

Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud

DRA. PATRICIA C. CARDOSO^a

INTRODUCCIÓN

¿Qué es lo que hace tan especiales a las partículas en nanoescala?

Para realizar una aproximación a este “pequeño-gran mundo” (pequeño en tamaño, pero que actualmente es de una extensa fabricación planetaria) podríamos decir que la fabricación de nanopartículas data de cientos de años atrás, como por ejemplo, los coloides de oro y plata en la famosa copa de Licurgo¹⁻² que data del Imperio Romano –siglo IV– y en los vitraux de las catedrales medievales que le otorgan diferentes propiedades ópticas; o los nanotubos de carbón en las hojas de los sables de Damasco –siglo XIII a XVIII– que le confieren una extraordinaria fuerza y resistencia, siendo que estos últimos son descubiertos por Sumio Iijima recién en 1991.

Es así que, como campos separados, la nanociencia y la nanotecnología sólo surgen en las últimas décadas, luego del desarrollo de instrumentos capaces de visualizar partículas tan pequeñas como los átomos.

En 1981, Binnig y Rohrer inventan el microscopio de efecto túnel, permitiendo observar por primera vez a los átomos individualmente.¹

Se trata de campos de investigación interdisciplinaria, desarrollados en la interfase de la física, química, biología, biología molecular y ciencias de los materiales.³

La **Nanotecnología** se define como la producción y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y tamaño de materiales en la escala nanométrica. Esta escala comprende el nivel

atómico de alrededor de 0,2 nm hasta aproximadamente 100 nm. Su aplicación continúa expandiéndose en informática, imágenes, impresión, catálisis química, cosméticos, medicina, síntesis de materiales², artículos de consumo (textiles, materiales para deporte, recubrimiento de vidrios) etc.⁴

En el caso de la **Nanomedicina**, ésta es la aplicación de la Nanotecnología en vista a realizar diagnóstico médico o tratamiento o prevención de enfermedades, aprovechando las propiedades físicas, químicas y biológicas mejoradas y frecuentemente novedosas de los materiales en nanoescala. En el caso de los nanofármacos, la mayoría de ellos se han investigado y aprobado en oncología y le siguen los antiinfecciosos.

La Nanotecnología (“ingeniería en escala atómica”) no debe ser pensada sólo como un trabajo en dimensiones más pequeñas, sino que permite diseñar materiales que adquieren características únicas.² Estos materiales no obedecen a la química cuántica ni a las leyes de la física clásica.⁴

Aparentemente existiría un punto crítico de aproximadamente 100 nm por debajo del cual aparecen nuevas propiedades físicas, químicas, mecánicas, ópticas. Lo que intriga al mundo científico es que es justamente en

* Copa de Licurgo (siglo IV): es una copa de vidrio dicróico; el oro y plata coloidal permite verlo verde opaco cuando se encuentra iluminado desde afuera, pero de un rojo translúcido cuando la luz brilla desde adentro¹. El oro en nanopartícula es de color rojo en lugar de amarillo; en esta escala, el movimiento de los electrones en el oro se encuentra confinado y con esta restricción las nanopartículas de oro reaccionan de manera diferente a la luz.²

a. Unidad de Toxicología del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez.

esta escala donde se produce la mayor parte de la biología: durante milenios, la naturaleza ha perfeccionado el arte de la biología en la nanoescala. Muchos de los mecanismos internos de las células ocurren naturalmente en dicha escala. Por ejemplo, la hemoglobina es de 5,5 nanómetros de diámetro. Una hebra de ADN, uno de los componentes básicos de la vida humana, presenta alrededor de 2 nanómetros de diámetro.²

Antecedentes del uso de la plata y nanopartículas de plata (Ag-NP) como antimicrobiano

La plata ha sido utilizada desde la antigüedad, principalmente para la desinfección del agua. A partir del siglo XVII se describe como producto medicinal con múltiples propósitos y a fines del siglo XIX se introduce la solución de nitrato de plata para uso en gotas oculares en el recién nacido.

En la década de 1920 la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos aprueba soluciones de plata iónica (electrocoloidales) como agentes antibacterianos.

Existen indicadores de que las partículas de nanoplatina (Ag-NP) se encuentran presentes desde siempre en la naturaleza y que la producción deliberada de nanoplatina se practica desde hace más de 100 años, siendo uno de los nanomateriales más comúnmente utilizados⁵.

El primer reporte de obtención de nanopartículas de plata data de 1889, cuando M. C. Lea informa sobre la síntesis de plata coloidal estabilizada con citrato, procedimiento mediante el cual el tamaño promedio de las partículas obtenidas es de 7 a 9 nm. A partir de 1897 se comercializa un producto bajo el nombre de "Collargol", conteniendo nanoplatina en partículas con un tamaño promedio de 10 nm, y utilizándose para aplicaciones terapéuticas en medicina.

