



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**Posgrado en Ciencias en  
Bioprocesos**

**Efecto de nanopartículas de plata en un  
modelo *ex vivo* de intestino delgado de  
roedor**

Tesis que para obtener el grado de  
**Doctor en Ciencias en Bioprocesos**

Presenta

**Chávez Hernández Jorge Antonio**

Directora de Tesis

**Dra. María del Carmen González  
Castillo**



REPOSITORIO INSTITUCIONAL



## **UASLP-Sistema de Bibliotecas**

### **Repositorio Institucional Tesis Digitales Restricciones de Uso**

#### **DERECHOS RESERVADOS**

#### **PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo, mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Efecto de nanopartículas de plata en un modelo ex vivo de intestino delgado de roedor ©  
2024 by Chávez Hernández Jorge Antonio is licensed under [Creative Commons  
Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Este proyecto se realizó en Laboratorio de Fisiología Celular adscrito a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en el periodo comprendido entre Agosto de 2019 y Julio de 2023, bajo la dirección de la Dra. María del Carmen González Castillo y fue apoyado por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología mediante el fondo “Problemas Nacionales”.

El programa de Doctorado en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados de Calidad (SNP) del CONAHCYT, registro PN-2017-01-4710. Número de la beca otorgada por CONAHCYT: 756756. Número de CVU 708574.

Los datos del trabajo titulado Efectos de nanopartículas de plata en un modelo ex vivo de intestino delgado de roedor se encuentran bajo el resguardo para su uso en el Laboratorio de Fisiología Celular de la Facultad de Ciencias Químicas y pertenecen a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



**UASLP**  
Universidad Autónoma  
de San Luis Potosí

San Luis Potosí. S.L.P.  
Noviembre 29, 2019.

**DRA. MARÍA DEL CARMEN GONZÁLEZ CASTILLO**  
Profesor Investigador  
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos.  
FCQ/UASLP  
Presente.

**Estimada Dra. María Del Carmen González Castillo**

Habiendo revisado su solicitud para el registro de título de tesis del **MC. Jorge Antonio Chávez Hernández** estudiante de Doctorado en Ciencias en Bioprocesos.

Esta Coordinación a mi cargo, le informa que el Comité Académico del Posgrado (CAP), avaló y consideró **APROBADO** el registro de Título de tesis:

**“Efecto de nanopartículas de plata en un modelo ex vivo de intestino delgado de roedor”**

El protocolo de este registro de tesis, **NO** requiere ser avalado por el Comité de Ética en Investigación y Docencia (CEID).

Sin otro particular me es grato saludarlo.

**Atentamente**



**Dra. Luz María Teresita Paz Maldonado**  
Coordinadora del Posgrado en Ciencias en Bioprocesos  
Facultad de Ciencias Químicas, UASLP  
01 (444) 826-2300 Ext. 6540 y 6542



**FACULTAD DE  
CIENCIAS QUÍMICAS**  
Av. Dr. Manuel Nava Núm. 6  
Zona Universitaria • CP 78210  
San Luis Potosí, S.L.P.  
tel. (444) 826 24 40 al 46  
fax (444) 826 2372  
www.uaslp.mx



*Comité de Ética en Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas*  
*Registro Número CONBIOÉTICA-24-CEI-003-20190726*

8 de julio de 2020

**DRA. MA. DEL CARMEN GONZÁLEZ CASTILLO.**  
**PROFESORA INVESTIGADORA.**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS.**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ.**  
**PRESENTE.**

Con relación a su solicitud de revisión del protocolo titulado "PAPEL DE LOS NANOMATERIALES EN LA TONICIDAD DE SEGMENTOS AISLADOS DE AORTA, TRÁQUEA E INTESTINO DELGADO. POSIBLES MECANISMOS DE ACCIÓN", se le comunica que éste fue evaluado en la sesión del 8 de julio del año en curso por el Comité Ética en Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas (CEID-FCQ) (registro CONBIOÉTICA-24-CEI-003-20190726) y dictaminado como:

**APROBADO**

Su protocolo tiene la clave **CEID2020-03**.

Conforme al Reglamento del CEID-FCQ, todo protocolo registrado y aprobado queda sujeto al seguimiento señalado en el Art. 13, en particular al apartado 13.2.2:

El profesor o investigador responsable deberá entregar al CEID-FCQ un informe al término del proyecto ante la suspensión prematura del estudio o cuando le sea requerido. Si el proyecto no ha sido terminado en el lapso de un año deberá entregarse un informe anual que señale el grado de avance. Para la entrega de este informe se considerará un año transcurrido desde la fecha de emisión del dictamen de aprobación y un lapso no mayor de 10 días hábiles. El incumplimiento de lo anterior impedirá la revisión de un nuevo protocolo del investigador solicitante. El informe se enviará al CEID-FCQ con una carta de presentación dirigida al Presidente, así como el respectivo informe.

**ATENTAMENTE**

**Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia**  
**Presidente del CEID-FCQ**



Ccp. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



## **Posgrado en Ciencias en Bioprocesos**

### **Efectos de nanopartículas de plata en un modelo *ex vivo* de intestino delgado de roedor**

Tesis que para obtener el grado de  
**Doctor en Ciencias en Bioprocesos**

Presenta:

**Chávez Hernández Jorge Antonio**

#### **SINODALES:**

**Presidente:** Dra. Gabriela Navarro Tovar  
**Secretario:** Dr. Alejandro Rocha Uribe  
**Vocal:** Dra. Beatriz Liliana España Sánchez  
**Vocal:** Dra. María del Carmen González Castillo  
**Vocal:** Dra. Karen Esquivel Escalante  
**Vocal:** Dra. Aida Jimena Velarde Salcedo

## **INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORIAL ACADÉMICO**

Dra. María del Carmen González Castillo: Directora de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Gabriela Navarro Tovar: Tutora de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dra. Karen Esquivel Escalante: Tutora de tesis. Adscrita al Posgrado en Nanotecnología de la Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro.

Dr. Alejandro Rocha Uribe: Tutor de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.

Dr. Ricardo Espinosa Tanguma: Tutor de tesis. Adscrito al Departamento de Fisiología y Biofísica de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
Facultad de Ciencias Químicas  
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado  
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos  
Programa de Doctorado

Formato D5

### Carta Cesión de Derechos

San Luis Potosí SLP a Septiembre/03 /2024

En la ciudad de San Luis Potosí el día 03 del mes de Septiembre del año 2024 El que suscribe Jorge Antonio Chávez Hernández Alumno del programa de posgrado en Ciencias en Bioprocesos adscrito a la facultad de Ciencias Químicas manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección de: Dra. María del Carmen González Castillo y cede los derechos del trabajo titulado Efecto de nanopartículas de plata en un modelo ex vivo de intestino delgado de roedor a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial texto, gráficas, imágenes o cualquier contenido del trabajo si el permiso expreso del o los autores. Éste, puede ser obtenido directamente con el autor o autores escribiendo a la siguiente dirección jantonio.chh12@gmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

---

Jorge Antonio Chávez Hernández



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
Facultad de Ciencias Químicas  
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado  
Posgrado en Ciencias en Bioprocesos  
Programa de Maestría

Formato M28

### Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí SLP a 03/09/2024

L.B. María Zita Acosta Nava  
Biblioteca de Posgrado FCQ

**Asunto:** Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada Efecto de nanopartículas de plata en un modelo ex vivo de intestino delgado de roedor presentada por Jorge Antonio Chávez Hernández. La tesis es requisito para obtener el grado de Doctorado en el Posgrado en Ciencias en Bioprocesos. El análisis reveló un porcentaje de similitud de 15% excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**

---

**Dr. Jaime David Pérez Martínez**  
Coordinador del Posgrado en Ciencias en Bioprocesos

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A MIS PADRES**

**Me sobran los motivos, pero me faltan las palabras. Gracias por todo su apoyo estos años, sin ustedes, esto no sería posible, este logro también es de ustedes.**

### **A MI HERMANO**

**Gracias por apoyarme, tus palabras en cierto momento me ayudaron a continuar.**

### **A LAS DOCTORAS**

**Dra. María del Carmen González Castillo, Dra. Gabriela Navarro Tovar, Dra. Aida Jimena Velarde Salcedo, Dra. Patricia Aguirre, Dra. Liliana España**  
**Ha sido un viaje increíble estos años. Les agradezco cada momento, tanto en lo académico como en lo personal. Para ustedes mi profundo aprecio y respeto.**

### **A MI CÓMITE TUTORIAL**

**Dra. María del Carmen González Castillo, Dra. Gabriela Navarro Tovar, Dra. Karen Esquivel Escalante, Dr. Ricardo Espinosa Tanguma, Dr. Alejandro Rocha Uribe por sus valiosas aportaciones a este trabajo.**

### **A MI FAMILIA**

**Agradezco el apoyo de quienes siempre creyeron en mí y me apoyaron, a ustedes gracias.**

### **A MIS AMIGOS**

**Gracias por acompañarme en este viaje, por los recuerdos y las experiencias, siempre agradeceré que hayan estado.**

### **A MIS PROFESORES**

**A aquellos que han sido una gran inspiración y motivación a lo largo de mi proceso formativo, guardo sus enseñanzas con mucho cariño.**

## Resumen

Las nanopartículas tienen una gran relevancia en la actualidad debido a su gran rango de aplicaciones, incluyendo la industria textil, eléctrica, electrónica, alimentaria, biomédica y farmacéutica, destacando entre sus propiedades su gran capacidad antimicrobiana; sin embargo, su uso indiscriminado puede tener serias repercusiones en el ambiente y en la salud de organismos marinos y terrestres, incluyendo al ser humano, este último, sobre todo a nivel gastrointestinal, específicamente en el intestino delgado por causa de las nanopartículas ingeridas vía oral. Este trabajo aborda el efecto que tienen las administraciones de concentraciones crecientes acumulativas e individuales de nanopartículas de plata cubiertas con polivinilpirrolidona (PVP-AgNPs) en anillos aislados de intestino delgado de rata. Se evaluó el tono de los anillos aislados de intestino delgado en sus tres segmentos (duodeno yeyuno e íleon) para posteriormente realizar la determinación en la producción de dos mediadores, la serotonina que es un agente contráctil y el óxido nítrico que es un agente relajante; finalmente se realizaron estudios histológicos y de bioacumulación de plata en tejidos. Los resultados arrojados por nuestro trabajo muestran que las PVP-AgNPs en el intestino delgado alteran su tonicidad y ejerce daños histológicos en su epitelio. Este trabajo aportará información nueva valiosa y relevante sobre los efectos funcionales de las PVP-AgNPs a nivel gastrointestinal. Además, este trabajo está inmerso en la iniciativa del Sistema Nacional de Evaluación Nanotoxicológica (SINANOTOX) por lo que también tiene implicaciones para el futuro desarrollo de políticas y marcos regulatorios de los nanomateriales.

