

Membrana celular y la inespecificidad de las nanopartículas. ¿Hasta dónde puede llegar un nanomaterial dentro de la célula?

Cell membrane and the nonspecificity of nanoparticles. How far can a nanomaterial go into the cell?

A. G. Rodríguez-Hernández,^{*1} J. C. Aguilar Guzmán,* R. Vázquez-Duhalt*

ABSTRACT: In this work we review the different mechanisms of interaction of nanoparticles (NPs) with the cell membrane. These mechanisms are so varied that they can even be influenced depending on the type of nanoparticle, its chemical nature, shape and dimensions. Regardless of the entry route of the NPs, both inside the organism and inside the cell, these will trigger different cellular responses. The routes of exposure to the different types of nanoparticles will be as diverse as their applications, putting a controversial issue on the table about the possible effects on the environment and, as a consequence, constitutes a public health problem.

KEYWORDS: nanoparticle, cell membrane, cell membrane receptors.

RESUMEN: En este trabajo hacemos una revisión de los diferentes mecanismos de interacción de las nanopartículas (NPs) con la membrana celular. Estos mecanismos son tan variados que incluso pueden verse influenciados en función del tipo de nanopartícula, su naturaleza química, forma y dimensiones. Sin importar la vía de entrada de las NPs, tanto al interior del organismo, como al interior de la célula, éstas desencadenarán diferentes respuestas celulares. Las vías de exposición a los diferentes tipos de nanopartículas serán tan diversas como lo son sus aplicaciones, poniendo sobre la mesa un tema controversial acerca de los posibles efectos en el ambiente y, como consecuencia, constituye un problema de salud pública.

PALABRAS CLAVE: nanopartículas, membrana celular, receptores de membrana.

Industria de los nanomateriales en productos de uso común

Los llamados materiales nanoestructurados tanto cerámicos, metálicos, como polímeros o compuestos se caracterizan por poseer dimensiones del orden de nanómetros, lo cual les confieren diferentes propiedades comparado con su

Recibido: 2 de julio de 2017.

Aceptado: 14 de octubre de 2017.

* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Nanociencias y Nanotecnología, Ensenada, Baja California, México.

¹ Autor para correspondencia: (agrodriuez@cnyun.unam.mx).

material microestructurado, proporcionándole ventajas tales como una mayor relación área superficial/ volumen. Esta característica les permite, por ejemplo: ser altamente reactivos en diferentes aplicaciones en el área química, o, conferirle una mayor resistencia, en el caso de materiales compuestos con aplicaciones estructurales. Áreas como la medicina, la odontología, la farmacología, la biotecnología, óptica, catálisis, microelectrónica, producción y almacenamiento de energía, industria alimentaria, productos de cuidado personal (pastas dentales, bloqueadores solares, cosméticos), entre muchas otras están siempre en búsqueda de nuevas tecnologías para mejorar el producto final.

Materiales nanoestructurados como el óxido de titanio (TiO_2), que debido a sus propiedades características es el nanomaterial más manufacturado a nivel mundial, es usado como pigmento para pinturas (CI-6 o CI 77891); rellenos en cerámicos, aditivos para alimentos (E-171), productos de uso personal como pasta dental o cremas con filtros UV (Pandurangan, 2016), así como excipientes de medicamentos (RCL-452, RCL-6, RCL-722, RL-11A, RL18, RL91, AT-1 y 3) (Rollerova, 2015). De igual manera, las nanopartículas (NPs) de plata con una producción global anual de aproximadamente 55 toneladas (Piccinno, 2012); son otras NPs ampliamente usadas en diversos productos comerciales debido a su actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral; lo cual ha hecho que se use en múltiples aplicaciones como recubrimientos de dispositivos contraceptivos, aplicaciones en sistemas caseros de purificación y filtración del agua potable, detergentes, textiles, productos cosméticos, pinturas, juguetes, teléfonos, etc. Además, las NPs de plata han demostrado facilitar los procesos de cicatrización por lo que, junto con el efecto antimicrobiano, hacen una excelente opción para su uso en apósitos para lesiones cutáneas (Nair, 2007).