También se describe ya en 1902, la estabilización de nanoplatina utilizando proteínas. En 1953 Moudry patenta un producto con nanopartículas de plata de 2 a 20 nm estabilizadas en gelatina.⁶

Las distintas preparaciones son utilizadas desde hace tiempo por sus propiedades bactericidas en el tratamiento de heridas crónicas.

En los siglos XVII y XVIII se utilizaba el nitrato de plata en el tratamiento de las úlceras,

y más tarde en 1960 se introduce en el tratamiento de las quemaduras.

La introducción de los antibióticos en 1940 determinó una disminución en el uso de la misma, sin embargo en los últimos años como consecuencia de la resistencia bacteriana y una mejora en la tecnología aplicada al uso de polímeros, vuelve a ser utilizada.⁷

NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Nanopartículas (NP) se consideran aquellas con un tamaño entre 1 y 100 nm en al menos una dimensión (escala: 10^9 m). De acuerdo a la disminución del tamaño, el radio entre el área de superficie y el volumen se incrementa en forma muy importante, lo que lleva, como se mencionó anteriormente, a modificaciones significativas en sus propiedades físicas, químicas y biológicas.

Aspecto físico-químico de la Ag

Químicamente, la plata (Ag) posee número atómico 47. El estado de oxidación más común es 1+, sin embargo también se puede hallar como 2+ (ejemplo: en AgF_2 – difluoruro de plata) y 3+ (en $KAgF_4$ – tetrafluoro argéntato de potasio).

Los diversos estados de la plata ya sea como sales, nanopartículas, etc, presentan distintas propiedades, como nanohilos (nanowires) y quantum dots.

SÍNTESIS

¿Cómo se obtienen actualmente las Ag-NP?

Existe un incremento en la variedad de métodos para la producción y aplicación de las Ag-NP. La variedad en los procesos de manufactura también puede resultar en la variación de composición y calidad de las formas de Ag usadas en los productos.

Las diferentes rutas de síntesis de NP conducen a tamaños variables, morfología, e incluso estabilidad. En general, estos métodos se pueden clasificar en tres grandes categorías: de síntesis física, química y biológica (o verde).

En general, los métodos de producción de NP se clasifican como:

- *Top-down* ("técnicas descendentes": se va reduciendo el tamaño de las partículas), y
- *bottom-up* ("técnicas ascendentes": a partir de átomos individuales, se van formando ensambles).

Síntesis física

Los métodos físicos *top-down* involucran usualmente la molienda o desgaste, enfriamiento repetido y la fotolitografía; mientras que en las técnicas *bottom-up* comienzan con un precursor de sal de plata que es reducido en una reacción química.

La nanoplata que se usará en los productos comerciales generalmente se produce acorde a técnicas *bottom-up*, que puede acordar un tamaño y forma de la partícula como también la funcionalización de la nanoplata con los agentes de terminación que las hace adecuadas para aplicaciones específicas.

La evaporación/condensación y la ablación con láser son las principales técnicas físicas para derivar nanoplata a partir de muestras de metal y utiliza un horno cilíndrico bajo presión atmosférica para producirlo.

Estos hornos presentan varios inconvenientes, como por ejemplo, un alto consumo de energía, y requieren un largo tiempo para lograr la estabilidad térmica.

Síntesis química

La reducción química es el método más frecuente de síntesis de nanoplata, utilizando para ello sal de plata, reductores y un estabilizante o agentes de terminación para controlar su crecimiento, el nitrato de plata es frecuentemente utilizada para las Ag-NP, debido a su bajo costo y estabilidad química comparada con otras sales disponibles.

Los estabilizantes incluyen surfactantes y ligandos o polímeros que contienen grupos funcionales como polivinilpirrolidona, polietilenglicol, ácido polimetacrílico, polimetilmetacrilato y otros.

Síntesis biológica

La biosíntesis o síntesis verde de nanoplata es observada en forma continua, y merece mucha atención debido a una creciente necesidad de métodos de síntesis amigables para el medio ambiente, que utilizan agentes reductores y de terminación ecológicos, como son las proteínas, péptidos, carbohidratos, varias especies de bacterias, hongos y levaduras, algas y plantas.

Thomas y col. desarrollan una solución económica para preparar films con nanoplata-quitosano a gran escala (400 nm), utilizando quitosano como un agente quelante y estabilizante; los films demuestran una acción anti-

bacteriana excelente contra *Escherichia coli* y *Bacillus*.⁸

En este caso, el quitosano proviene de los desechos de la industrialización del camarón langostino *Pleuroncodes planipes*. Es biodegradable, biocompatible, pues no se produce respuesta del sistema inmune y no presenta toxicidad, características que unidas a su naturaleza policatiónica, estimulan su empleo en diversas aplicaciones biomédicas.

El quitosano es el producto parcialmente desacetilado de la quitina.⁹

El mecanismo de síntesis biológica incluye la reducción enzimática y no enzimática. La reductasa Nicotinamida adenina dinucleótico fosfato dependiente puede producir Ag-NP por reducción enzimática.