**Palabras clave:** nanopartículas, serotonina, triptófano, óxido nítrico, tonicidad

## Abstract

Nanoparticles are of great relevance today due to their wide range of applications, including the textile, electrical, electronic, food, biomedical and pharmaceutical industries, with their high antimicrobial capacity being highlighted among their properties; however, its indiscriminate use can have serious implications on the environment and on the health of marine and terrestrial organisms, including humans, the latter, especially at the gastrointestinal level, specifically in the small intestine due to nanoparticles ingested orally. This work addresses the effect of administrations of individual cumulative increasing concentrations of polyvinylpyrrolidone-coated silver nanoparticles (PVP coated-AgNPs) on isolated rat small intestine rings. The tonicity of the isolated rings of the small intestine in its three segments (jejunal duodenum and ileum) was evaluated to subsequently make the determination in the production of two mediators, the serotonin, which is a contractile agent and nitric oxide which is a relaxing agent finally conducted histological and bioaccumulation studies of silver in tissues. The results of our work show that PVP coated-AgNPs in the small intestine alter its tonicity and exert histological damage to its epithelium. This work provide valuable new and relevant information on the functional effects of gastrointestinal PVP coated-AgNPs. In addition, this work is immersed in the initiative of the National Nanotoxicological Evaluation System (SINANOTOX), so it also has implications for the future development of nanomaterial policies and regulatory frameworks.

**Keywords:** *nanoparticles, serotonin, tryptophan, nitric oxide, tonicity*

# Índice

Índice de figuras	xiv
Índice de tablas	xiv
Abreviaturas	xv
Introducción	1
Antecedentes	4
Síntesis de NMs	5
Mecanismos de nucleación y crecimiento de NPs	5
Métodos de síntesis	7
Aplicaciones de los NMs	9
Nanopartículas metálicas	10
Nanopartículas de plata (AgNPs)	10
Incorporación de las AgNPs a la cadena trófica	13
Efectos nocivos de las AgNPs	17
Bases fisiológicas del intestino delgado	22
Peristalsis	24
Absorción intestinal	34
Mecanismos de absorción de membrana	34
Absorción de nutrientes en el intestino delgado	37
Mecanismos de absorción de AgNPs	41
Biodistribución y bioacumulación	43
Antecedentes del Laboratorio de Fisiología Celular en torno al estudio de las AgNPs	44
Justificación	46
Hipótesis	47
Objetivo general	47
Objetivos específicos	47
Metodología	48
<i>Caracterización fisicoquímica</i>	48
<i>Anillos aislados de intestino delgado</i>	48
<i>Determinación de Óxido Nítrico (NO)</i>	49
<i>Determinación de Trp y 5-HT</i>	50
<i>Análisis histológico en anillos aislados de intestino delgado expuestos a PVP-AgNPs</i>	50
<i>Bioacumulación de plata</i>	51

<i>Análisis de datos</i>	52
Resultados y discusiones	52
<i>Controles de tonicidad y producción de NO en anillos aislados de segmentos de intestino delgado</i>	53
<i>Pruebas de tonicidad en anillos aislados de segmentos de intestino delgado con administraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs</i>	54
<i>Control de contracción con administraciones consecutivas de buffer Tyrode</i>	56
<i>Cuantificación de 5-HT en anillos aislados de segmentos de intestino delgado tratados con concentraciones acumulativas de PVP-AgNPs</i>	58
<i>Efecto de concentraciones individuales de PVP-AgNPs en anillos aislados de segmentos de intestino delgado</i>	58
<i>Control de contracción con PVP en anillos aislados de intestino delgado.</i>	62
<i>Control de ionización en anillos aislados de segmentos de intestino delgado</i>	64
<i>Análisis histológico de anillos aislado de intestino delgado expuestos a concentraciones individuales de PVP-AgNPs</i>	66
<i>Visualización de la internalización de las PVP-AgNPs en los anillos aislados de intestino delgado mediante la tinción de Grimelius</i>	67
Conclusiones	89
Bibliografía	91
Resumen del reporte de similitud	114
Carta de aceptación del artículo	115

## Índice de figuras

<i>Figura 1</i>	7
<i>Figura 2</i>	15
<i>Figura 3</i>	23
<i>Figura 4</i>	24
<i>Figura 5</i>	27
<i>Figura 6</i>	28
<i>Figura 7</i>	32
<i>Figura 8</i>	52
<i>Figura 9</i>	53
<i>Figura 10</i>	53
<i>Figura 11</i>	53
<i>Figura 12</i>	54
<i>Figura 13</i>	54
<i>Figura 14</i>	54
<i>Figura 15</i>	55
<i>Figura 16</i>	56
<i>Figura 17</i>	56
<i>Figura 18</i>	57
<i>Figura 19</i>	58
<i>Figura 20</i>	59
<i>Figura 21</i>	60
<i>Figura 22</i>	61
<i>Figura 23</i>	62
<i>Figura 24</i>	63
<i>Figura 25</i>	64
<i>Figura 26</i>	64
<i>Figura 27</i>	65
<i>Figura 28</i>	65
<i>Figura 29</i>	67
<i>Figura 30</i>	69
<i>Figura 31</i>	70
<i>Figura 32</i>	72
<i>Figura 33</i>	74
<i>Figura 34</i>	75
<i>Figura 35</i>	78
<i>Figura 36</i>	79
<i>Figura 37</i>	81

## Índice de tablas

Tabla 1	30
---------	----

# Abreviaturas

**5-HT:** Serotonina.

**ACh:** Acetilcolina.

**AgNPs:** Nanopartículas de plata.

**CE:** Células enterocromafines.

**CONACyT:** Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

**CONAHCyT:** Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología.

**DLS:** Dispersión dinámica de luz.

**eNOS:** Óxido nítrico sintasa endotelial.

**FDA:** Administración de alimentos y Medicamentos.

**iNOS:** Óxido nítrico sintasa inducible.

**KCl:** Cloruro de Potasio.

**NAIP:** Neuronas aferentes intrínsecas primarias.

**NMs:** Nanomaterials.

**nNOS:** Óxido nítrico sintasa neuronal.

**NO:** Óxido nítrico.

**NPs:** Nanopartículas.

**PVP:** Polivinilpirrolidona.

**SEM:** Microscopia electrónica de barrido.

**SINANOTOX:** Sistema Nacional de Evaluación Nanotoxicológica.

**SNP:** Nitroprusiato de Sodio.

**Trp:** Triptófano.

**USEPA:** Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos.

**XRD:** Difracción de rayos X.

## **Introducción**

En el mundo actual, se viven una serie de cambios sociales, políticos, económicos, industriales y tecnológicos que están cambiando la forma en la que percibimos y entendemos nuestro mundo; estos cambios que han surgido con el cambio de siglo y milenio han marcado un punto de inflexión en la historia humana y uno muy significativo sin duda ha sido el surgimiento y apogeo de la nanotecnología.

Podemos situar como el punto de partida de la nanotecnología en el año 1959 con la ponencia de Richard Feynmann en el Instituto Tecnológico de California (Caltech) titulado *There's plenty of room at the botom* donde por primera vez se planteó la posibilidad de manipular átomos individuales para sintetizar materiales (Feynman, 1959). Durante los siguientes años, una nueva ciencia llamada “nanotecnología” se desarrollaría gracias al advenimiento de nuevos descubrimientos científicos; en 1974, se empleó por primera vez el término “nanotecnología” por parte de Norio Tanigushi y en 1986 por Kim Erick Drexler (García-Gallegos, 2015) quienes la definieron como “la tecnología de producción para obtener la máxima precisión y dimensiones ultrafinas, es decir, la finura de precisión del orden de 1 nm” (Matteucci et al., 2018); en 1978, Harold Kroto y col. (1985) patentaron un proceso para la síntesis de fulerenos (Kroto et al., 1985); en 1981 Alexei Ekimov, Alexei Onushchenko y Alexander Efros descubrieron los puntos cuánticos (Bayda et al., 2019); en 1991, Sumio Iijima describió el procedimiento para la síntesis de nanotubos de carbono (CNTs) (García-Gallegos, 2015) y en 2004, Xu y col. (2004) descubrieron de manera accidental los puntos cuánticos de carbono con tamaños menores a 10 nm (Xu et al., 2004); todo esto daría lugar a una ciencia relativamente nueva y que vendría a revolucionar diversas áreas como la industria, la tecnología e incluso la economía.

El impacto que tienen los productos nanotecnológicos en la actualidad es innegable, los datos muestran que la producción de estos productos va al alza. La “*Nanotechnology Consumer Products Inventory* (CPI) estimó que en 2007 existían más de 600 productos nanotecnológicos producidos por 322 compañías en 20 países, mientras que para el periodo 2010-2013, censó 1012 productos nanotecnológicos de 409 compañías en 24 países (López de la Mora, 2019). A principios de siglo, en 2004,

el mercado de productos nanotecnológicos estaba valuado en aproximadamente \$12.9 billones de dólares y para 2006 se incrementó hasta \$50 billones; los indicadores pronosticaron en ese tiempo que para 2015 el valor de las nanotecnologías en el mercado sería de \$ 1 a \$ 2 trillones de dólares (Delgado, 2010), mientras que para 2014, se estimaba que los puestos de trabajo pertenecientes a las industrias de nanotecnologías alcanzarían 10 millones de empleados a nivel mundial (Gutiérrez González et al., 2013). En términos de tonelaje, en 2012, un estudio de *Future Markets Inc.* mostró que tan solo la producción mundial de nanopartículas (NPs) obtenidas por síntesis química rondaba valores entre 250 000 y 300 000 toneladas, (Cervantes-Áviles et al., 2016). Estimaciones más recientes hechas por Inkwood Research estimaban que el valor del mercado de los nanomateriales ascendería a 13 billones de dólares para 2020, mientras que Mordor Intelligence estimaba para ese mismo año un valor del mercado de NMs en 11.3 billones de dólares (Chávez-Hernández et al., 2024). En América Latina, Brasil, México y Argentina se posicionan como los países líderes en el campo de investigación nanotecnológica (López de la Mora, 2019).

Fue en 2002 cuando en México la investigación nanotecnológica fue considerada un área de investigación estratégica, lo que años después (2008) resultaría en la creación de los primeros centros de investigación nanotecnológica, como el Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) (Cervantes-Áviles et al., 2016), o el Centro de Nanociencias y Nanotecnología de la UNAM en 2008. En el año 2010 se creó el Consejo de Alto Nivel para la Cooperación Regulatoria entre México y Estados Unidos para establecer una regulación para productos nanotecnológicos, pero fue hasta 2015 cuando se crearon las Normas Mexicanas PROY-NMX-R-80004-5-SCFI-2015 y PROY-NMX-R-12901-1-SCFI-2015, las cuales, hasta el día de hoy, se consideran incompletas (López de la Mora, 2019). Actualmente, en México hay dos empresas censadas que se dedican a la producción de nanomateriales: Investigación y Desarrollo de nanomateriales S.A de C.V, quienes comercializan productos como grafeno, nanomateriales a base de carbono, óxidos metálicos y plata coloidal, y Nanomateriales S.A de C.V que ofrece soluciones industriales a base de productos nanotecnológicos; así como dos empresas en

incubación con sede en Nuevo León: Nano AZT y Nanomat S.A de C.V; y la empresa Nanobio and Tronics S.A de C.V con sede en León, Guanajuato (Cervantes-Áviles et al., 2016).

