para obtener información sobre la toxicidad se refleja en diversos marcos reguladores (por ejemplo, REACH) donde estos métodos se consideran aceptables (en determinadas condiciones) para su uso cuando se carece de informa-

ción química acerca de sustancias que aún no se han ensayado. Muy pocos estudios han tratado de desarrollar QSAR para NA, de modo que las QSAR sobre toxicidad para NA son casi inexistentes. La producción creciente de nuevas fórmulas de NA en la industria de la nanotecnología y el incremento de su uso industrial plantean un problema inmediato de evaluación de peligros y riesgos, dado que muchas de estas NA siguen sin ser sometidas a estudio por lo que las QSAR y las herramientas *in silico* en general constituyen métodos enormemente recomendables para predecir su toxicidad.

■ Modelos farmacocinéticos basados en la fisiología (PBPK). Según reconoce el comité SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), actualmente no existe ningún modelo PBPK establecido acerca de la distribución de las nanopartículas en el organismo ([http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_scenihhr/scenihhr\\_cons\\_04\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihhr/scenihhr_cons_04_en.htm)). Las NA son bastante más grandes que las moléculas de la sustancia de origen, y es necesario reexaminar las ecuaciones de transporte del modelo PBPK estándar para determinar su validez con respecto a estas partículas. En el NIOSH (Instituto Nacional de EEUU para la Seguridad y Salud Ocupacionales) se ha desarrollado un modelo PBPK ([http://www.cdc.gov/niosh/topics/nanotech/strat\\_planAPPX.html](http://www.cdc.gov/niosh/topics/nanotech/strat_planAPPX.html)). Es esencial contar con un modelo PBPK/farmacodinámico para nanopartículas que permita describir la relación exposición-dosis-respuesta de las NA, y la extrapolación de esta relación de una especie a otra [19] desempeña un papel fundamental en la evaluación de los riesgos de las NA.

Además de todo lo dicho, la extrapolación de resultados obtenidos *in vitro* a



**Figura 1.** Semejanzas entre el amianto (a) y los nanotubos de carbono (b). Imágenes a 4.000 y 6.000 aumentos, respectivamente.

modelos *in vivo* puede ser una herramienta muy útil. La información acerca de la toxicidad de las sustancias químicas se puede obtener de manera más rápida, sencilla y barata con experimentos *in vitro* que con los realizados *in vivo*. No obstante, sigue resultando difícil trasladar los resultados de los experimentos *in vitro* a la situación *in vivo*. Para efectuar una comparación cuantitativa *in vitro-in vivo* se necesitan modelos de dosis-respuesta [20]. Un ejemplo de esta clase de comparaciones es el estudio realizado por Slob y cols. [21], en el que las dosis-respuestas *in vitro* se correlacionaron con dosis-respuestas *in vivo* en 20 compuestos embriotóxicos diferentes (que inducían toxicidad a través de diversos mecanismos). Como muestra este estudio, este método es eficaz para evaluar el poder predictivo de los resultados *in vitro*. No sólo se necesitan modelos dosis-respuesta para llevar a cabo comparaciones cuantitativas de estudios *in vitro* a *in vivo*, sino también para evaluar y comparar diferentes estudios *in vitro* entre sí. Esto se aplica igualmente a la evaluación y comparación de estudios *in vivo* entre sí (véanse, por ejemplo, [22; 23]).

#### Evaluación dosis-respuesta

Se han estudiado en animales y humanos los efectos biológicos de diversos tipos de partículas ajenas a la escala nano (por ejemplo, sílice, amianto, partículas contaminantes del aire [PM10]),

y generalmente las investigaciones se han centrado en aquellas que entran en el organismo a través de los pulmones. Aunque se ha observado que algunas partículas son inocuas en las dosis a las que pueden estar expuestos los humanos (por ejemplo, TiO<sub>2</sub>) [24], otros tipos de partículas han demostrado que inducen inflamación y provocan enfermedades como fibrosis y cáncer (por ejemplo, sílice y amianto) [25]. En los estudios toxicológicos, la capacidad de estas partículas para inducir efectos tóxicos guarda relación con la dosis y diversas propiedades fisicoquímicas tales como el tamaño, la forma, la composición química, la reactividad de la superficie, la carga de la superficie, la solubilidad/biodurabilidad, etc. Estudios recientes indican que puede haber aspectos fisicoquímicos claves distintos de la longitud antes mencionada relacionados con la superficie de las partículas, como por ejemplo, el área específica [26], la reactividad [11], la carga eléctrica [27] y la capacidad de la superficie para formar radicales libres [28] que induzcan inflamación y toxicidad. En las partículas más complejas, como las de la contaminación aérea y algunas NA manufacturadas, la insolubilidad de los compuestos puede ser importante (revisado en [29]). A partir de los principios de la termodinámica, es lógico concluir que la reactividad de la superficie puede cambiar en función del tamaño de la