La principal ventaja de la síntesis biológica sobre otros métodos es que evita los solventes orgánicos y reactivos tóxicos. Además, las Ag-NP biosintetizadas son más estables que aquellas producidas químicamente, y pueden permanecer estables durante un largo período de tiempo.

La desventaja es que en el proceso de purificación puede llevar a que las bacterias patogénicas contaminen el producto, por lo que se debe tener precaución en su aplicación médica.

Formulaciones de plata actuales para uso externo

Las formulaciones de la plata para uso externo se detallan en el vademecum del Reino Unido (*ver página siguiente*).

VENDAJES CON PLATA

La plata como agente antimicrobiano ha sido utilizada por cientos de años en el cuidado de las heridas. La misma ha sido utilizada para prevenir o manejar infecciones en su estado sólido (como alambres de plata ubicados sobre las heridas), como soluciones de sales de plata para limpiar heridas (ejemplo: solución de nitrato de plata) y más recientemente como cremas o ungüentos conteniendo compuestos con antibiótico y plata (crema con sulfadiazina de plata –SSD–). Hoy en día la solución de nitrato de plata es menos utilizada pero la crema con SSD ha tenido un lugar importante en el manejo de las quemaduras durante muchos años.

Sin embargo, la crema con SSD es de relativa corta acción y requiere varias aplicacio-

Tabla: Lista de preparaciones que utilizan plata acorde a Farmacopea Británica (2012)

Preparaciones	Usos
Acetato de plata, Borato de plata, alantoinato de plata, Alantoinato de plata y Zinc, Carbonato de plata, Cloruro de plata, Cromato de plata, Glicerolato de plata, Ioduro de plata coloidal, Lactato de plata, Manganita de plata, Polímeros de nylon con plata	Antiséptico (uso similar al nitrato de plata).
Nitrato de plata (1%)	Profilaxis de oftalmía gonocócica neonatal (conjuntivitis neonatal) verrugas, granulomas umbilicales, tejido de sobregranulación y cauterización.
Proteína de plata Plata coloidal	Antisepsia; gotas para los ojos y membranas mucosas.
Sulfadiazina de plata (1%)	Profilaxis y tratamiento de heridas por quemadura, su utilización como un adyuvante en el tratamiento de corto plazo de las infecciones de úlceras en piernas y úlceras de decúbito, y también como adjunto en la profilaxis de las infecciones en sitios donantes de injertos de piel y en abrasiones extensivas. Prevención y tratamiento de infecciones en quemaduras severas Tratamiento ocular de infecciones por <i>Aspergillus</i>

nes. En años recientes se ha desarrollado un amplio rango de vendajes con plata más fáciles de aplicar, con disponibilidad sostenida de plata y con el mantenimiento de un ambiente húmedo en la herida.¹⁰

La plata iónica se utiliza actualmente en un número significativo de vendajes. Con la combinación de polímeros apropiados, se puede potenciar la actividad antimicrobiana de la plata iónica, además de su sustentabilidad, incrementando la cicatrización de las heridas, con un mejor manejo de los fluidos y disminución de la toxicidad.⁸

La plata se aplica sobre quemaduras, sea en la forma de vendajes impregnados o como crema conteniendo sulfadiazina de plata como agente activo. A fines de 1990, se comercializan diversas marcas de vendajes conteniendo Ag, que se encuentran actualmente disponibles como una variedad de fibras con armazones poliméricas impregnadas o cu-

biertas con una sal de plata o plata metálica en forma nanoparticulada.⁷

Robert Burrell desarrolla el primer producto de vendaje con nanoplata comercialmente disponible ("Acticoat", Reino Unido) para tratar heridas, incluyendo quemaduras, úlceras crónicas, necrólisis epidérmica tóxica y pénfigo. Huang y col observan que las heridas en tratamiento con vendajes con Ag-NP reducen el tiempo de curación en un promedio de 3,35 días e incrementa el *clearance* bacteriano de las heridas infectadas comparadas con la sulfadiazina de plata, sin efectos adversos.

Sin embargo, Chen y col demuestran que los vendajes con Ag-NP pueden acelerar la curación en quemaduras superficiales pero no existiría diferencia en quemaduras profundas, comparado con sulfadiazina de plata al 1%. Esto sugiere que las Ag-NP aceleran la reepitelización pero no la angiogénesis.⁵

En 2012 se publica un documento con el

consenso internacional acerca del uso apropiado de los vendajes con plata (*International Consensus 2012*).

Aunque los vendajes con plata se utilizan en forma generalizada, en un estudio reciente y en dos revisiones Cochrane, se concluye que no existe evidencia suficiente para demostrar que los vendajes de plata mejoran el proceso de curación de las heridas.