Sin embargo, la gran producción de NMs ha generado una preocupación de la comunidad científica por los posibles impactos ambientales; su uso en diversos productos agroindustriales, sistemas de tratamientos de aguas y la disposición final de residuos es un factor de importancia de la llegada de NPs a suelos y efluentes, ocasionando problemas como la disminución de la fertilidad de suelos (Purohit et al., 2017) o efectos nocivos en fauna marina (Gao et al., 2016; Lacave et al., 2018; Tang et al., 2019).

En la actualidad, con el fin de garantizar el uso responsable y seguro de los nanomateriales, se han empezado a desarrollar lineamientos y marcos regulatorios a nivel mundial por parte de diversas organizaciones internacionales como EPA, ISO, OECD, entre otras., que permitan establecer los rangos de concentraciones seguras de las NPs así como las estrategias para evaluar su impacto ambiental, tales como los análisis de ciclo de vida o los análisis de riesgo (Chávez-Hernández et al., 2024).

En estos términos, el conocimiento de los beneficios y riesgos de la nanotecnología resulta vital para dimensionar en su justa medida el impacto que los productos nanotecnológicos tienen en la sociedad del siglo XXI y ver en perspectiva cuáles serán los escenarios y/o retos que estos productos podrán generar y qué estrategias se deberán seguir para el uso responsable y seguro de la nanotecnología y sus productos.

## Antecedentes

Podemos definir nanotecnología como el empleo de la tecnología con una precisión atómica en aplicaciones prácticas para elaborar estructuras en la escala nanométrica (Bayda et al., 2020; Dean et al., 2005). Estas estructuras, denominadas nanomateriales (NMs) son definidas por la Comisión Europea (CE) como *“un material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50% o más de las partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm”* (Ávalos et al., 2013); además, para que un material pueda ser considerado como nanomaterial, debe cumplir con otras características como: a) tener estructuras internas o superficiales en el rango de 1-100 nm, o, b) tener un radio de área específica/volumen (A/V) mayor a  $60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$  excluyendo materiales con tamaño menor a 1 nm (Gonzalez et al., 2018), estas características son las responsables de que las propiedades fisicoquímicas de los materiales y su reactividad están en función del número de átomos o moléculas que forman el material (Berlanga Mora, 2013). Los NMs a su vez, se clasifican, de acuerdo a la Agencia de protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) en cuatro grupos principales: basados en carbono, basados en metales, dendrímeros y composites (Cervantes-Áviles et al., 2016), los cuales son empleados en una gran variedad de productos de consumo tales como electrónicos, fármacos, cosméticos, empaques alimenticios, sistemas de purificación de aguas, entre otros (R. Foulkes et al., 2020; Mao et al., 2016).

El nuevo milenio trajo consigo la 4ª y 5ª revolución industrial en el área de los NMs al expandirse a distintas áreas de la ciencia y la industria, propiciando la aparición de nuevos productos y la mejora de otros que, en la actualidad, llenan los mercados de la tecnología, medicina, industria alimenticia, textil y tratamiento de agua entre otras.

El crecimiento en investigación, comercial e industrial de las nanotecnologías ha tenido un gran impulso en las últimas décadas, a tal punto que en la actualidad y de acuerdo a la base de datos Statnano, hasta el momento hay 11 155 productos registrados de 1428 tipos desarrollados por 3894 compañías en 68 países (Statnano, 2023).

## **Síntesis de NMs**

Como ya se abordó en el apartado anterior, por definición, se sabe que las NPs se pueden producir por la actividad antropogénica o de manera natural sin intervención humana; sin embargo, con el advenimiento de la nanotecnología como una “nueva revolución industrial” es necesario conocer los procesos mediante los cuáles obtenemos los NMs que se emplean en diversas áreas de la ciencia y la tecnología en el siglo XXI; así como los mecanismos implicados en la formación y crecimiento de las NPs.

## **Mecanismos de nucleación y crecimiento de NPs**

La síntesis de NPs en términos generales implica la agregación de pequeñas partículas que llegaran a alcanzar distintos tamaños y distintas formas gracias a procesos de crecimiento.

La nucleación se puede definir como *“el proceso por el cual las semillas actúan como plantillas para el crecimiento del cristal”* (Thanh et al., 2014). Estos procesos que ocurren a nivel molecular se explican actualmente mediante dos teorías: la teoría clásica y la teoría no clásica:

La teoría clásica explica la formación de una nueva fase termodinámica y que dependiendo de la presencia de ciertas estructuras o no se puede clasificar también en homogénea o heterogénea: será homogénea si ocurre en un sistema homogéneo y el núcleo se forma uniformemente durante la fase inicial (parent phase), mientras que la nucleación heterogénea se produce cuando cuerpos extraños actúan como sitios activos para el acoplamiento de las primeras unidades monoméricas (Thanh et al., 2014; Wu et al., 2022) (Figura 1). Los mecanismos de crecimiento de la teoría clásica se pueden explicar mediante cinco mecanismos diferentes:

- a) Mecanismo de La Mer: El mecanismo de nucleación y crecimiento consiste en tres etapas principales; 1) un crecimiento rápido en la concentración de monómeros libres en solución; 2) reducción significativa de la concentración del monómero libre en solución por efecto de una “nucleación explosiva” y 3) el crecimiento se da por la difusión controlada del monómero a través de la solución.

- b) Maduración de Ostwald: El crecimiento ocurre debido a los cambios en la solubilidad de las NPs dependientes de su tamaño.
- c) Mecanismo de Finke-Watzki: Mecanismo en dos pasos donde la nucleación y crecimiento ocurren al mismo tiempo que consiste en una nucleación lenta y continua y en un crecimiento superficial auto catalítico no controlado por difusión.
- d) Coalescencia y acoplamiento orientado: La coalescencia consiste en la formación de estructuras de mayor tamaño sin importar la orientación de la red cristalina, mientras que en el acoplamiento orientado hay una alineación cristalográfica para que ocurra el acoplamiento, dando lugar a planos cristalográficos continuos.
- e) Crecimiento intrapartícula: Consiste en la difusión de un monómero por la superficie de un nanomaterial con el objetivo de cambiar la forma de la partícula (Thanh et al., 2014).

La teoría no clásica por su parte explica la formación de nanoestructuras mediante la formación de nanoclúster como estructuras de transición antes de convertirse en NPs mediante diversos mecanismos; la teoría no clásica se explica principalmente por los siguientes mecanismos:

- a) Transición de fase escalonada: Ocurre cuando existen diferencias energéticas entre la superficie y su masa. En las etapas iniciales el núcleo tendrá la energía superficial más baja, pero conforme crezca será transformado en una estructura con la menor energía libre a granel (volumétrica), es decir, una estabilización termodinámica mediante un cambio estructural.
- b) Agregación de núcleos: Consiste en el enlace de dos o más núcleos subcríticos (núcleos que pueden redisolverse) para formar núcleos más estables (post-críticos) cuando el rango de disolución es menor que el de colisión. Este mecanismo es aplicable también a nanopartículas estables.
- c) Crecimiento mediante ensamble y unión: Consiste en la formación de partículas de mayor tamaño a partir de la unión y ensamble de partículas más pequeñas.

- d) Acoplamiento orientado: Ocurre cuando partículas primarias que forman nanoestructuras más grandes están orientadas de tal forma que comparten la misma red cristalina.
- e) Formación de mesocristales: Los mesocristales se forman cuando las nanopartículas permanecen como unidades estructurales individuales sin llegar a formar un único dominio cristalino.
- f) Nucleación heterogénea: Consiste en la formación de una fase secundaria en la superficie de nanopartículas semilla en un medio heterogéneo de reacción (J. Lee et al., 2016).

### **Imagen no mostrada**

**Figura 1.** *Mecanismos de nucleación: A) Teoría clásica; B) Teoría no clásica (Imagen parcialmente tomada de (J. Lee et al., 2016).*

### **Métodos de síntesis**

En general, los métodos de síntesis de nanopartículas se clasifican en dos tipos: los métodos *top-down* los cuales se caracterizan por ir de estructuras grandes y por métodos físicos llevarlos a la escala nanométrica y los métodos *bottom-up* que consisten en crear agregados de moléculas individuales hasta formar estructuras a escala nanométrica (1 – 100 nm) (Zanella, 2014).

Entre los métodos top-down podemos destacar la molienda que se lleva a cabo en molinos con el fin de obtener partículas de tamaño nanométrico (Zanella, 2014), la nanolitografía que consiste en la remoción selectiva de una porción de un material sensible a la luz en una forma deseada (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017), la ablación láser consistente en hacer incidir un rayo láser sobre un metal sumergido en una solución líquida para producir nanopartículas (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017), sputtering o pulverización catódica que consiste en la deposición de nanopartículas sobre una superficie sólida eyectando partículas que son colisionadas con iones cambiando las propiedades físico-químicas y estructurales del sólido (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017; Zanella, 2014) o la descomposición térmica donde el material es calentado hasta su descomposición; esta descomposición ocurre a una

temperatura específica cuando el material es sometido a una reacción química (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017; Zanella, 2014).

Los métodos bottom-up son principalmente métodos químicos, de ellos cuales podemos mencionar el método sol-gel que consiste en la formación de una suspensión coloidal mediante reacciones de hidrólisis y polimerización (Khan, 2020; Zanella, 2014); deposición química de vapor que consiste en la deposición de una capa fina que es producto de la reacción de precursores volátiles en presencia de un sustrato, la cual se deposita sobre la superficie de este para ser recuperada y utilizada (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017; Rane et al., 2018); spinning que consiste en la síntesis de nanopartículas dentro de un disco reactor giratorio que generalmente contiene gases inertes así como los precursores y solventes, que al girar ocasiona la fusión de átomos y/o moléculas para formar precipitados (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017); pirolisis que consiste en la combustión de precursores líquidos o gaseosos en un horno a altas presiones (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017) y la biosíntesis que incluye la utilización de microorganismos, hongos o extractos vegetales (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017).

De manera general, los métodos top-down ofrecen la ventaja de producir grandes cantidades de NPs a comparación de los métodos bottom-up, sin embargo, estos métodos no permiten un control adecuado sobre el tamaño de partícula y con excepción de la molienda, tienen la desventaja que requieren de equipos complejos, lo cual repercute en el encarecimiento de los productos, mientras que los métodos bottom-up en su mayoría son métodos que no requieren equipos tan complejos aunado al hecho que permite la obtención de partículas más pequeñas, uniforme y con una distinta gama de formas (Khan, 2020; Leyva Gómez, 2013; Zanella, 2014).

La utilidad de estos métodos tiene fuertes implicaciones en la incorporación de los NMs en distintos tipos de productos en áreas como la cosmética, electrónica, catálisis, medicina, alimentos, construcción y energías renovables (Anu Mary Ealia & Saravanakumar, 2017).

## **Aplicaciones de los NMs**

Actualmente, los NMs han sido empleados para la fabricación de diversos productos de uso cotidiano, no es exagerado decir que se han convertido en una constante en productos farmacéuticos, textiles, médicos, alimenticios, entre otros, todo esto aprovechando las distintas propiedades que ofrecen los NMs dependiendo de su naturaleza química y de los cuales se mencionaran algunos.