Otro ejemplo son las nanopartículas de carbón que con diversas formas y dimensiones tienen varias aplicaciones, las cuales son utilizadas como materiales de recubrimientos, en microelectrónica, almacenamiento de energía, biotecnología o como rellenos en matrices poliméricas (De Volder, 2013).

Es claro que cada día estamos en contacto directo con una amplia gama de productos que contienen materiales nanoestructurados de diferente naturaleza química, forma y dimensiones. Esto hace también que las vías de exposición a los diferentes tipos de nanopartículas sean tan diversas como lo son sus aplicaciones, poniendo sobre la mesa un tema controversial acerca de los posibles efectos en el ambiente y como consecuencia un problema de salud pública.

Toxicidad de los materiales nanoestructurados

Algunos estudios realizados con materiales nanoestructurados como las NPs de TiO_2 , como el elaborado en 2007 por la compañía Dupont®, en el cual se evaluó su citotoxicidad, se concluye que presentan un bajo potencial de riesgo para la salud, sus descubrimientos son: bajo potencial inflamatorio en pulmones o ligero enrojecimiento reversible de la conjuntiva en animales de

experimentación como ratones y conejos. Sin embargo, en su trabajo mencionan haber observado una inhibición de la actividad mitótica en células de ovario de hámster a $>750\mu\text{g/mL}$ (Warheit, 2007). A pesar de las múltiples aplicaciones del TiO_2 los efectos en el medio ambiente, inocuidad y toxicidad son un tema de controversia actual. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha clasificado a las NPs de TiO_2 , como posibles agentes carcinogénicos (Grupo 2B) y la European Chemicals Agency abrió la propuesta de clasificar al TiO_2 como carcinogénico (Car 1B) en la Unión Europea (Wallin, 2017), debido a los efectos por su inhalación asociados con una exposición prolongada, para quienes las fabrican o las manipulan durante los diferentes procesos en sus múltiples aplicaciones.

Nanopartículas y sus efectos en la respuesta celular

Son innumerables la cantidad de artículos que han demostrado los efectos y daños en diferentes tipos de células, en contacto con muy diferentes tipos, tamaños y formas de nanopartículas en estudios *in vitro*. Se ha reportado, principalmente, que éstas pueden afectar el potencial de membrana y la función mitocondrial (Hussain, 2005), comprometer la integridad de la membrana celular y afectar la restructuración de los filamentos del citoesqueleto (Mironava, 2010), reducir los niveles de glutatión e incluso incrementar de manera importante los niveles de especies reactivas de oxígeno (Xie, 2011) (Ershova, 2016) (Steyawati, 2014) (Mittal, 2014) (Chairuangkitti, 2013), lo cual puede llevar a las células a apoptosis (Lankoff, 2013) (Mittal, 2014), además de ocasionar alteraciones morfológicas de las células.

En general se ha considerado que las NPs son encapsuladas en vesículas e internalizadas ya sea por mecanismos activos o por penetración pasiva hacia el interior celular. Sin embargo, la internalización no es la única manera por la que las NPs ejercen un efecto en el interior de la célula, pues la interacción de éstas con diferentes receptores de membrana puede desencadenar muy diferentes y variadas vías de señalización intracelular (Shang, 2014).

Membrana celular y los mecanismos de internalización de las NPs

Las NPs pueden entrar al entorno biológico por múltiples vías, tales como la inhalación, la ingesta o en muchos casos, a través de la piel. Una vez dentro, estarán en contacto directo con múltiples y muy variadas biomoléculas, incluyendo proteínas, lípidos, sacáridos, etc. (que se encuentran formando parte de la sangre, la linfa o incluso en los espacios intersticiales e intercelulares), que se adherirán inmediatamente a la superficie de las NPs (formando lo que se conoce como corona) confiriéndole una identidad biológica completamente diferente. Esto hace que la interacción con la membrana celular (MC) se vea influenciada por las variaciones en la especificidad de las NPs,

modificando los mecanismos de internalización y/o activando diferentes vías de señalización intercelular.

La MC es una bicapa de fosfolípidos y diferentes biomoléculas (siendo en su mayoría proteínas), cuya función principal es proteger los organelos celulares aislando del entorno extracelular y controlando la entrada y salida de iones y moléculas, incluidos los materiales nanoestructurados.