partícula en cualquier material, y que la masa unitaria y la reactividad química (así como la inestabilidad termodinámica) de un compuesto aumentan a medida que disminuye el tamaño de la partícula, a menudo cambiando los polimorfismos en función del tamaño [30].

En un estudio de revisión (REFNANO) patrocinado por el Gobierno británico ([www.defra.gov.uk/environment/chemicals/achs/070605/ACHS0709A.pdf](http://www.defra.gov.uk/environment/chemicals/achs/070605/ACHS0709A.pdf)), se ha elaborado una lista de características fisicoquímicas relativas a la toxicología de las NA, como tamaño y forma, propiedades de la superficie (como área, carga, porosidad y características clínicas), aglomeración/agregación, etc. Cada vez se dispone de más métodos e instrumentación (por ejemplo, SEM, TEM, Nanosight) para medir estas propiedades. El tema está atrayendo el interés de diversas entidades, como la OCDE y el NIST. Sin embargo, en el eje de todo esto se encuentran cuestiones tales como la verificación de los métodos de descripción y la capacidad de identificar NA en distintos medios (por ejemplo, medios de cultivo celular o tejidos corporales). Estas cuestiones deben abordarse mediante cualquier sistema fiable de identificación de NA.

#### Evaluación de la exposición

Evaluar la exposición consiste en determinar cómo es el lugar de exposición (laboral, medioambiental, de consumo), la vía de ésta (inhalación, ingestión, dérmica), su alcance (grado, duración y frecuencia) y, dependiendo del lugar de exposición, la población expuesta. El entorno de la exposición describe las condiciones en las que se da ésta dentro del lugar, afectando a cierta vía, con un cierto alcance y para un individuo o un subgrupo de la población expuesta. Evaluar la exposición es identificar y cuantificar los entornos de interés relacionados con la exposición.

### Actualmente se carece casi por completo de datos sobre la exposición a NA en entornos laborales o de consumo

Actualmente se carece casi por completo de datos sobre la exposición a NA en entornos laborales o de consumo [6]. El enfoque actual dentro del nuevo marco regulador REACH (Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias y Preparados químicos [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach\\_intro.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm)) de la UE se basa en una serie de niveles, empezando por un primer nivel conservador que va seguido de otro más realista. Un modelo para el enfoque del nivel 1 es el método EASE (<http://www.hse.gov.uk/research/rpdf/rr136.pdf>), desarrollado inicialmente para facilitar la evaluación de la exposición en el marco de la legislación nueva y ya existente sobre sustancias químicas. EASE se basa en una estructura de árbol de decisiones, y ha sido ampliamente criticado por ser excesivamente conservador. Por lo que respecta a la exposición de los consumidores, existe el modelo CONSEXPO para su uso en REACH (<http://www.rivm.nl/en/healthanddisease/productsafety/ConsExpo.jsp>). En caso de que el enfoque del primer nivel sea inaceptable (debido a estimaciones de la exposición poco realistas), se necesita recurrir a un segundo nivel. Esto implicaría efectuar mediciones de la exposición real y/o utilizar un mejor modelo de exposición. En cuanto a la exposición laboral, actualmente no existe ningún modelo aceptado de segundo nivel para REACH, aunque se está trabajando en el desarrollo de un modelo perfeccionado que permita abordar esta cuestión. Este sistema utiliza el modelo de simulación de Monte Carlo

para estimar la variabilidad/incertidumbre de la exposición, así como métodos bayesianos para combinar los resultados del modelo probabilístico con datos reales sobre la exposición con el fin de obtener cálculos más perfeccionados de la exposición para evaluar el riesgo. Este planteamiento se conoce como *Advanced REACH Tool* (ART) [31]. Aunque EASE y CONSEXPO se puedan obtener con facilidad, es importante destacar que, hoy por hoy, ninguno de ellos se puede aplicar directamente a las NA.