Sin embargo, existe una creciente preocupación en el cuerpo médico acerca de que un retiro arbitrario de los vendajes con plata pudiera llevar a un incremento de la morbilidad y prolongar el tiempo de tratamiento relacionado a una carga biológica no controlada en la herida.

La Guía internacional sobre el manejo apropiado de vendajes con plata en heridas es provista por un grupo de expertos de Europa, Estados Unidos, Sudáfrica y Australia.¹⁰ En ésta, se calcula que se utiliza para los vendajes con plata el 0,0008% de la producción global anual de plata.

Recomiendan que el rol de los vendajes antimicrobianos, incluyendo los vendajes con plata, debe ser el de “reducir la carga biológica en heridas agudas o crónicas que están infectadas o en las que se previene la infección por microorganismos, en el proceso de curación”, y como “una barrera antimicrobiana para las heridas agudas y/o crónicas en alto riesgo de infección y re-infección”.

También sugieren que “los vendajes con plata deberían ser reservados para su uso en heridas con alta carga biológica o en riesgo de la misma o infección local.” Como ejemplos de estos tipos de heridas mencionan a las quemaduras, las heridas traumáticas y las úlceras en diabéticos.⁸

PROPIEDADES COMO BACTERICIDA

Las sales de plata y las nanopartículas de plata se utilizan —como se expresara anteriormente—, en variadas aplicaciones para el control de infecciones, en forma de apósitos y compresas, que contienen superficies “antimicrobianas” con Ag y Ag-NP.

Resistencia

Las potenciales exposiciones repetidas de las bacterias a bajas concentraciones de plata y Ag-NP podría ser contraproducente; se plantean interrogantes acerca de la posibilidad de selección de bacterias menos sus-

ceptibles y se encuentra documentado un incremento de tolerancia a la plata. Basado en una opinión previa sobre el efecto biocida en resistencia bacteriana a los antibióticos es probable que la distribución y la exposición a largo plazo a Ag-NP impacte sobre la respuesta adaptativa microbiana y dicho riesgo aún debe ser evaluado.

Con el desarrollo de nanotecnologías y nanopartículas, se están explorando nuevas aplicaciones basadas en la combinación de Ag-NP con antibióticos, principalmente contra bacterias resistentes a 3 ó más clases de antibióticos (*multidrug resistant* - MDR). Continúan en discusión los resultados limitados de las aplicaciones clínicas y la combinación de nanomateriales con actividad antibacteriana o antibióticos asistidos (nanoantibióticos). Se observan algunos efectos adversos con dicha combinación de Ag-NP / antibióticos.

Susceptibilidad bacteriana a plata y Ag-NP

Existe un número creciente de informes sobre la actividad bactericida de Ag-NPs. En la literatura se sugiere que las Ag-NP poseen mayor potencia bactericida que la plata iónica *per se*. También se informa que las Ag-NP poseen actividad contra biofilms bacterianos.⁸

Es importante detenerse en el uso de estos biofilms: se trata de comunidades de microorganismos que colonizan distintas superficies biológicas y no biológicas, se encuentran embebidos en una matriz exopolisacárida producida por ellos mismos que se adhiere a superficies o a tejidos vivos.

Estos biofilms constituyen un problema desde el punto de vista terapéutico, ya que retrasan el proceso curativo, no permitiendo la acción de antimicrobianos debido a la alta carga negativa generada por el polisacárido, la que impide que actúe la defensa inmunológica y la acción de distintos antimicrobianos.¹¹

La actividad bactericida de Ag-NP puede ser mejorada con la combinación de polímeros como quitosán y polisacárido catiónico. La actividad antimicrobiana de la plata iónica y Ag-NP depende de su biodisponibilidad y tipo de microorganismo blanco (target). Las limitaciones de la plata iónica utilizada para el tratamiento de heridas por quemadura son la falta de penetración y neutralización con material orgánico; ambos efectos se encuentran adecuadamente reportados.

Se estima que la concentración máxima de la plata iónica disponible, alcanzable en las heridas, es de 1 mcg/ mL. Como resultado, es improbable que la plata iónica elimine las bacterias que ya colonizan la herida. La biodisponibilidad puede ser dramáticamente alterada por formación de complejos, la resorción y precipitación, por ejemplo, en la presencia de cloruro, sulfuro y fosfato, y material orgánico.

En contraste, su actividad no es severamente afectada por dilución

Otros factores que afectan la susceptibilidad bacteriana a plata y Ag-NP

Existen varios factores a tener en cuenta; a modo de ejemplo: El aumento de temperatura o del pH alcalino aumentan en forma modesta la actividad de la plata iónica (aunque algunas combinaciones como la sulfadiazina de plata son inestables a pH alcalino); la duración de la exposición a largo plazo también puede alterar dicha actividad, como la acción de la plata en el tubo endotraqueal que puede prevenir la formación de biofilm durante unos pocos días pero no si se utiliza en forma prolongada; la matriz del polímero utilizado también puede afectar la liberación de la plata iónica.