De las vías más conocidas y estudiadas para la entrada de las NPs al interior de las células, están los mecanismos activos de internalización: endocitosis, macropinocitosis, fagocitosis y pinocitosis (siendo ésta la más común). Estos mecanismos encapsulan a las NPs en vesículas selectivamente transportadas y se estima que en cada mecanismo está involucrado el tamaño de la partícula, su carga superficial, así como la maquinaria de transporte (Shang, 2014). Sin embargo, se sabe también que existen mecanismos pasivos de internalización en células que no presentan mecanismos de endocitosis como los eritrocitos (Shi-Qiang, 2008).

Por otro lado, también se han reportado diferentes interacciones entre las NPs y proteínas de la MC. Esta interacción puede desencadenar muy variados mecanismos intracelulares, lo cual derivará en diferentes respuestas celulares (Goñi, 2014). Proteínas como la G acopladas a receptores (GPCRs, por su nombre en inglés), los receptores tipo Toll (TLRs) o los canales iónicos son algunos de los ejemplos más representativos.

Internalización por mecanismos activos

Como ya se mencionó anteriormente, los diferentes mecanismos de endocitosis han sido los más estudiados en los cuales se ha visto que existen una gran cantidad de características tanto de la nanopartícula como de la célula (es decir, el tipo de célula y en qué fase de su ciclo celular se encuentra), que influyen en la especificidad del mecanismo de internalización (Shang, 2014), así como la distribución celular (figura 1).

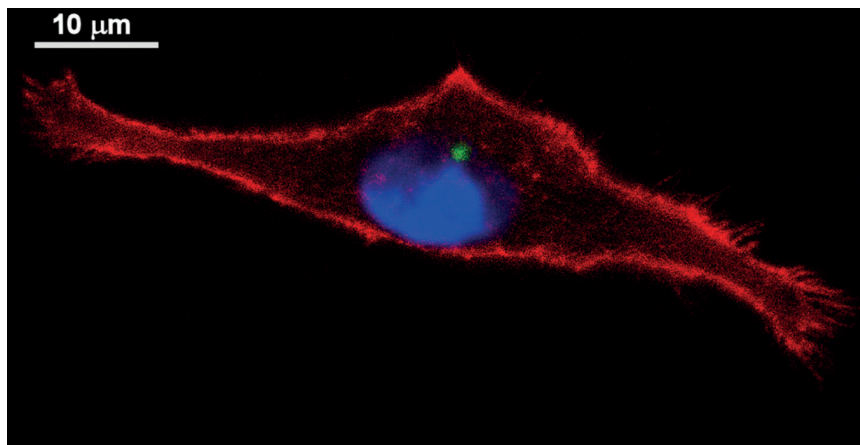
En el caso del tamaño de las NPs, ésta parece que afecta directamente la efectividad del mecanismo de internalización y su cinética, sin dejar a un lado la naturaleza química del mismo. Se ha visto que, en algunos casos, las NPs monodispersas de dimensiones muy pequeñas (entre 1.4-8 nm) (Yang, 2013) (Jiang, 2010) (Tsoli, 2005), se acumulan inicialmente sobre la membrana celular para posteriormente entrar en la célula gradualmente, mientras que a mayor tamaño, como en el caso de las NPs de Au de 45 nm, el mecanismo de internalización es a través de la endocitosis mediada por la clatrina (Mironava, 2010).

Interacción con receptores de membrana celular y señalización intercelular

GPCRS

Hasta el día de hoy se han identificado aproximadamente 800 tipos de proteínas G asociados con receptores (GPCRs) en el humano (Venter, 2001), las cua-

FIGURA 1. Micrografía de una nanopartícula de óxido de silicio con fluoresceína (verde), localizada en el interior de un macrófago (P338D-1) por microscopía confocal. Marcado en rojo: la α -tubulina (DM1A) y en azul el núcleo (DAPI).