#### Evaluación del riesgo

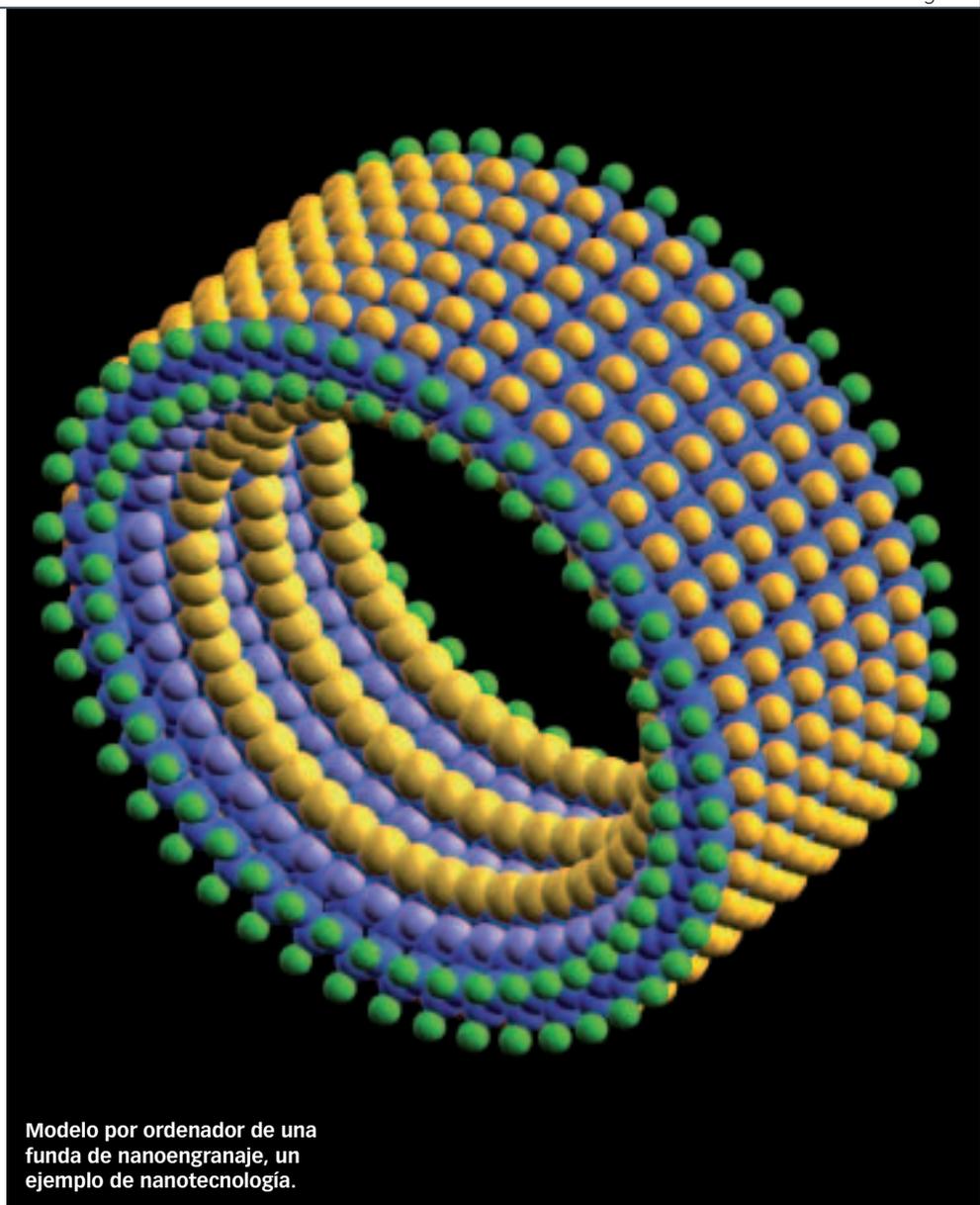
Recientemente se han propuesto diversos enfoques que permitan evaluar el riesgo para la salud de las NA, como por ejemplo, la herramienta de franjas de control (*control banding*) para evaluar el nivel de riesgo y controlar la exposición a nanopartículas [32]. Sin embargo, aún no se ha conseguido llevar a cabo una evaluación del riesgo cuantitativo de las NA. El proceso tradicional de evaluación de riesgos que establece REACH implica el uso de datos toxicológicos para obtener el nivel sin efecto derivado (DNEL, por sus siglas en inglés) de la exposición (<http://ec.europa.eu/enterprise/reach/docs/reach/volume2.pdf>). El riesgo se evalúa comparando el DNEL con los niveles de exposición obtenidos en los distintos entornos incluidos en la evaluación.