Consideraciones sobre el mecanismo de acción

Generalmente se considera que la plata iónica interactúa con múltiples sitios "target" (objetivos) microbianos. Su actividad antimicrobiana resulta de la combinación y alteración de proteínas microbianas, con eventual disrupción estructural y metabólica.

Para la plata iónica, uno de los principales sitios "target" se encuentra a nivel de la membrana de la célula bacteriana, donde puede inhibir la fuerza motriz de protones y el transporte de electrones de la cadena respiratoria, lo que puede afectar la permeabilidad de la membrana resultando en la muerte de la célula bacteriana.

Se requiere la presencia de humedad para la penetración de plata iónica dentro de la bacteria, lo que pone de relieve algunos problemas potenciales con superficies "antimicrobianas" conteniendo plata "seca".

El mecanismo de acción microbicida de Ag-NP generalmente se encuentra me-

nos estudiado comparado con el de la plata iónica.

Se describen diferentes mecanismos, algunos ligados a la interacción directa con la membrana y otros con la generación de plata iónica. El mecanismo de acción de las Ag-NP se relaciona con su habilidad de generar mayor cantidad de plata iónica e incrementar la producción de especies reactivas de oxígeno.

Ambos, la plata iónica y las Ag-NP parecen compartir un mecanismo de acción similar sobre la membrana objetivo, aunque las Ag-NP son más eficientes para una concentración efectiva en el rango de nanogramos en comparación con el rango de microgramos para la plata iónica.

Sondi y col. (2004) observan la acumulación de Ag-NP en la membrana de la *E. coli* con el consecuente daño a la membrana bacteriana.

Xu y col. (2004) reportan que las Ag-NP con un tamaño que va hasta los 80 nm pueden acumularse dentro de la bacteria (*Ps. Aeruginosa*) y que dicha acumulación puede estar relacionada a la permeabilidad de membrana. Además podrían existir algunas diferencias importantes en las interacciones de Ag-NP entre bacterias Gram-negativas y Gram-positivas; el glutation revestido de Ag-NP demuestra penetrar el citoplasma bacteriano de *E. coli*, resultando en un incremento del efecto antimicrobiano, mientras que en el *S. aureus*, la falta de penetración significa una interacción limitada a la superficie bacteriana.

Los mecanismos de acción microbicidas de las Ag-NP parecen depender del tamaño, aunque se reportan datos conflictivos sobre cuál es el rango de tamaño responsable en conferirle un efecto bactericida.

Las Ag-NP de hasta 80 nm pueden penetrar en la membrana bacteriana interior y exterior, mientras que las Ag-NP con diámetro menor a 10 nm ocasionan fuga citoplasmática por la formación de poros sobre la pared de la célula bacteriana, pero no afectan las proteínas extracelulares del ácido nucleico bacteriano.

Las Ag-NP demuestran afectar la motilidad bacteriana y la quimiotaxis en la *Pseudomonas putida* y en el *Bacillus subtilis*.

La producción de radicales libres en combinación con H_2O_2 es también otra forma de aumentar la actividad bactericida para la desinfección de superficies inanimadas o agua.

Igualmente, una combinación de nanoplata y yodo demuestra dañar la pared de la célula bacteriana y producir especies reactivas de oxígeno causando daño oxidativo en el citoplasma de la célula bacteriana, llevando al efecto bactericida.

En conclusión, existe un número limitado de publicaciones describiendo los mecanismos de la acción biocida de las Ag-NP y la plata iónica. También son conflictivas algunas de las informaciones de la literatura.

Aunque las propiedades de las partículas de Ag-NP pueden explicar algunos efectos de toxicidad bacteriana, se sugiere que el principal factor que confiere la actividad bactericida de las Ag-NP reside en la liberación de iones de plata.

Actualmente, no existe consenso sobre los mecanismos moleculares de interacción de las Ag-NP y la plata iónica con las bacterias.

Existen evidencias de que la plata iónica reacciona con proteínas claves conduciendo a disrupciones estructurales y metabólicas. Se propone un efecto directo sobre la permeabilidad/estabilidad de la membrana bacteriana como un mecanismo específico de las Ag-NP.

Resistencia bacteriana

Algunas de las bases genéticas para la resistencia bacteriana a iones de plata se encuentran bien documentadas, principalmente la expresión de los sistemas de eflujo, bien caracterizados.

Existe escasa información sobre los mecanismos de resistencia a las Ag-NP y también en cuanto al potencial peligro de diseminación del mecanismo de resistencia siguiendo al uso de Ag-NP (diseminación de genes de resistencia al medio ambiente).⁸

POTENCIAL IMPACTO EN LA SALUD

Estudios de Toxicidad

Toxicocinética

En un estudio realizado en ratas, se evaluó la biodisponibilidad de la plata luego de la administración oral de Ag-NP; del mismo se sugiere que un 1 a 4% de la dosis oral llega a la circulación sistémica.