Uno de los NMs más utilizados son las NPs de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) las cuales destacan por sus aplicaciones en fotocatalisis (N. Liu et al., 2014), su uso en la industria alimentaria como componente de los empaques a los cuales les confiere mejores propiedades elásticas, además de sus propiedades antimicrobianas (Farhoodi, 2016), en la industria textil como agente antimicrobiano, repelente de agua y suciedad y como absorbente de humedad (N. A. Singh, 2017) y en la eliminación de contaminantes del agua como metales pesados (S. Singh et al., 2019).

Otro de los NMs más ampliamente utilizados son los nanotubos de carbono (CNTs), los cuales se han empleado en paneles solares o en sistemas de tratamientos de aguas con la finalidad de remover principalmente metales pesados y metaloides. (Patil et al., 2016) así como en biosensores y reconocimiento de antígenos (Y. Liu et al., 2013), en tintes para el cabello de larga duración (Fytianos et al., 2020). Otras importantes aplicaciones de los CNTs tienen que ver con el desarrollo de sensores, supercapacitores, sistemas nanoelectromecánicos, almacenamiento de hidrogeno, aplicaciones biomédicas (Rathinavel et al., 2021) y diagnóstico y tratamiento de cáncer (Anzar et al., 2020).

Las NPs de óxido de zinc (ZnONPs) son un tipo de NPs que han sido ampliamente estudiados y que en la actualidad su uso se ha extendido a diversas áreas industriales y económicas; es notable el uso que se les ha dado a las ZnONPs en el área agrícola como componente de fertilizantes, pesticidas y promotores de germinación (Ghebretatios et al., 2021; Y. Ghidan & M. Al Antary, 2020). En el área cosmética, se emplean en conjunto con las  $\text{TiO}_2$ NPs en cremas solares debido a sus propiedades para absorber rayos UVA y UVB (Fytianos et al., 2020); destacan también su empleo en el área biomédica como sistemas de liberación de fármacos, su potencial

para ser empleados en tratamientos contra el cáncer y la diabetes, en la industria alimentaria como fuente de zinc en suplementos alimenticios, manufactura de llantas, cementos y barnices para madera y muebles (Ghebretatios et al., 2021); de igual manera, las ZnONPs han despertado gran interés en sistemas de tratamientos de aguas (Puay et al., 2015; Tan et al., 2015).

Hablar de como la enorme gama de NPs están presentes en un sinfín de productos y procesos industriales, muchos de los cuales utilizamos día a día es entrar en un campo tan amplio como complejo, lo que nos lleva a admitir que es innegable como han revolucionado el mundo actual ofreciendo un abanico de posibilidades en los mercados mundiales.

### **Nanopartículas metálicas**

Dentro de la nanociencia, una de las áreas más exploradas es la síntesis de NPs, principalmente la síntesis de NPs a partir de metales nobles como oro, plata y platino, las cuales, son de gran interés debido a sus propiedades físicas, químicas, biológicas, ópticas, catalíticas, magnéticas y eléctricas (Rodríguez, 2012). Estas propiedades, inherentes a su tamaño nanométrico, son la causa por la cual se incrementó la aplicación de las NPs diseñadas en bienes de consumo y sistema de tratamientos de agua (Abbott Chalew & Schwab, 2013). Un estudio de la Comisión Europea en 2012 estimó que la producción mundial de NMs (principalmente NMs de óxidos metálicos) ascendió a 1 500 000 toneladas, principalmente de  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{CeO}_2$  y  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Cervantes-Áviles et al., 2016). De entre todos estos NMs, destacan un tipo específico cuyas propiedades han sido exploradas y explotadas de manera significativa en la actualidad debido a la gran cantidad de propiedades que presenta, las cuales a su vez le confieren una gran versatilidad en sus aplicaciones: las NPs de plata.

### **Nanopartículas de plata (AgNPs)**

Uno de los materiales más usados desde la antigüedad es la plata (Ag). A lo largo de miles de años, ha sido usada para joyería, monedas, hasta en procedimientos más complejos como la fotografía o los explosivos. Sus propiedades medicinales se conocen desde tiempos de Hipócrates, quien utilizaba polvo de plata para el

tratamiento de heridas y entre los siglos XVII y XVIII se utilizaba el nitrato de plata para el tratamiento de úlceras (Monge Oroz, 2009), los griegos incluso la utilizaban en la preparación de alimentos y desinfección del agua (Ávalos et al., 2013).

De entre las partículas que conforman los NMs y que se encuentran en rangos de 1 a 100 nm, denominadas NPs, sin duda una de las más empleadas en distintas aplicaciones son las AgNPs; estas NPs entran en el grupo de las NPs metálicas (de acuerdo con la clasificación de la EPA) (Cervantes-Avilés et al., 2017). La diversa gama de aplicaciones que tienen estas NPs se debe principalmente a sus propiedades físicas, químicas, ópticas, catalíticas, magnéticas, eléctricas y biológicas (Gonzalez et al., 2016).

A nivel industrial, las AgNPs son consideradas uno de los NMs más empleados a nivel mundial. Para el año 2016, las estimaciones más optimistas pronosticaban que para el año 2025 el mercado global de las AgNPs alcanzaría las 800 toneladas anuales (Pulit-Prociak & Banach, 2016); de entre todas sus propiedades destaca sin duda su capacidad antimicrobiana, lo que las hace particularmente útiles en el área de la medicina, farmacéutica y la industria alimenticia: algunos trabajos señalan su uso extendido en equipos y aparatos médicos tales como en catéteres y endoprótesis, cánulas, válvulas cardíacas artificiales, lentes de contacto, marcapasos, etc., (Abass Sofi et al., 2022), productos dentales (Fernandez et al., 2021), cremas, lociones, implantes óseos, vendajes y geles tópicos (Sim et al., 2018) y en la identificación de patógenos (Y. Wang et al., 2010). Su actividad antiviral ha hecho de las AgNPs objeto de estudio para el tratamiento de enfermedades como VIH-1, SARS-COV-2, hepatitis B, norovirus y virus de la influenza (Hasan et al., 2022) así como actividad antifúngica contra *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida tropicalis* (Poornasareena et al., 2023) así como su potencial uso en el tratamiento de enfermedades cancerígenas (Abass Sofi et al., 2022).

Los mecanismos antimicrobianos de las AgNPs incluyen la adhesión a las membranas, alterando la estructura y permeabilidad de la membrana, la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), alteración de la señalización celular y la

disfunción de organelos al penetrar dentro de la célula; su mecanismo antiviral se basa en la unión de las AgNPs a los nódulos de glucoproteínas (Dakal et al., 2016)

En la agricultura, las AgNPs ofrece mejoras en la conservación de los productos al ser empleadas en hilos para sogas en la agricultura para evitar el crecimiento de biopelículas (Sim et al., 2018), sin olvidar su uso potencial como agentes de mejora del rendimiento de los cultivos mejorando la germinación de las plantas y su crecimiento, manejo de enfermedades de plantas y frutas, uso como pesticidas y para control de plagas (Kale et al., 2021); se sabe que las AgNPs promueven la germinación mediante mecanismo como el incremento en la absorción de agua y fertilizantes, incremento de la enzima nitrato reductasa, fomenta sistemas antioxidantes y disminuyendo el estrés oxidativo (Almutairi & Alharbi, 2015). En la industria de los alimentos se han utilizado en recubiertas de paquetes que contienen alimentos (Sim et al., 2018) siendo empleadas en conjunto con algunos materiales poliméricos como alcohol polivinílico (PVA) hidroxipropil metil celulosa (HPMC), ácido poliláctico (PLA), polietileno (PE) entre otros (Istiqola & Syafiuddin, 2020); existen estudios que señalan la posible migración de las AgNPs desde los empaque alimenticios a la comida como el estudio de Mackevica y col. (2016) quienes encontraron que en contenedores alimenticios de PE que contienen AgNPs la cantidad de AgNPs que migraron a simuladores alimenticios (agua Mili-Q, etanol 10% y ácido acético 3%) fueron respectivamente  $<0.9$ ,  $<0.9$  y  $5.5 \pm 1.7 \mu\text{g/l}$  después de 10 días de incubación (Mackevica et al., 2016), demostrando que la migración de AgNPs a los alimentos a partir de contenedores alimenticios representa una vía de ingestión de AgNPs, lo cual podría tener repercusiones en la salud de las personas expuestas por la exposición crónica vía oral a estas NPs.

En épocas recientes se ha prestado especial atención a las aplicaciones de las AgNPs en sistemas de tratamientos de aguas, incluyendo su uso para remoción de compuestos orgánicos como colorantes textiles cuando estas se utilizan en conjunto con compositos o solos (Palani et al., 2023); Singh y col. (2019) abundan más en el tema, señalando que la aplicación de las AgNPs en sistemas de tratamientos de agua se han empleado inmovilizándolas en distintas matrices como la polietilensulfona y

membranas de microfiltración, demostrando una gran capacidad antimicrobiana (S. Singh et al., 2019).

La mayoría de las AgNP comerciales están recubiertas con varios polímeros con fines de estabilización, promoviendo además un impacto significativo en los seres vivos y el medio ambiente. Un ejemplo de agentes de recubrimiento utilizados es la polivinilpirrolidona (PVP), un polímero no iónico que contiene grupos funcionales carbonilo, (C=O), C-N y metileno (CH<sub>2</sub>) que es altamente soluble en agua (Koczkur et al. 2015) y es utilizado principalmente por la ausencia de efectos tóxicos en sistemas biológicos (Lacave et al., 2017; Zhao & Wang, 2012)

Es evidente que las AgNPs muestran una gran gama de propiedades, las cuales son aprovechadas en la industria actual, aportando beneficios a los productores y fabricantes, así como a los consumidores finales; sin embargo, es necesario señalar que, así como ofrecen beneficios, se sabe de igual manera que su uso podría provocar daños al ambiente y a la salud.