Fuente: Rodríguez-Hernández A. G.

les, se sabe, están directamente relacionadas con muy particulares y diferentes mecanismos de señalización celular, como: la percepción de las señales extracelulares que pueden incluir a los protones, pequeñas moléculas o proteínas e iones; ser el blanco de diferentes fármacos (Venkatakrishnan, 2013), o, regular la reorganización tanto de la membrana celular así como de las fibras de actina del citoesqueleto, esto último se debe a que las GPCRs se adhieren directamente con las proteínas Rac1 y Rac2 a la membrana celular (Bigay, 2012).

Dada la amplia gama de señalizaciones vinculadas con la estimulación de las GPCRs, las cuales están directamente relacionadas con el crecimiento, migración y diferenciación de células tanto sanas como tumorales, las convierte en “interruptores moleculares” para el control de vías de señalización intracelular, abriendo una posibilidad de tratamiento con materiales nanoestructurados de diversos padecimientos como el cáncer (Cho, 2008). Muchos trabajos están enfocados en obtener NPs que, además de mejorar la biodistribución del medicamento asociado con el tamaño y propiedades de superficie (las cuales le permiten incrementar el tiempo de permanencia en el torrente sanguíneo), mantengan su alta afinidad celular pero, al mismo tiempo, posean una característica de especificidad para un receptor específico (Hild, 2010). Sin embargo, existe la posibilidad de que la gran cantidad de GPCRs cause mutaciones en células normales convirtiéndolas en tumorigénicas si éstas son expuestas a un exceso local de factores antagonistas (Julius, 1989), y, sin dejar de lado que la sobreexpresión de GPCRs está directamente ligada a la proliferación de células cancerosas (Dorsam, 2007).

Autores como O’Hayre, las han considerado como sitio susceptible y oncogénicos, ya que han mostrado la capacidad de transformar el proto-on-

cogen MAS, presentan un exceso de disponibilidad como receptores y que éstas se sobreexpresan en muchos tipos de cáncer. En su trabajo, explica que estos receptores han sido ligados directamente con el crecimiento de células tumorales en ciertos tipos de cáncer, pues se ha visto que éstos pueden desencadenar la activación de G α s por acción de COX-2, lo cual puede promover un incremento en la expresión de factores pro-angiogénicos como VEGF, CXCL8 y CXCL5, menciona también que una inadecuada activación del complejo GPCRs/proteína G, puede ocasionar una señalización que puede ocasionar el inicio de un tumor, así como la progresión y metástasis del mismo [O'Hayre 2014].

TLRS

Los TLRs, son receptores de reconocimiento de patrones con una función única y esencial en la inmunidad animal. Estudios recientes han demostrado que los TLRs tienen un papel crucial en el reconocimiento de la firma molecular de infecciones microbianas, induciendo diferentes vías de señalización (Appelquist, 2002). Y, no hace mucho, se descubrió que este receptor es sumamente necesario al iniciar la respuesta inmune de los macrófagos al estar en presencia de nanopartículas (Ho, 2013). Al parecer, los macrófagos son propensos a volverse disfuncionales si aumenta la carga de nanopartículas en su interior. Esto puede deberse a la sensibilidad de los macrófagos a ligeras variaciones en su entorno por su propia naturaleza, relacionada con su actividad fagocítica como célula involucrada en la respuesta inmunitaria innata (Eidukaite, 2004). Además, Roy y colaboradores observaron el comportamiento de los receptores TLRs ante la presencia de nanopartículas de zinc, en el cual se demostró que las nanopartículas indujeron una respuesta inflamatoria (Roy, 2014).

Canales iónicos

Todas las células vivas tienen un potencial de membrana inherente que está determinado por la permeabilidad iónica y se encuentra modulada mediante procesos que incluyen: estimulación eléctrica o agonista, canales iónicos y cambios en las concentraciones iónicas intracelulares frente a extracelulares. Además, el potencial de membrana en sí mismo puede controlar una cantidad de vías intracelulares, incluida la concentración de iones de calcio intracelular, el ciclo celular y la proliferación celular frente a la apoptosis; cada uno es importante no sólo para la estructura y la función de la célula normal, sino también en la progresión de las enfermedades, especialmente del cáncer (Monteith, 2007).