El ingreso de plata por vía inhalatoria fue demostrado a través de su presencia en varios tejidos. Existe la posibilidad que la plata haya sido incorporada vía del tracto gas-

trointestinal, luego de su *clearance* desde el pulmón.

Si bien luego de la distribución sistémica la Ag-NP puede hallarse, aunque en bajas concentraciones, en todo el organismo, los principales órganos "*target*" son bazo, hígado y riñón. Datos recientes indican que puede ocurrir alguna persistencia de plata en cerebro y testículos. Con respecto a cerebro, no queda claro si la plata se encuentra presente en el tejido cerebral o se limita al endotelio cerebral.⁸ Se encuentra descrito que la exposición a nanopartículas puede inducir deterioro de neuronas normales (Tang y col. 2008), microglia (Au y col. 2007), e incluso agravar el proceso patológico cerebral (Tang y col. 2008).

A pesar de que la exposición a nanopartículas como las Ag-NP, se incrementa cada día más, no se encuentran completamente estudiados los efectos de la presencia (o incluso acumulación) de nanopartículas metálicas en cerebro y su pasaje a través de la barrera hematoencefálica, sea por difusión pasiva o por endocitosis mediada por transportadores. Incluso podrían ser tomadas hacia el cerebro mediante transporte transsináptico.

La mayoría de los estudios sobre interacción entre células de Sistema Nervioso Central (SNC) y nanopartículas utilizan metales u óxidos de metales (incluyendo Cu, CuO, Zn y Ag) con líneas celulares neuronales seleccionadas; los más recientes se enfocan en la interacción con membranas celulares de hipocampo. Los efectos de los nanomateriales sobre los canales iónicos se relacionan a los canales Na_p [INa (A)] y K_p [IK(A)].¹²

Toxicidad

a) Efectos adversos en humanos:

Argiria o Argirosis

Los efectos adversos mejor descritos en humanos con exposición crónica a la plata son la decoloración azul-grisácea (argiria o argirosis) de piel u ojos.⁸

Los casos históricos de argiria se observan luego de tratamientos médicos y exposición ocupacional, y más recientemente por el consumo de plata coloidal en suplementos dietarios y del uso de vendajes para heridas recubiertos con plata.

Existen dos reportes en la literatura, sobre individuos que desarrollan argiria luego de la

ingesta de plata coloidal con propósitos de medicina alternativa.

En 2009, la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos emite un alerta a los consumidores con respecto a los suplementos dietarios que contienen Ag.

Vlachou y col demuestran que la Ag se encuentra sistémicamente disponible en pacientes quemados tratados con un vendaje recubierto con Ag nanocristalina (nombre comercial: "Acticoat"). Las concentraciones séricas se observan incrementadas en la exposición a "Acticoat", con concentraciones máximas en un rango de 0,0048 a 0,23 mg/L (promedio: 0,0834 mg/L), pero retorna a lo normal dentro de los 6 meses de tratamiento.

Trop y col. en 2007 observan, en un paciente quemado tratado con vendajes recubiertos con "Acticoat", síntomas de tipo - argiria y la elevación plasmática de Ag (0,107 mg/L), constatando que con los vendajes recubiertos con Ag-NP, la decoloración de la piel era reversible, mientras que por lo contrario la argiria histórica era considerada como un trastorno irreversible sin cura conocida, incluyendo el tratamiento con quelantes de metales.¹³

Las restauraciones dentales que contienen plata (aún aquellas con plata no nanoparticulada) pueden ocasionar reacciones alérgicas de contacto, que pueden ser demostradas por testeo con parche, en un pequeño número de personas.⁸

b) Efectos adversos en animales

La mayoría de los estudios toxicológicos con Ag-NP en animales se encuentran limitados a la administración inhalatoria u oral (mientras que en realidad la mayor vía de exposición en la población humana es la dérmica).

- En los últimos estudios en animales que son expuestos a AgNO₃, se observa inflamación pulmonar mínima o reacción citotóxica, luego de las exposiciones subagudas. Sin embargo, serían necesarias exposiciones de largo plazo con mayor carga de plata para asegurar que no existen efectos crónicos y también para evaluar una posible translocación de Ag-NP a otros órganos.¹⁴
- En varios estudios de toxicidad en animales se observa la elevación de enzimas hepáticas, indicando toxicidad luego de

la administración de nanopartículas. Sin embargo, no pudo observarse por histopatología.

c) Estudios in vitro:

Efectos en el sistema inmune

Estudios in vitro muestran que las Ag-NP, al igual que muchas otras nanopartículas, pueden inducir la producción de citoquinas en macrófagos.

In vivo no se ha podido demostrar claramente si la exposición oral a nanoplatina produce en forma consistente respuestas inmunes no específicas. Sin embargo, se ha demostrado que cuando se lo utiliza por administración Intravenosa el sistema inmune es el "target" más específico para ocasionar la toxicidad por Ag-NP.