#### Análisis de incertidumbre

Dado que los conocimientos sobre la exposición y toxicidad de las NA son incompletos, la evaluación del riesgo de las NA lleva asociada cierta incertidumbre. Las incertidumbres en los datos de la exposición y de la dosis-respuesta pueden dar lugar a cálculos del riesgo poco realistas. Por lo que respecta a la exposición, algunas fuentes de incertidumbre son: (a) la falta de conocimientos exactos sobre el entorno potencial en

que esa exposición se produce, y (b) la incertidumbre distributiva de los factores que influyen en la exposición. En el caso de la dosis-respuesta, los datos inexactos de humanos/ animales, los modelos de dosis-respuesta inadecuados y la falta de base biológica para explicar los efectos adversos son algunas de las fuentes de incertidumbre. Sin embargo, al cuantificar ésta, el análisis de incertidumbre (AI) proporciona una referencia para medir hasta qué punto es «conservador» el cálculo del riesgo. En el AI se buscan las posibles fuentes de error (datos incompletos, suposiciones y criterios de base) de cada etapa de la evaluación de riesgos, y se evalúa cuantitativamente su impacto general sobre la evaluación del riesgo. El conocer la incertidumbre en la evaluación del riesgo ayudará a los evaluadores de éste a adoptar decisiones mejor fundamentadas y razonadas sobre el riesgo. El AI constituye, por tanto, una herramienta esencial para la evaluación de los riesgos de las NA.

Por lo que respecta a las NA, la evaluación de riesgos cuantitativos comenzaría con el modelo determinista PBPK/farmacodinámico para la relación exposición-dosis-respuesta y su extrapolación desde datos *in vitro* a situaciones *in vivo* y humanas. Sin embargo, el modelo de exposición-dosis-respuesta se verá afectado por la variabilidad de los datos y la incertidumbre asociada a cada uno de los pasos que lo componen. El modelo determinista se podría ampliar hacia uno de tipo probabilístico usando una simulación de tipo Monte Carlo para generar cálculos de riesgo probabilístico [33] mediante la asignación de distribuciones de probabilidades a los parámetros del modelo. La simulación del modelo se llevará a cabo de forma repetitiva, cada vez con un valor diferente de un determinado parámetro con el fin de obtener una distribución de frecuencias



Modelo por ordenador de una funda de nanoengranaje, un ejemplo de nanotecnología.

para el modelo. Específicamente, al incorporar la incertidumbre al proceso de creación de modelos para la evaluación de los riesgos de las NA, el resultado final será una distribución de valores DNEL en lugar de un único cálculo de riesgo, que es lo que se obtiene en la evaluación de riesgos determinista (tradicional). Junto con el nivel de exposición (también presentado en forma de distribución) obtenido mediante el modelo probabilístico de exposición (véase la sección Evaluación de la exposición), se analizarán los cálculos del riesgo para su evaluación. Es evidente que los cálculos de riesgo dependerán del grado de incertidumbre. Sin embargo, mediante la realización del AI con un análisis de

sensibilidad es posible detectar los factores que más contribuyen a la incertidumbre general del modelo. A continuación, se darían los pasos necesarios para obtener más información acerca de estos factores y reducir la incertidumbre. Este método aún no se ha aplicado a las NA.

#### Gestión del riesgo

Los pasos generales para la gestión del riesgo son: (a) evaluación del riesgo, (b) evitación del riesgo, (c) retención del riesgo, (d) transferencia del riesgo y (e) reducción del riesgo. En párrafos anteriores hemos descrito detalladamente el proceso de evaluación del riesgo. Una vez evaluado el riesgo, la decisión si-

guiente es si éste se puede eliminar o evitar íntegramente. Si esto no es posible, el paso siguiente será estudiar si el riesgo se puede retener, es decir, absorber. Esto implica aceptar la pérdida causada por el acontecimiento adverso cuando suceda. La retención del riesgo constituye una estrategia viable para los riesgos pequeños cuando el coste de asegurar el riesgo va a acabar siendo mayor con el tiempo que las pérdidas totales cubiertas. Si esta opción no es viable, el paso siguiente será considerar una posible transferencia del riesgo. Este proceso consiste en trasladar el riesgo a otras entidades y así mitigar o compensar el coste del riesgo (por ejemplo, suscribir una póliza de seguros). En el caso de los posibles riesgos para la salud asociados a las NA no es viable ninguno de los pasos anteriores, por lo que cabe pensar en una reducción del riesgo.