En un estudio, se observó que las nanopartículas de oro producen despolarización de la membrana e incrementan la concentración de iones de calcio por el aumento en el flujo de estos iones y la participación en la liberación de reservas intracelulares de Ca²⁺ (por ejemplo, a través de los canales del receptor IP3 del retículo endoplásmico). Estos cambios pueden dar como

resultado un aumento de apoptosis y una disminución de la proliferación celular, según el tipo de célula. La modulación adicional de la apoptosis y la proliferación puede implicar efectos directos de las nanopartículas en los mecanismos de señalización intracelular (Arvizo, 2010).

Localización de las NPs en diferentes organelos celulares

Las NPs, una vez internalizadas, pueden tomar diferentes rutas dentro de la célula. Por ejemplo, los puntos cuánticos (nanoestructura semiconductor), al interactuar con macrófagos humanos son endocitados rápidamente, posteriormente son dirigidos por el transporte citoplasmático activo al núcleo, al cual ingresan mediante los complejos de poro nuclear hasta llegar al nucleosoma en donde se acumulan (Nabiev, 2007). Además, en la Universidad de Beira Interior, en Portugal, se acaba de realizar un estudio en el cual se da seguimiento a moléculas de ADN con un ligando de nanopartículas de carbonato de calcio para un estudio relacionado con el transporte de fármacos, dando como resultado la acumulación de nanopartículas en citosol, lisosomas e inclusive mitocondrias (Costa, 2017). Incluso se han encontrado NPs de Au con dimensiones de 1.4 nm, incluidas en el núcleo de células MV3 y BLM (metastásicas de melanoma) adheridas a la cadena de ADN (Tsoli, 2005).

Conclusiones

Sin importar la vía de entrada de las NPs, tanto al interior del organismo, como al interior de la célula, es muy importante dejar en claro que éstas desencadenarán diferentes respuestas celulares, que dañarán diferentes organelos, desde la pérdida de sus funciones básicas, la pérdida de su integridad estructural, pudiendo incluso llegar hasta el ADN y desencadenar diferentes vías de señalización intracelular como el mecanismo de apoptosis.

En el caso del uso de las NPs como nanovehículos para el tratamiento de muy diversos y variados padecimientos, incluidos tipos de cáncer (cáncer de mama, leucemia, cáncer de colon), éstas han mostrado una gran efectividad, al ver que pueden afectar estas células; sin embargo, su especificidad (para estas células) es un tema controversial, ya que todos los receptores de membrana en los cuales se ha estudiado la interacción de las NPs existen tanto en células normales como en las afectadas por estas enfermedades. Y hay la probabilidad de que una interacción no deseada con diferentes receptores de membrana, pudiese desencadenar diversas vías de señalización intracelular, pudiendo ocasionar la iniciación, progresión y/o metástasis de un tumor (O'Hayre, 2014) (Lappano, 2012).

Organismos internacionales, como el Center for International Environmental Laws (CIEL, por sus siglas en inglés), han puesto sobre la mesa la innegable necesidad de profundizar en la evaluación del riesgo a la salud vinculado con la nanotecnología. En Latinoamérica, México es el segundo país

en investigación y desarrollo (I+D) en nanotecnologías después de Brasil, entre 2000 y 2012 se publicaron cerca de 4,500 artículos en el área y se estiman 188 empresas que trabajan y/o investigan en el tema (INEGI, 2013; Zá-yago, 2015), por lo tanto, es necesario establecer una normativa para aplicaciones de los nuevos materiales nanoestructurados en productos de uso común, así como en el manejo de sus residuos.