(Reacciones alérgicas: Como se menciona previamente, las restauraciones dentales que contienen plata pueden ocasionar reacciones alérgicas de contacto).

d) Estudios in Vitro:

Genotoxicidad

In vitro, varios estudios dan cuenta de efectos genotóxicos por nanoplatina.

Debido a que los estudios disponibles sobre genotoxicidad in vivo por Ag-NP son pocos y se refieren a Ag-NP de características variables, se requieren estudios posteriores para concluir si las Ag-NP pueden ser genotóxicas in vivo.

Se justifica realizar estos estudios debido a que en investigaciones de corta exposición en ratas y ratones las Ag-NP, introducidas por vía inhalatoria en diferentes tamaños y dosis, inducen estrés oxidativo e inflamación.

e) Toxicidad en el medio ambiente

Fuentes potenciales

En cuanto a las fuentes potenciales de nanopartículas de plata para el medio ambiente, se incluyen varios productos que llegan a los consumidores, como por ejemplo los textiles, electrónicos, cosméticos, envases de alimentos, dispositivos médicos, desinfectantes de agua y aerosoles ambientales. Una de las dificultades de cuantificar dicho uso se encuentra en que las regulaciones en varios países aún no requieren que se especifique la naturaleza del nanomaterial en los rotulados.⁸

Considerando la utilización de varios compuestos de plata como Biocidas en productos

textiles (compuestos con nanoplata y plata que no se encuentra en tamaño nano), se estima que el uso global de plata como biocida es de aproximadamente 0,5% del total de plata que se utiliza (más de 150.000 toneladas por año). De la cantidad utilizada en textiles, la Ag-NP puede constituir una fracción de aproximadamente 10%.⁸

Actualmente no existen medidas acerca de la incineración de los productos que contienen nanoplata, pero dependiendo del tamaño del material, los modelos predictivos refieren una liberación de 25 a 100% de NP transmitidas por el aire, que son efectivamente captadas por los sistemas de filtro.

En Europa, la principal ruta de exposición ambiental a compuestos de plata en textiles y cosméticos se realiza a través de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

La liberación desde las plantas de tratamiento de aguas residuales hacia el suelo y superficies de agua posiblemente sea baja; sin embargo, puede ocurrir la liberación de concentraciones tóxicas a algunas especies.

Cuando se liberan al medio ambiente, las Ag-NP sufren varias transformaciones.

Luego de su agregación y aglomeración, lo importante es su disolución y subsecuente especiación, como la formación de cloruro de plata y sulfuro de plata. Este último es particularmente importante debido a que es altamente estable; el sulfuro se encuentra disponible en las plantas de tratamiento de aguas residuales y también en muchos cuerpos de agua dulce.

Las especies químicas que se encuentran presentes determinan la biodisponibilidad y toxicidad de la plata en el medio ambiente. Una gran fracción de la plata liberada a los cuerpos de agua dulce se absorbe a la materia particulada en suspensión y es transferida a los sedimentos, donde pueden ser almacenados, sufrir transformaciones, acumularse, o resuspenderse, dependiendo de condiciones físicas, químicas y biológicas.

Efectos tóxicos en sistemas acuáticos

Las NP pueden inducir efectos deletéreos en sistemas acuáticos así como también en la vida acuática. Se observa una variedad de cambios de causa tóxica en peces y embriones expuestos a NP, incluyendo cambios relacionados al estrés oxidativo, como la oxidación lipídica, apoptosis, y cambios en la expresión génica.*

La plata recibe mucha atención debido a su toxicidad a concentraciones iónicas bajas¹⁵⁻¹⁶, aunque pocos investigadores han estudiado la toxicidad de nanomateriales metálicos en medios acuáticos. Entre las especies que se utilizan se encuentran los embriones de zebrafish, en quienes el tratamiento con Ag-NP induce anomalías circulatorias y morfológicas, detectándose cambios apoptóticos.¹⁵ En el pez medaka, Yun Ju Chaea (2009) determina que la metalotioneína (una proteína ligante de metales) es un buen biomarcador para la exposición a metales.¹⁶

Efectos tóxicos en suelos:

Las condiciones del suelo son complejas y variables; por lo tanto es extremadamente difícil realizar predicciones genéricas sobre el destino de la plata en el medio ambiente.

La Biodisponibilidad de Ag-NP en suelos depende tanto de la partícula como de las propiedades del suelo. Experimentos con Ag-NP retenida en el lodo del sedimento, muestran muy poca lixiviación** de la plata (partículas y/o iones al agua).

CONCLUSIONES

La utilización y el potencial impacto en la salud de las nano partículas de plata deben incluir un abordaje multidisciplinario. Son variados los debates que existen acerca de los efectos adversos ocasionados por especies de Ag-NP en el medio ambiente. Aunque es generalmente aceptado considerar que la disolución de las Ag-NP produce por lo menos algún grado de toxicidad bajo la exposición a las mismas, los efectos no pueden ser totalmente atribuidos a la fracción disuelta de plata medida.