Los tres pasos para la reducción del riesgo son: (1) identificar a las partes interesadas; (2) establecer normativas sobre exposición y tomar las medidas oportunas de prevención/intervención para minimizar el riesgo; y (3) elaborar e implantar una estrategia de comunicación para informar a las partes interesadas identificadas.

### Conclusión

La posibilidad de translocación (y acumulación) a los distintos órganos del cuerpo tras la exposición a NA potencialmente tóxicas, junto a las limitaciones que ofrecen las actuales herramientas reguladoras sobre evaluación de riesgos, tal como hemos visto, plantean un nuevo problema sobre cómo evaluar mejor los riesgos de la exposición a las NA[4]. Está claro que debemos buscar soluciones mejores que las actuales para una evaluación eficaz de los riesgos en este ámbito. Con el fin de abordar este problema, el método preferente debe consistir en:

- 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* que usen individuos sanos y enfermos (susceptibles) utilizando, por ejemplo, ratones modificados genética-

mente. En el proceso de validación de estos sistemas *in vitro* también tendrán que realizarse ensayos «en anillo» entre todos los laboratorios intervinientes para asegurar la robustez del método.

- 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 NA; extrapolaciones de los resultados de *in vitro* a *in vivo* y a situaciones laborales o de consumo relevantes para el hombre.
- Desarrollar modelos *in vivo* para verificar los resultados *in vitro*, que también pueden considerarse modelos finales de pruebas de toxicidad de las NA. En estos modelos se utilizarán muchos menos animales que en las pruebas reguladoras estándar actuales, y por tanto contribuirán a ajustar y reducir el número de animales para las pruebas de toxicidad de las NA.
- Incorporar todos los datos relevantes a la construcción del modelo y llevar a cabo análisis de incertidumbre complementarios al paradigma tradicional de evaluación de los riesgos de las NA.

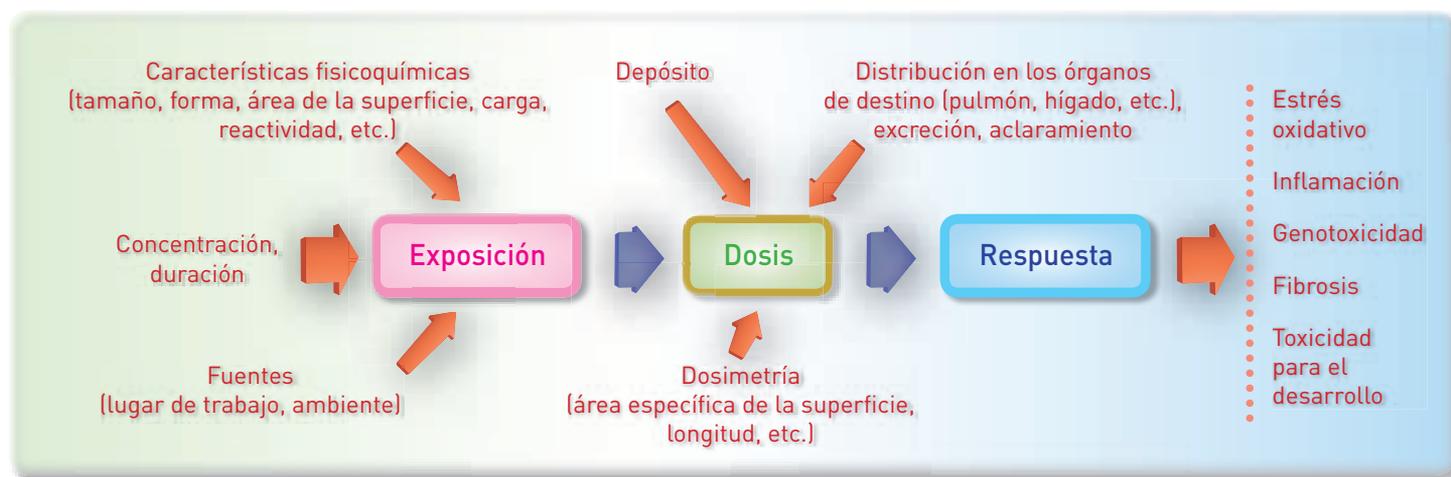


Figura 2. El paradigma exposición-dosis-respuesta.