Referencias

- Applequist S. E., Wallin R. P., Ljunggren H. G. (2002). Variable expression of Toll-like receptor in murine innate and adaptive immune cell lines. *Int Immunol*, sept., 14(9): 1065-74. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxf069>
- Arvizo, R. R., Miranda, O. R., Thompson, M. A., Pabelick, C. M., Bhattacharya, R., Robertson, J. D. y Mukherjee, P. (2010). Effect of nanoparticle surface charge at the plasma membrane and beyond. *Nano letters*, 10(7): 2543-2548. <https://doi.org/10.1021/nl101140t>
- Bigay Joelle y Antonny Bruno (2012). Curvature, lipid packing and electrostatics of membrane organelles: Defining cellular territories in determining specificity. *Developmental Cell*, 23(13): 886-895. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2012.10.009>
- Chairuangkittita P., Lawanpraserta S., Roytrakulb S., Aueviriyavitc S., Phummiratchd D., Kulthongc K., Chanvorachotea P., Maniratanachote R. (2013). Silver nanoparticles induce toxicity in A459 cells via ROS-dependent and ROS-independent pathways. *Toxicity in vitro*, 27(1): 330-338. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2012.08.021>
- Cho K., Wnag X., Nie S., Chen Z., Shin D. (2008). Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clinical Cancer Research*, 14(5): 1310-1316. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1441>
- Costa, D., Costa, C., Caldeira, M., Cortes, L., Queiroz, J. A., y Cruz, C. (2017). Targeting of cellular organelles by fluorescent plasmid DNA nanoparticles. *Biomacromolecules*, 18(9): 2928-2936. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b00877>
- De Volder *et al*, Carbon nanotubes: Present and future commercial applications. (2013) *Science*, 339: 535-539. <https://doi.org/10.1126/science.1222453>
- Dorsam R.T., Gukind J.S. (2007). G-protein coupled receptors and cancer. *Nature reviews cancer*, 7: 79-94. <https://doi.org/10.1038/nrc2069>
- Eidukaite A., Tamosiunas V. (2004). Endometrial and peritoneal macrophages: Expression of activation and adhesion molecules. *Am. J. Reprod. Immunol.*, ag., 52(2): 113-7. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2004.00201.x>
- Ershova E. S., Sergeeva V. A., Chausheva A. I., Zhiglo D. G., Nikitina V. A., Smirnova T. D., Kameneva L. V., Porokhovnik L. N., Kutsev S. I., Troshin P. A., Voronov I. I., Khakina E. A., Kostyuk S. V. (2016). Toxic and DNA damaging effects of a functionalized fullerene in human embryonic lung fibroblasts. *Mutational Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 85: 46-57. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2016.05.004>

- Goñi F. M. (2014). The basic structure and dynamics of cell membranes: An update of the Singer-Nicolson model. *Biochemica et Biophysica Acta*.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.01.006>
- Hild W., Pollinger K., Caporale A., Cabrele C., Keller M., Pluym N., Buschauer A., Rachel R., Tessmat J., Breunig M., Geopfeirch A., G. (2010). Protein-coupled receptors function as logic gates for nanoparticles binding and cell uptake. *PNAS*, 8(107): 23, 10667-10672. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912782107>
- Hussain S.M. Hess K.L. Gearthart J.M., Geis K.T. Schlager J.J., (2005). *In vitro* toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.06.034>
- Julius David, Livelli Thomas, Jessel Thomas M. y Axel Richard (1989). Ectopic expression of the serotonin 1c receptor and the triggering of malignant transformation. *Science*, 244, 1057-1062. <https://doi.org/10.1126/science.2727693>
- Lankoff A., Arabski M., Wegierek-Ciuk A., Kruszewski M., Lisowska H., Banasik-Nowak A., Rozga-Wijas K., Wojewodzka M., Slomkowski S. (2013). Effect of surface modification of silica nanoparticles on toxicity and cellular uptake by human peripheral blood lymphocytes *in vitro*. *Nanotoxicology*, 7(3): 235-250.
<https://doi.org/10.3109/17435390.2011.649796>
- Mironava T., Hadjiargyrou M., Simon M., Jurukovski V. (2010). Gold nanoparticles cellular toxicity and recovery: Effect of size, concentration and exposure. *Nanotoxicology*, 4(1): 120-137.
<https://doi.org/10.3109/17435390903471463>
- Mittal S and Pandey A. (2014). Cerium oxide nanoparticles induced toxicity in human lung cells: Role of ROS mediated DNA damage and apoptosis. *BioMed Research International*, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2014/891934>
- Monteith, G. R.; McAndrew, D.; Faddy, H. M.; Roberts-Thomson, S. J. (2007). *Nature Reviews Cancer*, (7), 519-530.
- Nabiev, I.; Mitchell, S.; Davies, A.; Williams, Y.; Kelleher, D.; Moore, R.; Gun'ko, Y. K.; Byrne, S.; Rakovich, Y. P.; Donegan, J. F. et al. (2007). Nonfunctionalized nanocrystals can exploit a cell's active transport machinery delivering them to specific nuclear and cytoplasmic compartments. *Nano Lett.*, 7: 3452-3461
<https://doi.org/10.1021/nl0719832>
- Nair L. S., Laurencin C. T. (2007). Silver nanoparticles: Synthesis and therapeutic applications. *J. Biomed. Nanotechnol.*, 3: 301-316.
<https://doi.org/10.1166/jbn.2007.041>
- O'Hayre M., Degese M. S., Gutkind S. J. (2014). Novel insights into G protein and G protein-coupled receptor signaling in cancer. *Current Opinion in Cell Biology*, 27: 126-135. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2014.01.005>
- Pandurangan M. et al. (2016). *In vitro* therapeutic potential of TiO₂ nanoparticles against human cervical carcinoma cells. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 171: 293-300.
<https://doi.org/10.1007/s12011-015-0551-9>
- Piccinno F. et al. (2012). Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *Journal Nanoparticles Res.*, 14: 1109.
<https://doi.org/10.1007/s11051-012-1109-9>