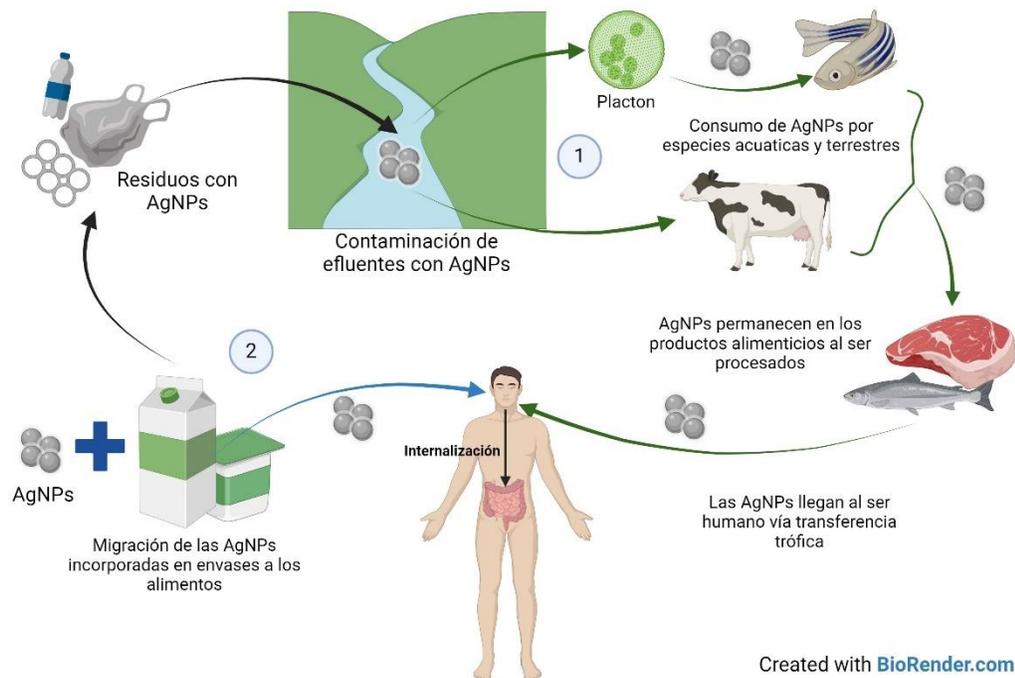
### **Incorporación de las AgNPs a la cadena trófica**

El desarrollo de la nanotecnología y la gran variedad de aplicaciones de los productos derivados de esta, han ocasionado una transferencia ambiental de NPs a suelos, agua y aire, lo que implica una seria amenaza a la salud humana (Karimi et al., 2018), siendo las vías dérmica, respiratoria, oral e intravascular las principales vías de contacto del ser humano con las NPs, y de estas, la vía oral es la ruta principal de ingestión de NPs por transferencia trófica (Karimi et al., 2018; Rajkishore et al., 2013). La transferencia trófica se refiere a la acumulación de compuestos químicos/tóxicos, etc. por un organismo después de consumir otro organismo que estuvo previamente expuesto a esos compuestos (Baker, 2017). Las NPs pueden entrar al ambiente, ya sea de forma indirecta, por residuos, aguas residuales o lodos, así como de manera directa por descargas de agua superficial tratada y, posteriormente, entrar al cuerpo humano por el consumo de agua, consumo de productos cárnicos (terrestres y/o marinos) o plantas contaminadas con NPs; pero serán una serie de alteraciones fisicoquímicas como tamaños o características superficiales las que afectarán su destino final en la transferencia trófica. (Karimi et al., 2018), ingresando al cuerpo

humano mediante la ingesta de agua, alimentos u otros productos alimenticios (Gaillet & Rouanet, 2015).

La ingesta de AgNPs por medio de alimentos, está facilitada por la transferencia de AgNPs de los empaques a la comida, aunque la literatura es consistente en afirmar que la cantidad de AgNPs encontradas en alimentos cárnicos como albóndigas, pechugas de pollo y carnes de res, no sobrepasan los límites permisibles (25mg/kg) de acuerdo a la Comisión de Regulación Europea (Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011, 2011; Panea et al., 2014) y por lo tanto no se consideran dañinos. Sin embargo, también coinciden en señalar que la exposición crónica a estos productos puede ocasionar efectos nocivos a la salud humana (Karimi et al., 2018). El ingreso de AgNPs contenidos en plásticos y textiles liberados a cuerpos de agua como ríos, llegan a cultivos y se bioacumulan en plantas, las cuales absorben las NPs unidas al suelo mediante las raíces u hojas, representando su consumo, un riesgo a la salud (Karimi et al., 2018; Schwab et al., 2016) **(Figura 2)**.

La transferencia trófica de NPs se ve favorecida por el consumo de productos marinos, ya que, las NPs se acumulan e inducen toxicidad al plancton, el cual es consumido por especies pelágicas (Karimi et al., 2018), como *Chlamydomonas reinhardtii* (Rajkishore et al., 2013) y de la cual se conoce que la transferencia trófica de AgNPs se da mediante su consumo por *Daphnia magna* (crustáceo de tamaño pequeño) y posteriormente, el consumo de esta por *Danio reiro* (pez cebra) (Karimi et al., 2018) **(Figura 2)**. El uso de estos biomodelos ayuda a ejemplificar y constatar cómo se produce la transferencia trófica de las AgNPs, siendo este mecanismo extensivo a otras especies de peces que pueden ser consumidos por los seres humanos.



**Figura 2.** El ingreso de las AgNPs al cuerpo humano puede efectuarse mediante la transferencia trófica (1, líneas verdes) debido a la contaminación de efluentes de agua por desechos que contienen AgNPs o por la migración de efluentes de agua por desechos que contienen AgNPs o por la migración de las AgNPs contenidas en los envases y empaques alimenticios.

La presencia de NPs en cuerpos de agua está muy documentada, y su presencia está condicionada por factores como zona geográfica, el tipo de nanomaterial, aplicaciones y productos. Se estima que de todos los NMs producidos, el 56% terminarán en rellenos sanitarios, 26% en el agua, 14% en suelos y 4% en el aire (Cervantes-Áviles et al., 2016). Las AgNPs están presentes en el 23.52% de los nanoproductos registrados hasta 2015 y se estima que, anualmente, 63 toneladas de AgNPs entran en cuerpos de agua anualmente (Johari et al., 2015). Algunos trabajos de revisión registran publicaciones donde reportan que en efluentes de plantas de tratamiento en Alemania se encontraron concentraciones de hasta  $1.5 \text{ mg/m}^3$  de AgNPs (Cervantes-Áviles et al., 2016) y otros estudios reportan concentraciones de hasta  $0.32 \text{ } \mu\text{g/l}$  en biomas acuáticos (Johari et al., 2015). El estudio de Gottschalk y

col. (2013) encontró mediante un modelo basado en datos probabilísticos las concentraciones ambientalmente relevantes previstas de AgNPs en aguas superficiales de Europa, EUA y Suiza, donde los valores mínimos y máximos fueron respectivamente: 0.588 y 2.16 ng/l, 0.088 y 0.428 ng/l y 0.555 y 2.63 ng/l (Gottschalk et al., 2009) por lo que es necesario el establecimiento de regulaciones para controlar la cantidad de AgNPs presentes en cuerpos de agua así como estudios para determinar las concentraciones potencialmente dañinas a los organismos.

La presencia de las AgNPs (y otras NPs) no se encuentra regulada de manera adecuada en ningún país. EUA y la Unión Europea, en un intento por buscar formas de regularizar la presencia de NPs, se han dedicado a realizar trabajos recopilatorios. En 2010, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA por sus siglas en inglés), elaboró un reporte detallado sobre aplicaciones, efectos, síntesis y propiedades de las AgNPs (Varner, 2010) y algunas acciones para regular la presencia de NPs en cosméticos por diversas organizaciones y agencias norteamericanas. Agencias como la FDA, USEPA y el Instituto para Estándar Alimenticio y Agrícola (IFAS por sus siglas en inglés) también han iniciado protocolos para tratar con riesgos potenciales de las NPs y NMs. Por otro lado, la USFDA y la Agencia Europea de Medicinas (EMA) están ayudando a regular el uso médico de NPs en la Unión Europea (Jeevanandam et al., 2018). En México, la iniciativa del Sistema Nacional de Evaluación Nanotoxicológica (SINANOTOX) que abarca laboratorios de investigación de distintas instituciones de educación superior, surge a partir de las Redes temáticas del CONAHCyT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología), anteriormente CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) apoyada por la Convocatoria de Proyectos de Desarrollo Científico para atender problemas Nacionales (PN 2017-4710); tiene como objetivo principal construir una plataforma de referencia nacional para evaluar la inocuidad en la salud y el ambiente de los NMs (*Sistema Nacional de Evaluación Nanotoxicológica " SINANOTOX ". Red Temática de Nanociencias y Nanotecnología CONACyT, 2018*)

Los efectos nocivos por la exposición a las partículas de plata (y de los NMs en general) dependerán ampliamente de su vía de contacto, superficie específica, estado

de aglomeración, forma, solubilidad, carga superficial. tamaño, tiempo de exposición y objetivos biológicos (Ávalos et al., 2013; Gonzalez et al., 2016). En general, muchos son los problemas asociados a la ingesta de AgNPs, entre los que destacan la acumulación de estas en órganos como riñón, hígado, bazo, cerebro, pulmones (Espinosa-Cristobal et al., 2013), cavidad nasal (Ávalos et al., 2013), médula ósea, vejiga, dientes, músculos, ojos, próstata, lengua, glándulas salivales, tiroides, paratiroides, corazón, páncreas e intestino delgado (duodeno) (Gaillet & Rouanet, 2015). La inhalación de partículas ultrafinas (menores a 0.1  $\mu\text{m}$ ) de AgNPs está relacionada con efectos pulmonares y cardiacos severos, disminución de la oxigenación capilar y procesos inflamatorios como enfisema; mientras que la ingestión de NPs por vía oral está asociada a daño renal y hepático, gránulos en la conjuntiva y córnea y argiriosis ocular, renal, hepática, pulmonar y testicular. Además, se ha descrito que el contacto de las AgNPs vía dérmica se asocia a alteraciones somáticas de los testículos (Coutiño et al., 2017).

### **Efectos nocivos de las AgNPs**

Como se ha mencionado previamente, las AgNPs cumplen diversas funciones en distintos campos de la industria y la investigación; sin embargo, conforme se ha continuado investigando sus propiedades, ha salido también a la luz nueva información que señala los posibles efectos adversos de las NPs incluyendo, especialmente las AgNPs. Esto resulta relevante ya que, en la actualidad, la información disponible no establece *a priori* concentraciones mínimas que se puedan considerar seguras o, en su defecto, nocivas; esto también tiene importantes implicaciones regulatorias en términos de la falta de un sistema de lineamientos estandarizados que permitan el uso responsable y seguro de las AgNPs y de otros NMs.

Las AgNPs pueden entrar en contacto con el ser humano por diversas vías, oral, respiratoria, epidérmica y, más recientemente, se ha demostrado que otra posible vía sea a través del tracto genital femenino debido a la presencia de AgNPs en productos de higiene femenina (Ávalos et al., 2013); un ejemplo de los efectos de las AgNPs que entran en el organismo vía epidérmica es un estudio de caso de Trop y col. (2006) quienes reportaron el caso de un paciente con 30% de cuerpo quemado fue tratado

con vendajes revestidos de AgNPs, el cual, presentó síntomas parecidos a la argiria en un caso de intoxicación aguda, donde los niveles plasmáticos de plata llegaron hasta 107 mg/kg y en orina hasta 28 mg/kg (Trop et al., 2006) . Existen en la actualidad, estudios orientados a estudiar, evaluar y dilucidar los efectos toxicológicos, genotóxicos, cancerígenos, entre otros de las NPs. La mayoría de los estudios toxicológicos se han enfocado en el sistema respiratorio, seguido de estudios de toxicidad epidérmica y en menor medida en el sistema gastrointestinal.