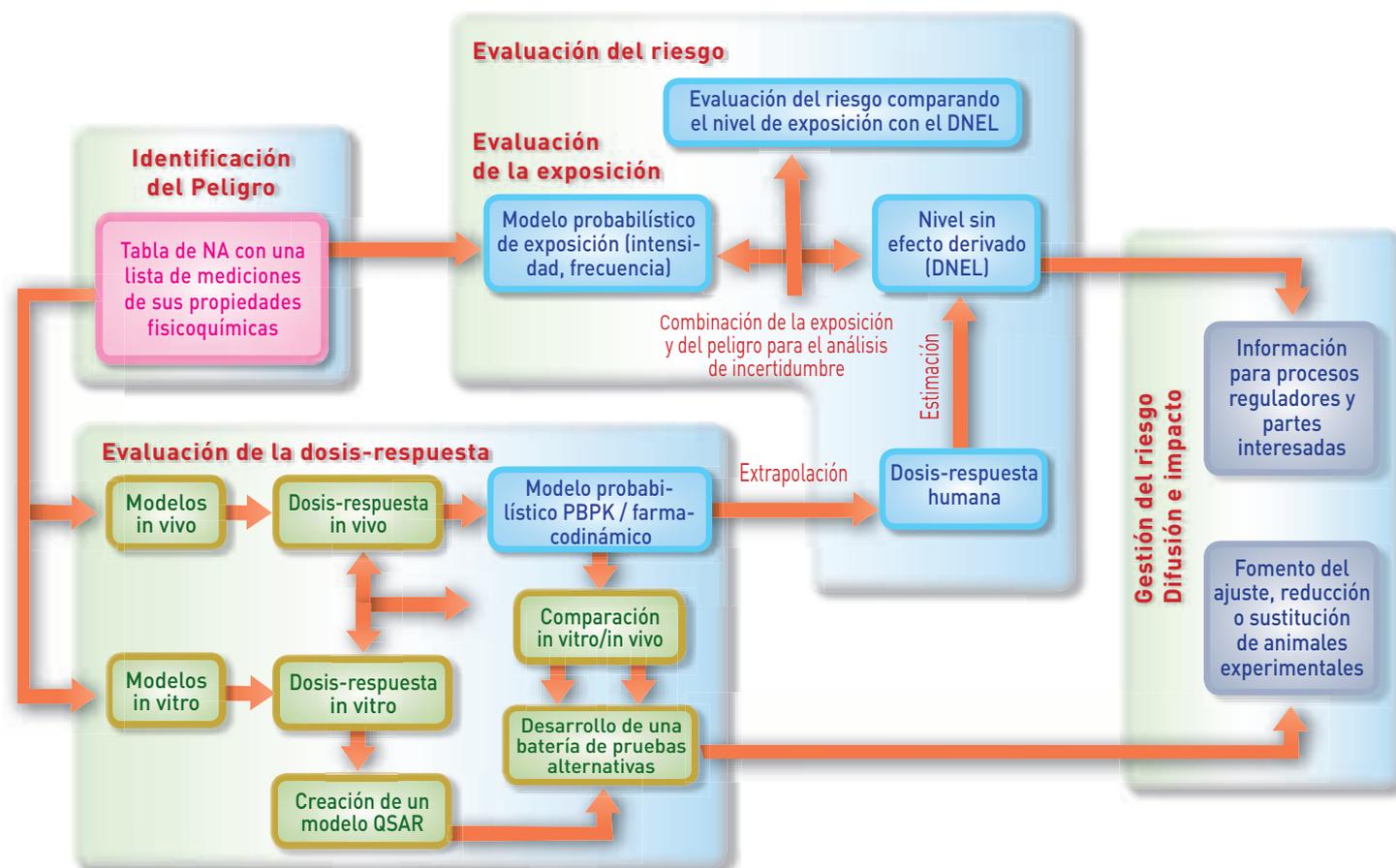


Figura 3. Fundamentos del sistema ERNA.

### Un sistema de evaluación de riesgos para las nanopartículas artificiales (ERNA)

Es evidente la necesidad de adoptar un sistema de ERNA. El principal objetivo de la ERNA consiste en desarrollar e instaurar un nuevo sistema integral para la evaluación de los riesgos de las NA. Este enfoque se basa en el paradigma de exposición-dosis-respuesta de las NA (figura 2), según el cual, la exposición a NA 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. La dosis acumulada en un órgano puede dar lugar a efectos adversos de tipo dosis-respuesta.