- Rollerova E. *et al.* (2015). Titanium dioxide nanoparticles: Some aspects of toxicity/ focus on the development. *Endocr Regul*, 49(2): 97-112.
https://doi.org/10.4149/endo_2015_02_97
- Roy, R., Singh, S. K., Das, M., Tripathi, A. y Dwivedi, P. D. (2014). Toll-like receptor 6 mediated inflammatory and functional responses of zinc oxide nanoparticles primed macrophages. *Immunology*, 142(3): 453-464.
<https://doi.org/10.1111/imm.12276>
- Setyawati M. I., Yuan X., Xie J., Leong D. T. (2014). The influence of lysosomal stability of silver nanomaterials on their toxicity to human cells. *Biomaterials*, 35(25): 6707-6715. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.05.007>
- Shang Li, Nienhaus Karin y Nienhaus Gerd Ulrich (2014). Engineered nanoparticles interacting with cells: Size matters. *Journal of Nanobiotechnology*, 12: 5.
<https://doi.org/10.1186/1477-3155-12-5>
- Shi-Qiang L., Rong-Rong Z., Meng X., Xiao-Yu S., Si-De Y., Shi-Long W. (2008). Nanotoxicology of TiO₂ nanoparticles to erythrocyte *in vitro*. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3626-3631. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.012>
- Venkatakrishnan A. J., Depui Xavier, Lebon Guillaume, Tate Christopher G., Schertler Gebhard., Babu M. Madan (2013). Molecular signatures of G-protein-coupled receptors. *Nature*, 494: 185-194.
- Venter J. C., Adams M. D., Myers E. W., Li P. W., Mural R.J., Sutton G. G., Smith H. O., Yandell M., Evans C. A., Holt R. A. *et al.* (2001). The sequence of the human genome. *Science*, 291: 1304-1351. <https://doi.org/10.1126/science.1058040>
- Wallin H. *et al.* (2017). Surface modification does not influence the genotoxic and inflammatory effects of TiO₂ nanoparticles after pulmonary exposure by installation in mice. *Mutagenesis*, 32: 47-57.
<https://doi.org/10.1093/mutage/gew046>
- Warheit D. B. *et al.* (2007). Development of a base set of toxicity tests using ultrafine TiO₂ particles as a component of nanoparticle risk management. *Toxicology Letters*, 171(3): 99-110. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.04.008>
- Xie Y., Williams N. G., Tolic A., Chrisler W., Teeguarden J. G., Maddux B., Pounds J. G., Laskin A., Orr G. (2011). Aerosolized ZnO nanoparticles induce toxicity in alveolar Type II epithelial cells at the air-liquid interface. *Toxicological Science*, 125(2): 450-461. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr251>
- Záyago L. *et al.* (2015). ¿Se estudian los riesgos de los nanomateriales en México? *Temas de Ciencia y Tecnología*, 19(56): 17-27.