Uno de los principales problemas con las AgNPs radica en el hecho de que al ser desechadas, estas NPs pueden llegar a suelos o cuerpos de agua mediante sistemas de tratamientos de agua, lo que provocaría cambios en la integridad del ecosistema. En un estudio realizado por Ma y col. (2014) demostró que la presencia de plata en sistemas de tratamientos de agua municipales en forma de nanopartícula o en bulto se podían transformar en sulfuro de plata ( $Ag_2S$ ), a su vez, observaron que el  $Ag_2S$  persistía en los lodos (Ma et al., 2014). De acuerdo a algunos reportes, esto puede implicar que las AgNPs con recubierta de polivinilpirrolidona (PVP) puedan interaccionar con el  $Ag_2S$  formando agregados fuertemente unidos mediante puentes de sulfuro (Batley et al., 2013).

Schlich y col. (2013) encontraron que a concentraciones ambientalmente relevantes de AgNPs (0.56, 1.67, 5.0 y 15.0 mg/kg) la persistencia de las AgNPs en lodos provenientes de plantas de tratamiento era mayor al 90% (Schlich et al., 2013). Por otro lado, Pham (2019) estudió el efecto de concentraciones de AgNPs en dos géneros de microalgas, *Thalassiosira sp.* y *Scenedesmus sp.* encontrando que a concentraciones de 200  $\mu g/l$  de AgNPs de 6 nm se inhibía el crecimiento de *Scenedesmus sp.* en un 100% mientras que en *Thalassiosira sp.* la inhibición llegaba cerca del 100%, además, la presencia de estas AgNPs también tenían implicación en la modificación del diámetro celular y la reducción del contenido de clorofila- $\alpha$  para ambos géneros de microalgas y la reducción de la producción de lípidos totales en *Scenedesmus sp.* a esa misma concentración (Pham, 2019).

Estas alteraciones en la composición química y microbiana en los ecosistemas acuáticos repercuten directamente en otras especies acuáticas y terrestres debido

principalmente a la transferencia trófica, la cual se puede definir como la acumulación de compuestos químicos/tóxicos, entre otros, por un organismo después de consumir otro organismo que estuvo previamente expuesto a esos compuestos (Baker, 2017). Las NPs pueden entrar indirectamente al ambiente mediante residuos, aguas residuales o lodos, o directamente por descargas de agua superficial tratada y de ahí, entrar al cuerpo humano por el consumo de agua, consumo de productos cárnicos (terrestres y/o marinos) o plantas cargadas con NPs (Karimi et al., 2018). Los efectos de las AgNPs que entran en los organismos terrestres y acuáticos han sido ampliamente estudiados en diversos modelos biológicos tales como cultivos celulares y modelos animales.

En 2009, Rosas y col. utilizaron células endoteliales aisladas de aorta de rata, encontrando que las AgNPs con tamaños entre 10—90 nm a concentraciones entre 1 a 10  $\mu\text{g/ml}$  ocasionaban una disminución en la proliferación de células (Rosas-Hernández et al., 2009). Park y col. (2010) encontraron que a concentraciones de 0.2, 0.4, 0.8 y 1.6 ppm de AgNPs con un tamaño de partícula promedio de 68.9 nm ocasionaban un aumento en la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) conforme aumenta la concentración de las AgNPs después de 24 horas en líneas celulares de macrófagos peritoneales de rata RAW264.7 (Park et al., 2010). Giovanni y col. (2015) encontraron que a concentraciones de 100 mg/l y 1 g/l de AgNPs con tamaño de partícula entre 25 y 30 nm ocasionaban una disminución significativa en la viabilidad celular con valores de 81% y 84% respectivamente en una línea celular humana de epitelio bucal TR146 después de 24 horas de exposición, mientras que en la línea celular humana NCM460 de células epiteliales de mucosa de colon, la viabilidad celular disminuía a un 83% a concentraciones de 1 g/l después de 24 horas (Giovanni et al., 2015).

A nivel gastrointestinal, se ha reportado que las AgNPs ocasionan úlceras intestinales, argiria y daños en hígado y riñón, también se considera que el paso al torrente sanguíneo es favorecido probablemente por el pH del estómago. De igual manera, se ha reportado que dependiendo de su concentración, pueden actuar como factores anti proliferativos/vasoconstrictores a bajas concentraciones o estimular la

proliferación/vasoconstricción a altas concentraciones (Coutiño et al., 2017). La translocación de las NPs vía barrera intestinal, involucra varios procesos como la difusión a través de la capa mucosa, contacto con enterocitos, células M, etc., siendo el mecanismo más común de asimilación en las células epiteliales intestinales la endocitosis (Bergin & Witzmann, 2013), aunque también se sabe que el tejido linfoide del intestino puede captar las AgNPs intestinales (Ávalos et al., 2013). Pindáková et al, 2017, referenció el trabajo de Walckzack et al, 2012, quienes trabajaron utilizando modelos de digestión humana y encontraron que las AgNPs pueden formar agregados en el sistema digestivo y después volver a dispersarse (Pindáková et al., 2017).

Un estudio de Loeschner et al, 2011, resaltó que a concentraciones de 450 µg/ml de AgNPs (14 nm) vía oral por 28 días en ratas, el mayor nivel de concentración de AgNPs se presentaba en el intestino delgado, estómago, riñón e hígado (Loeschner et al., 2011) . Espinosa et al, 2013 observaron que a concentración de 535 µg/ml, la concentración de AgNPs de 36 nm en intestino delgado de rata era mayor que la concentración de las AgNPs de 14 nm, no encontrando alteraciones histopatológicas, pero las concentraciones de Ag en intestino delgado fueron mayores que en riñones, hígado y cerebro, sugiriendo que debido al proceso de absorción de nutrientes realizado en el intestino delgado se pudiera favorecer la acumulación de plata en este órgano y a largo plazo pudiera tener efectos deletéreos (Espinosa-Cristobal et al., 2013).

Otros enfoques en la investigación de los posibles daños provocados por las AgNPs han sido los biomodelos animales, los cuales se enfocan en el daño tisular y procesos de bioacumulación e internalización asociados a la exposición a las AgNPs; estos modelos resultan de gran utilidad ya que ofrecen un panorama más amplio de los efectos nocivos de las AgNPs en el organismo y sin duda, uno de los organismos más empleados en el estudio de la toxicidad de las AgNPs ha sido el pez cebra (*Danio rerio*); Yazdanparast y col. (2016) expusieron peces cebras jóvenes a concentraciones de 2, 4, 6 y 8 mg/kg que posteriormente se mezclaron con alimento para peces, encontrando que a concentración de 6 mg/kg de AgNPs durante 56 días se producía una mayor deposición de plata en hígado y branquias, produciendo además

alteraciones histopatológicas como inflamación de la membrana de las lamelas secundarias e hiperplasia filamentosa en las branquias, congestión de vasos sanguíneos así vacuolización y degeneración de hepatocitos (Yazdanparast et al., 2016). Lacave y col. (2017) realizaron un estudio donde expusieron camarones a distintas concentraciones de AgNPs  $100 \text{ ng Ag L}^{-1}$  y  $100 \mu\text{gAg L}^{-1}$ ) durante 24 horas, para posteriormente servir como alimento para peces cebra durante 21 días, la investigación concluyó que cuando los peces cebra eran alimentados con camarones expuestos a altas dosis de PVP/PEI-AgNPs de 5 nm, la plata tendía a acumularse en mayor cantidad en intestino e hígado que en aquellos peces que eran alimentados con camarones expuestos a dosis bajas de AgNPs después de 21 días (Lacave et al., 2017); otro estudio del mismo autor en 2018, estudió el efecto de bioacumulación y daño tisular en peces cebra expuestos a concentraciones de  $10 \mu\text{g/l}$  de AgNPs de 20 nm recubiertas con maltosa durante 21 días, encontrando que al término de los 21 días, la plata se acumulaba principalmente en el epitelio intestinal y en células hepáticas (Lacave et al., 2018). Osborne y col. (2015) descubrieron que cuando se exponían peces cebra a una concentración de 1 ppm de AgNPs recubiertas con citrato con tamaños de 20 y 100 nm durante 4 días, las AgNPs se depositaban principalmente en branquias e intestino y de los cuales, mediante una tinción argéntica detectaron que en las branquias, la plata se deposita principalmente en los filamentos secundarios, mientras que en intestino la plata tiende a acumularse en la membrana basolateral; este mismo estudio realizó pruebas histológicas para determinar el daño tisular ocasionado por estas AgNPs, encontrando evidencia de pérdida de filamentos primarios y secundarios en branquias así como hiperplasia e inflamación cuando se exponían a AgNPs de 20 nm mientras que al exponerse a AgNPs de 110 nm el daño ocasionado era menor, encontrando evidencia de inflamación de filamentos secundarios en branquias. En el intestino, las AgNPs de 20 nm ocasionaron disminución en el número de vellosidades, aumento de células caliciformes y daño parcial en la lámina propia, mientras que las AgNPs de 110 nm fueron responsables de vacuolización y un daño parcial de la lámina propia (Osborne et al., 2015). Estos

estudios demostraron que las AgNPs son agentes causales de daño a la integridad intestinal en pez cebra.

Además del pez cebra, otros modelos animales como el pez perca (*Perca flavescens*) (J. D. Martin et al., 2018), trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Bruneau et al., 2016), carpa (*Cyprinus carpio*) (Xiang et al., 2020) o modelos terrestres como ratones (Y.-H. Lee et al., 2014; Tabatabaei et al., 2015), ratas (T. Garcia et al., 2016; González et al., 2011), nematodos (Ahn et al., 2014), nereis (*Nereis diversicolor*) (García-Alonso et al., 2011), entre otros han sido empleados para el estudio toxicológico de las AgNPs. Una de las cualidades de estos enfoques radica en que se puede obtener un abanico más amplio de información debido a que estructuralmente son más complejos que los modelos celulares, además, esta complejidad permite establecer relaciones entre los procesos que se llevan a cabo dentro de un sistema y no solo en una parte de él, logrando dilucidar mecanismos de acción globales del sistema orgánico estudiado.

### **Bases fisiológicas del intestino delgado**

Nuestro organismo obtiene los nutrientes necesarios para su óptimo funcionamiento mediante la ingesta de alimentos de origen animal o vegetal proporcionando la cantidad adecuada de carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales que servirán como el “combustible” que haga funcionar nuestro cuerpo mediante procesos de ingestión, secreción, mezcla y propulsión (motilidad), digestión, absorción y defecación (Tortora & Derrickson, 2011) lo cual es posible gracias al sistema digestivo.

El sistema digestivo inicia en la cavidad bucal y termina en la cavidad anal; este sistema se puede dividir a su vez en dos partes, el tracto digestivo y los órganos digestivos secundarios, donde la boca, faringe, esófago, estómago, intestino grueso, intestino delgado e intestino grueso, mientras que los órganos secundarios son los dientes, glándulas salivales, páncreas, hígado y vesícula biliar (Marieb, 2008), siendo principalmente el intestino delgado, el sitio donde se efectúa la mayor parte de la absorción de nutrientes (Martini et al., 2009).