Tomando el enfoque tradicional de la evaluación de riesgos como punto de partida, el planteamiento de la ERNA deberá consistir en:

**Identificación del peligro.** Será necesario implantar una serie de mediciones completas de las características fisicoquímicas de las NA, tanto en las muestras de partida como en los tejidos corporales, estableciendo protocolos comunes para la caracterización de las NA.

**Evaluación dosis-respuesta.** Es necesario adoptar sistemas de pruebas *in vitro* utilizando modelos que representen a los sistemas orgánicos más importantes afectados por las NA.

■ Estas pruebas *in vitro* deben verificarse mediante modelos *in vivo* diseñados cuidadosamente para minimizar el número

El gran objetivo del sistema de evaluación de riesgos para las nanopartículas artificiales (ERNA) consiste en desarrollar e instaurar un nuevo sistema integral para la evaluación de los riesgos de las NA

mero de animales necesarios y/o las molestias para ellos.

■ Las pruebas *in vitro* seleccionadas pueden así formar parte de un sistema de pruebas de cribado de alto rendimiento y bajo coste como una manera rentable de probar un amplio número de NA que se espera entren en el mercado de la UE en un futuro próximo.

Los datos *in vitro* se utilizarán para desarrollar un modelo QSAR que relacione las características de las NA con los efectos adversos.

**Evaluación de la exposición.** Una vez revisados los modelos de exposición existentes entre el público, será necesario construir un modelo de exposición a las

NA en entornos laborales. El sistema tradicional de evaluación de riesgos se ampliará mediante la cuantificación de la incertidumbre en la exposición a las NA.

**Evaluación del riesgo.** Es muy importante ampliar el actual enfoque de evaluación del riesgo para las NA creando modelos matemáticos específicos y ade-

cuados de exposición-dosis-respuesta, incluyendo análisis de incertidumbre.

El planteamiento que propone la ER-NA está en línea con los importantes retos descritos en el artículo de *Nature* [4]. La figura 3 muestra un diagrama en el que se resumen los fundamentos de la ERNA. ♦

PARA SABER MÁS

[1] Unión Europea: Dirección General de Investigación, Unidad de Información y Comunicación. Nanotechnology innovation for tomorrow's world. 56 pp. 2004.

[2] Hood, E. Nanotechnology: looking as we leap. *Environmental Health Perspectives*, 2004, (112) A740-A749.

[3] The Royal Society and the Royal Academy of Engineering. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. 2004.

[4] Maynard, AD; Aitken, R. J; Butz, T; Colvin, V; Donaldson, K; Oberdorster, G; Philbert, MA; Ryan, J; Seaton, A; Stone, V; Tinkle, SS; Tran, CL; Walker, NJ; Warheit, DB. Safe handling of nanotechnology. *Nature*, 2006, (444) 267-269.

[5] Renn, O; Roco, MC. Nanotechnology and the need for risk governance. *Journal of Nanoparticle Research*, 2006, (8) 153-191.

[6] NRC (U.S. National Research Council). Risk assessment in the federal government: Managing the process. National Academy Press, Washington, DC. 1983.

[7] Hoet, PH; Nemmar, A; Nemery, B. Health impact of nanomaterials? *Nature Biotechnology*, 2004, (22) 19.

[8] Dick, CA; Brown, DM; Donaldson, K; Stone, V. The role of free radicals in the toxic and inflammatory effects of four different ultrafine particle types. *Inhalation Toxicology*, 2003, (15) 39-52.

[9] Stone V; Brown DM; Watt, N; Wilson, M; Donaldson, K; Ritchie, H; MacNee, W. Ultrafine particle-mediated activation of macrophages: intracellular calcium signalling and oxidative stress. *Inhalation Toxicology*, 2001, (12, Suppl 3) 345-351.

[10] Knaapen, AM; Borm, PJ; Albrecht, C; Schins, RP. Inhaled particles and lung cancer. Part A: Mechanisms. *International Journal of Cancer*, 2004, (109) 799-809.

[11] Duffin, R; Tran, CL; Brown, DM; Stone, V; Donaldson, K. Pro-inflammatory effects of nanoparticles in vivo and in vitro: highlighting the role of particle surface area and surface reactivity. *Inhalation Toxicology*, 2008, (19) 849-856.

[12] Bhatnagar, A. Environmental Cardiology: Studying Mechanistic Links Between Pollution and Heart Disease. *Circulation Research*, 2006, (99) 692-705.