Actualmente se hace cada vez más evidente que ciertas Ag-NP pueden mostrar baja solubilidad en ciertos medios y condiciones,

* La **expresión génica** es el proceso por medio del cual todos los organismos *procariontas* y *células eucariotas* transforman la información codificada por los *ácidos nucleicos* en las *proteínas* necesarias para su desarrollo y funcionamiento.

** La **lixiviación**, o extracción sólido-líquido, es un proceso en el que un *disolvente* líquido pasa a través de un sólido pulverizado para que se produzca la disolución de uno o más de los componentes solubles del sólido.

pudiendo existir liberación de iones y posterior contacto con receptores biológicos, con la posibilidad de mantenerse durante un período de tiempo prolongado.

Es necesario considerar dos puntos importantes:

- a) No todos los métodos convencionales utilizados para determinar la solubilidad de Ag-NP son capaces de reflejar la disponibilidad de Ag⁺.
- b) probablemente sea complejo y aún no se encuentra estudiada la determinación de las interacciones dinámicas entre Ag-NP y receptores bióticos, incluyendo la liberación sostenida de plata.⁸

Por lo tanto, la potencial toxicidad de las Ag-NP tanto en humanos como en otros seres vivos amerita realizar investigaciones nuevas y más complejas que permitan encarar una evaluación riesgo/beneficio de los productos que se fabrican con nanoplata. Si bien la utilización de dichos productos continúa en aumento, persisten aún varios interrogantes en este campo.

BIBLIOGRAFÍA

1. United States National Nanotechnology Initiative. Nanotechnology timeline. En: <http://www.nano.gov/timeline>.
2. United States National Nanotechnology Initiative. What's So Special about Nanoscale? En: <http://www.nano.gov/nanotech-101/special>.
3. Kurath M, Maasen S. Toxicology as a nanoscience? Disciplinary identities reconsidered. Part Fibre Toxicol. 2006;3:6.
4. Frejo M, Díaz M, Lobo M, García J, Capó M. Nanotoxicología ambiental: retos actuales. Medicina Balear 2011;26 (2);36-46.
5. Liangpeng Ge et al. Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. International Journal of Nanomedicine 2014:9.
6. Nowack B et al. 120 years of Nanosilver History: Implications for Policy Makers. Environ. Sci. Technol. 2011;45:1177-1183.
7. Rigo C, Ferroni L, Tocco I, Roman M, Munivra-na I, Gardin C, Cairos W, Vindigni V, Azzena B, Barbante C, Zavan B. Active Silver Nanoparticles for Wound Healing. Int. J. Mol. Sci. 2013, 14, 4817-4840; doi:10.3390 / ijms 14034817.
8. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). European Commission. Nanosilver safety, health and environmental effects and role in antimicrobial resistance. 2014.
9. Sanchez B et al. Síntesis y caracterización de hidrogeles de quitosano obtenido a partir del camarón langostino (*Pleuoncodes planipes*) con potenciales aplicaciones bionédicas. Rev Iberam Polim 8(4),241-267(2007).
10. Wounds International 2012. Appropriate use of silver dressings in wounds. International Consensus. 2012.
11. Palanisami et al. Antibiofilm properties of chemically synthesized silver nanoparticles found against *Pseudomona aeruginosa*. J. Nanobiotechnology 2014;14:2.
12. Yang Z, Liu Z, Allaker R, Reip P, Oxford J, Ahmad Z, Ren G. A review of nanoparticle functionality and toxicity on the central nervous system. J. R. Soc. Interface (2010) 7, S411-S422. doi:10.1098/rsif.2010.0158.focus
13. Leavens T, Monteiro-Riviere N, Inman A, Brooks J., Oldenburg S, Riviere J. In vitro biodistribution of silver nanoparticles in isolated perfused porcine skin flaps. J Appl Toxicol. 2012 November;32(11):913-919. doi:10.1002/jat.2750.
14. Korani M, Mahdi Rezayat S, Arbabi Bidgolic S. Sub-chronic Dermal Toxicity of Silver Nanoparticles in Guinea Pig: Special Emphasis to Heart, Bone and Kidney Toxicities. Iranian Journal of Pharmaceutical Research (2013),12(3):511-519.
15. Ji Eun Choia, Soohee Kima, Jin Hee Ahna, Pilju Youna, Jin Seok Kangb, Kwangsik Parkc, Jongheop Yid, Doug-Young Ryua. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. Aquat. Toxicol. (2010), doi:10.1016/j.aquatox.2009.12.012.
16. Yun Ju Chaea,1, Chi Hoa Phama,1, Jinwon Leeb, Eunjoo Baec, Jongheop Yic, Man Bock Gua, Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) Aquatic Toxicology 94 (2009) 320-327.

Texto recibido: diciembre 2015

Aprobado marzo 2016