### Imagen no mostrada

**Figura 3.** Segmentos anatómicos del intestino delgado: Duodeno (azul), Yeyuno (morado), Íleon (rosa) (imagen tomada del libro *Anatomía Humana 6ª edición* (Martini et al., 2009)).

El intestino delgado es un tubo que puede medir entre 5 a 8.3 m de largo y 4 centímetros de diámetro en el cual se realiza cerca del 90% de la absorción de nutrientes (Martini et al., 2009). Estructuralmente, la pared del intestino delgado se compone principalmente de 4 capas principales: mucosa, submucosa, muscular y serosa (Tortora & Derrickson, 2011), siendo la capa mucosa la que reviste el interior del intestino delgado que posee proyecciones digitiforme denominadas microvellosidades, las cuales incrementan la superficie de absorción del intestino delgado, alcanzando 200 m<sup>2</sup>, (Martini et al., 2009) mejorando su capacidad de absorción de nutrientes. Anatómicamente se divide en tres segmentos, duodeno, que inicia en la unión pilórica con el estómago y mide 25 cm, el yeyuno que puede alcanzar los 2.5 metros de largo y el íleon, que es la región más grande, llegando a medir hasta 3.5 metros (Martini et al., 2009) (Figura 3).

En general, el intestino delgado consta de cuatro capas principales: mucosa, submucosa, muscular propia y serosa (Berne & Levy, 2009) (Figura 4): la capa mucosa se compone del epitelio, donde se encuentran diversos tipos celulares como los enterocitos, células caliciformes, células de Paneth, células enteroendocrinas y células M, a su vez, en la superficie epitelial existen estructuras que ayudan a ampliar la superficie de absorción del intestino, como los pliegues circulares o válvulas de Kerckring, las vellosidades y las microvellosidades (Berne & Levy, 2009; Ross & Pawlina, 2016); la lámina propia que es rica en colágeno y fibras de elastina, glándulas, vasos linfáticos y nódulos, capilares y terminaciones nerviosas y la muscular de la mucosa formada por una capa de musculo liso longitudinal y otra de musculo liso circular (Berne & Levy, 2009; Leeson et al., 1990). Posteriormente, viene una capa que se extiende entre la mucosa y la muscular externa denominada submucosa que contiene tejido conjuntivo denso y acumulaciones de adipocitos y fibras elásticas que

permite la movilidad de la mucosa (Leeson et al., 1990; Ross & Pawlina, 2016). Es en esta capa donde se encuentra una red de células nerviosas posganglionares denominadas *plexo submucoso o de Meissner* (Berne & Levy, 2009; Leeson et al., 1990).

La siguiente capa, denominada muscular externa o túnica muscular, está compuesta por una capa interna de células musculares lisas longitudinales y circulares, y entre ambas capas musculares se encuentra un plexo vascular y nervioso denominado *plexo mientérico o de Auerbach* (Leeson et al., 1990; Ross & Pawlina, 2016), la última capa se compone de tejido conectivo areolar denso y elástico que cuando se mezcla con el tejido conectivo se denomina *adventicia*, mientras que cuando se cubre por peritoneo se denomina *serosa* (Leeson et al., 1990).

### **Peristalsis**

Como ya se mencionó, es en el intestino delgado donde se realiza la mayor parte del proceso de absorción de nutrientes, pero para ello es necesario que el alimento transite a lo largo del intestino mediante un proceso coordinado de contracción y relajación denominado *peristalsis* (Berne & Levy, 2009), este mecanismo se ve favorecido debido a que la estructura del intestino delgado en su cuatro capas principales permite el desarrollo de procesos fisiológicos y mecánicos que conllevan al tránsito del alimento a lo largo del tubo.

Una vez que el alimento ingerido se ha transformado en bolo alimenticio, este pasa al estómago y por acción de los jugos gástricos lo transforma en una sustancia pastosa denominada *quimo*, la cual pasará al intestino delgado generando una distensión del tubo digestivo, estimulando el sistema nervioso entérico para que inicie el reflejo contráctil que formará un anillo de contracción, iniciando el reflejo peristáltico empujando el contenido intestinal en dirección anal, distendiendo la zona distal del intestino posterior al contenido alimenticio (Hall & Guyton, 2016; Ross & Pawlina, 2016).

**Imagen no mostrada**

**Figura 4.** *Capas del intestino delgado (imagen obtenida del libro Anatomía y fisiología humana 9ª edición (Marieb, 2008)).*

Este reflejo peristáltico tiene su origen en los plexos mientérico y submucoso; mientras el plexo mientérico tiene como papel principal la regulación de la actividad motora, el plexo submucoso se encarga de la regulación de la función secretora (Gallego et al., 2016), estos plexos que forman parte del sistema nervioso entérico (SNE) se encargan de regular la motilidad intestinal.

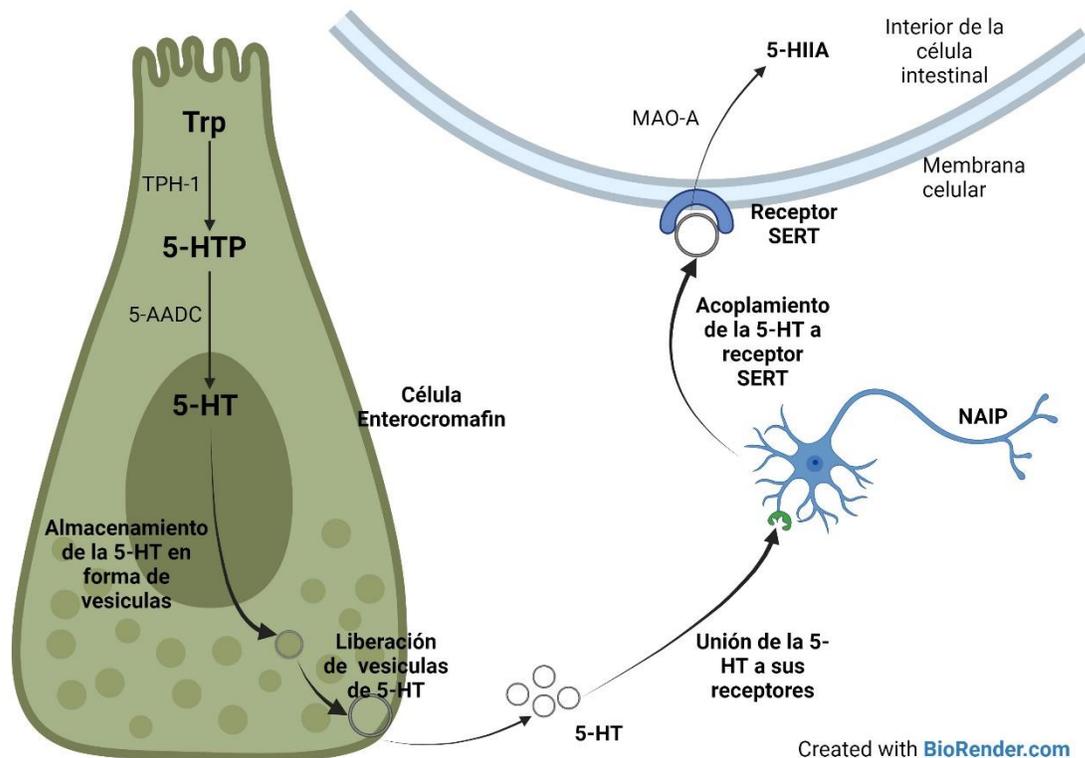
El sistema nervioso entérico (SNE) como tal, se conforma de distintos tipos de neuronas: las *células aferentes intrínsecas primarias (NAIP)* que reaccionan a estímulos mecánicos y químicos; las neuronas motoras o motoneuronas que pueden ser inhibitoria (reaccionan a neurotransmisores como óxido nítrico [NO], péptido intestinal vasoactivo [PIV], ATP, etc.) o excitatorias (reaccionan a neurotransmisores como acetilcolina [ACh] y taquicininas); las interneuronas que integran la información de las NAIP y la envían a las motoneuronas, se clasifican en ascendentes (dirección anal-oral) y descendentes (oral-anal); y por último, las neuronas viscerofugas (intestínofugas), las cuales tienen proyecciones en la pared intestinal haciendo sinapsis con los ganglios mesentérico superior, inferior y con el ganglio celiaco

formando un circuito con neuronas noradrenérgicas simpáticas controlando la motilidad y secreción intestinal cuando detectan cambios en el volumen intestinal (Gallego et al., 2016; Hibberd et al., 2012; Romero-Trujillo et al., 2012). El movimiento peristáltico es producto de la estimulación inicial de las NAIPs que transmiten la información a las interneuronas, las interneuronas ascendentes inducirán la contracción mediante la ACh o la sustancia P, mientras que las interneuronas descendentes inhiben la contracción mediante opiáceos endógenos como el péptido intestinal vasoactivo (PIV) o el NO; las interneuronas a su vez envían la información a las motoneuronas, produciendo contracción en el músculo liso al activar las motoneuronas excitatorias y relajación del músculo liso cuando se activan las neuronas inhibitorias, siendo responsables de regular la ritmicidad unas estructuras denominadas células intersticiales de Cajal (Dijkstra et al., 2004; Romero-Trujillo et al., 2012).

Es posible concluir que el reflejo peristáltico no solo es un movimiento mecánico aleatorio, sino que en él están implicados mecanismos bioquímicos y fisiológicos que se encargan de mantener el óptimo desempeño de este reflejo; parte de estos mecanismos bioquímicos tiene que ver con la secreción de mediadores implicados en la neurotransmisión, dos de ellos de suma importancia debido a los efectos contráctiles y relajantes que producen, refiriéndonos respectivamente a la serotonina o también conocida como 5-hidroxitriptamina (5-HT) y el NO.