[13] Hamoir, J; Nemmar, A; Halloy, D; Wirth, D; Vincke, G; Vanderplassen, A; Nemery, B; Gustin, P. Effect of polystyrene particles on lung microvascular permeability in isolated perfused rabbit lungs: role of size and surface properties. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2003 (190) 278-285.

[14] Brown, DM; Donaldson, K; Stone, V. Role of calcium in the induction of TNF $\alpha$  expression by macrophages on exposure to ultrafine particles. *Annals of Occupational Hygiene*, 2002, (46 Suppl 1) 219-222.

[15] Hussain, SM; Hess, KL; Gearhart, JM; Geiss, KT; Schlager, JJ. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicology in Vitro*, 2005, (19) 975-983.

[16] Khandoga, A; Stampfl, A; Takenaka, S; Schulz, H; Radykewicz, R; Kreyling, W; Krombach, F. Ultrafine particles exert prothrombotic but not inflammatory effects on the hepatic microcirculation in healthy mice in vivo. *Circulation*, 2004, (109) 1320-1325.

[17] Singh, R; Pantarotto, D; Lacerda, L; Pastorin, G; Klumpp, C; Prato, M; Bianco, A; Kostarelos, K. Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2006, (103) 3357-3362.

[18] Kim, Y; Kim, J; Cho, H; Rha, D; Kim, J; Park, J; Choi, B; Lim, R; Chang, H; Chung, Y; Kwon, I; Han, B; Yu, I. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology*, 2008, (20) 575-835.

[19] Board on Environmental Studies and Toxicology (BEST). Science and Judgment in Risk Assessment. The National Academic Press, 1994, 449-450.

[20] Slob, W. Dose-response modeling of continuous endpoints. *Toxicological Sciences*, 2002, (66) 298-312.

[21] Slob, W; Janer, G; Bessems, J; Hakkert, BC; Sips, AJ; Verhoef, A; Wolterink, G; Piersma, AH. Quantitative in vitro - in vivo extrapolation: An analysis of 19 compounds of varying embryotoxic potency. RIVM report 340720001, 2007.

[22] Bokkers, BG; Slob, W. A comparison of ratio distributions based on the NOAEL and the benchmark approach for subchronic-to-chronic extrapolation. *Toxicological Sciences*, 2005, (85) 1033-1040.

[23] Bokkers, BG; Slob, W. Deriving a data-based interspecies assessment factor using the NOAEL and the benchmark dose approach. *Critical Reviews in Toxicology*, 2007, (37) 355-373.

[24] Donaldson, K; Stone, V. Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanita*, 2003 (39) 405-410.

[25] Donaldson, K; Tran, C.L. Inflammation caused by particles and fibers. *Inhalation Toxicology*, 2002, (14) 5-27.

[26] Tran, CL; Buchanan, D; Cullen, RT; Searl, A; Jones, AD; Donaldson, K. Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence of particle surface area on inflammation and clearance. *Inhalation Toxicology*, 2000, (12) 1113-1126.

[27] Simon, A; Thiebault, C; Reynaud, C; Gouget, B; Carriere, M. Toxicity of oxide nanoparticles and carbon nanotubes on cultured pneumocytes: Impact of size, structure and surface charge. *Toxicology Letters*, 2006, (164) 15-41.

[28] Nel, A; Xia, T; Madler, L; Li, N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 2006, (311) 622-627.

[29] Donaldson, K; Tran, CL; Borm, PJA. Chapter 22. The toxicology of inhaled particles: Summing up an emerging conceptual framework. Particle toxicology. Eds. Donaldson, K; Borm, P. CRC Press, Boca Raton USA. 413-424. 2007.

[30] Navrotsky, A. Energetic clues to pathways to biomineralization: precursors, clusters, and nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2004, (101) 12096-12101.

[31] Tielemans, E; Warren N; Schneider, T; Tischer, M; Pitchie, P; Goede, H; Cherrie, JW. Tools for regulatory assessment of occupational exposure: development and challenges. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 2007, 1-9.

[32] Paik, SY; Zalk, DM; Swuste, P. Application of a pilot control banding tool for risk level assessment and control of nanoparticle exposures. *Annals of Occupational Hygiene*, 2008, (52) 419-428.

[33] Morgan G; Henrion, M. Uncertainty - A guide to dealing with uncertainty in quantitative risk and policy analysis. Cambridge University Press, 1990.