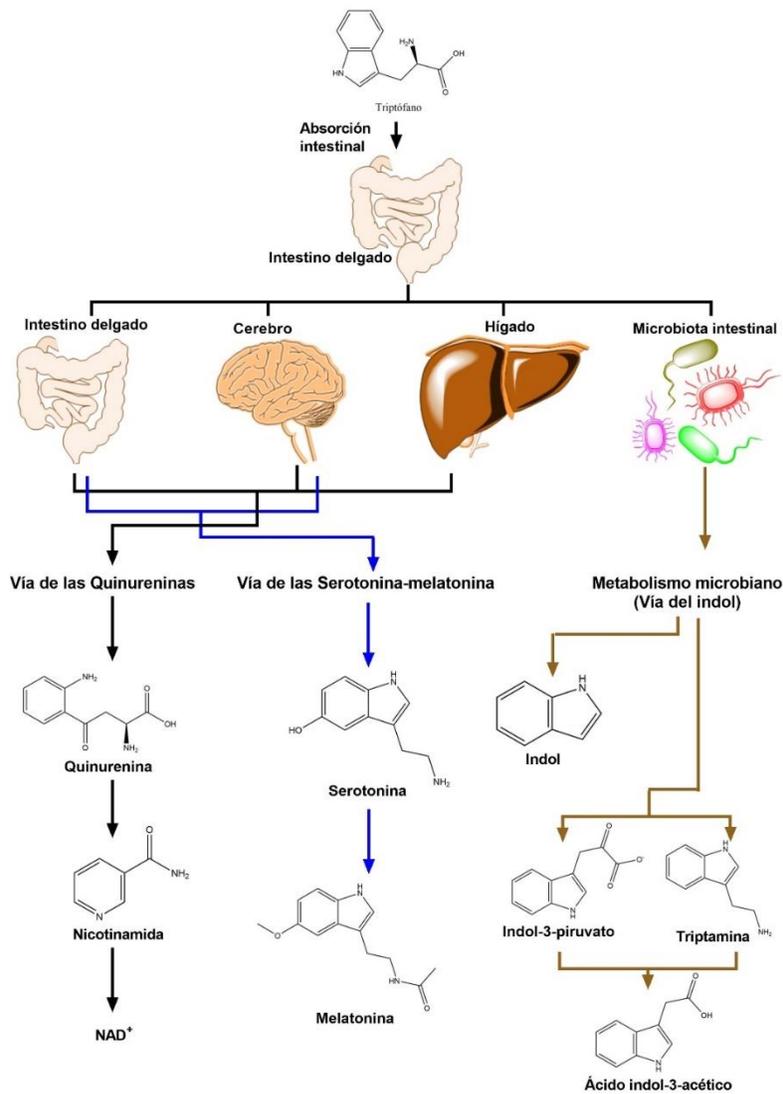
La 5-HT es una molécula de señalización que inicia reflejos peristálticos y secretorios, así como la modulación de la absorción intestinal de nutrientes (Alcalde Herrero, 2011); su liberación es uno de los pasos críticos en la transducción de información sensorial desde el lumen intestinal hasta las neuronas internas y externas que inervan el intestino delgado (Bertrand, 2006) mediante estímulos mecánicos o químicos que en su mayoría no interactúan directamente con los nervios aferentes, pero sí activan células especializadas en el epitelio, para el caso de la 5-HT, activa las células enterocromafines (CE), un tipo de células enteroendócrinas (EE) que se encargan de producir y almacenar 5-HT (Bertrand & Bertrand, 2010).

La 5-HT se sintetiza a partir de su precursor, el triptófano (Trp) principalmente en las CE por acción de su enzima limitante, la Trp hidroxilasa 1 (TPH-1) que transforma el Trp en 5-hidroxitriptofano (5-HTP) para finalmente y por acción de la 5-L-aminoácido descarboxilasa (5-AADC) convierte la 5-HTP a 5-HT (Bertrand & Bertrand, 2010). Un incremento en la presión intraluminal causa que las CE secreten 5-HT lo que iniciaría el reflejo peristáltico, además de que las neuronas serotoninérgicas sintetizaran 5-HT dentro del SNE para regular la actividad intestinal (Swami & Weber, 2018). La 5-HT se libera por procesos externos dependientes de calcio que pueden ser promovidos por agonistas en los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, así como agonistas en receptores muscarínicos, nicotínicos y 5-HT<sub>3</sub>; además, la activación de los receptores muscarínicos induce la liberación de 5-HT en ausencia de iones de calcio extracelular (Bertrand, 2006). Las acciones de 5-HT culminan por la absorción a través del transportador de recaptación de 5-HT (SERT, un transportador dependiente de Na<sup>+</sup>/Cl) en células epiteliales, y una vez dentro de las células epiteliales, se degrada a ácido 5-hidroxiindolacético o puede ser liberado en la lámina propia y entrar a circulación portal encontrándose como 5-HT libre o dentro de plaquetas (**Figura 5**) (Bertrand & Bertrand, 2010; Scotton et al., 2019) (Bertrand & Bertrand, 2010).



**Figura 5. Síntesis y liberación de la 5-HT.**

Como ya se mencionó, el Trp es el precursor de la 5-HT, el cual es un aminoácido esencial que químicamente se define como un ácido indolpropiónico aromático descubierto en 1901 por Hopkins y Cole (Sainio et al., 1996), y cuyo nombre de acuerdo a la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, por sus siglas en inglés) es ácido 2-amino-3-(1H-indol-3-il) propanoico (Vilaplana, 2016). La importancia del Trp radica en que su metabolismo da lugar a compuestos biológicamente importantes en el organismo tales como la 5-HT (mencionada previamente), la melatonina, las quinureninas y compuestos del indol (metabolismo microbiano) que están implicados en diversos procesos fisiológicos normales como la digestión, control de ciclos circadianos, reparación de ADN, control de ciclos circadianos, entre otros (Badawy, 2017; Brzezinski, 1997; Haq et al., 2021; Hasler, 2009)., así también pueden estar presentes en procesos patológicos a nivel gastrointestinal (**Figura 6**).



**Figura 6.** Vías del triptófano. El Trp se puede metabolizar mediante 3 vías: la vía de las quinureninas (líneas negras), la cual se lleva a cabo en cerebro, intestino e hígado y utiliza entre el 90 y 95% del Trp consumido; la ruta de la serotonina-melatonina, esta ruta utiliza del 1 al 2% del Trp consumido y se lleva a cabo principalmente en intestino delgado y cerebro (líneas azules) y la vía del indol o metabolismo microbiano, esta vía consume del 4 al 6% del Trp consumido y se lleva a cabo por las bacterias que componen la flora intestinal (líneas cafés) (Badawy, 2020; Bubenik, 2002; Haq et al., 2021; Oladimeji & Chen, 2018).

Otro mediador importante del tracto gastrointestinal es el NO, un radical libre que actúa como una molécula de señalización que es generada por enzimas de la familia P450 denominadas NOS (óxido nítrico sintasas) (Shah et al., 2004) que se sintetiza a partir de la L-arginina por una NO sintasa constitutiva en las células endoteliales y juega un papel importante en la regulación del flujo sanguíneo gastrointestinal (Calignano et al., 1992) y que está relacionado con otros procesos importantes como un inhibidor no adrenérgico no colinérgico (NANC) relajante de células musculares lisas, promueve el acomodo y vaciamiento gástrico, también juega un papel importante en la perfusión y regulación promoviendo la vasodilatación, mientras que la isoforma iNOS está implicada en los procesos inflamatorios y carcinogénicos del sistema gastrointestinal (Shah et al., 2004).

Las NOS se pueden clasificar principalmente en dos tipos, las constitutivas, a las cuales pertenecen las endoteliales (eNOs o tipo III) y la neuronal (nNOS o tipo I), las cuales son reguladas por calcio intracelular mediante activación de la calmodulina, (Dijkstra et al., 2004). mientras que la inducible (iNOS o tipo II) es inducida por citocinas o lipopolisacáridos y se expresa principalmente en macrófagos (Habib & Ali, 2011). Para la síntesis de NO, se requiere de la presencia de L-arginina, NADPH y O<sub>2</sub>, así como de la participación de los cofactores FAD, FMN, calmodulina, hemo y tetrahidrobiopterina (García-González & Peña, 1998). La relevancia de la isoforma que sintetiza al NO radica en que esta determinará la actividad o función que desarrollara en el organismo; estas funciones se muestran en la Tabla 1.

El inicio de la síntesis de NO por efecto de la activación de su sintasa dependerá de mecanismos de activación de receptores o de estimulación; la síntesis de NO endotelial se inicia debido a estímulos como el flujo pulsátil o la activación de receptores (bradiquinina, ACh) lo cual tiene como resultado un incremento en las concentraciones intracelulares de calcio (Ca<sup>2+</sup>) y la activación de la eNOs (García-González & Peña, 1998; X. Garcia & Stein, 2006; Sánchez Hernández, 2003). Una vez sintetizado, el NO se difunde por todas las células del músculo para posteriormente unirse a la enzima guanilato ciclasa en su grupo hemo, dando lugar a la conversión del trifosfato de guanósina (GTP) a monofosfato de guanósina cíclico (GMPc) el cual

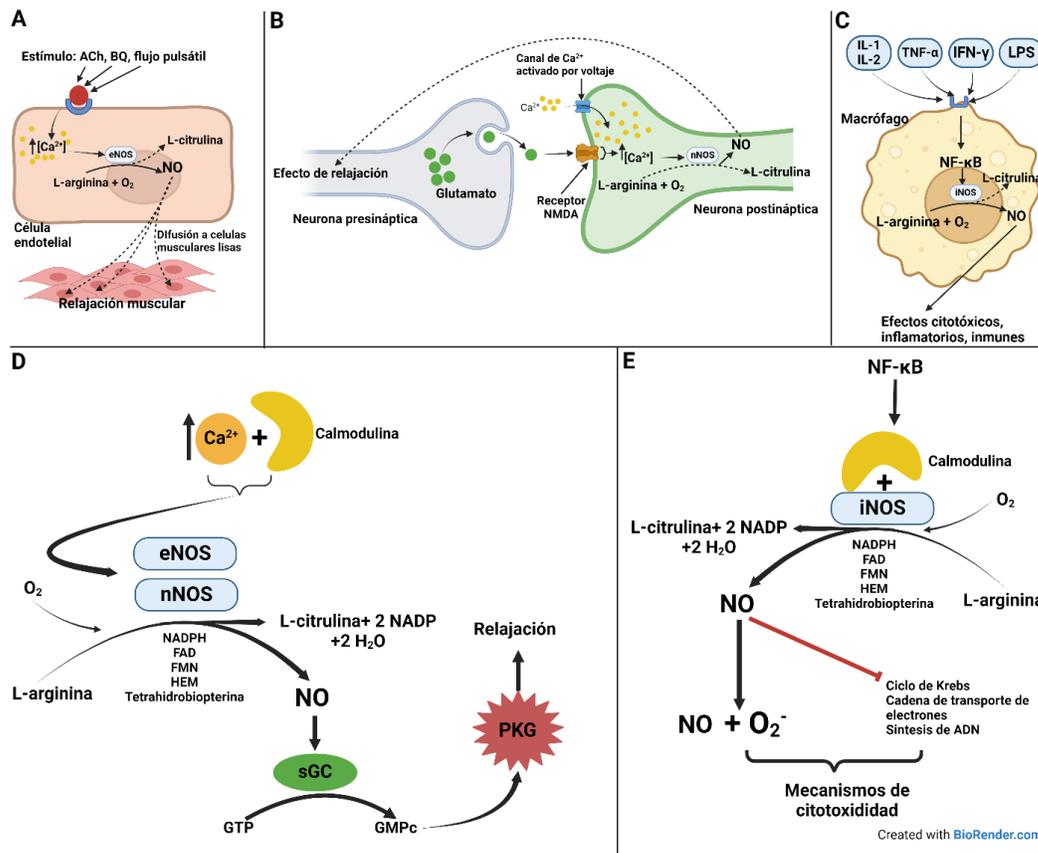
activa la proteína quinasa G (PKG) produciendo el efecto de relajación (X. Garcia & Stein, 2006; Mata et al., 2010; Shah et al., 2004).

Isoforma NOS	Función del NO
eNOS	Mediador en transmisión de estímulos. Regulación de flujo sanguíneo. Inhibición de proliferación celular. Relajación de musculatura lisa. Vasodilatación. Inhibición de agregación plaquetaria.
nNOS	Neurotransmisión NANC. Relajación de la musculatura lisa en el tracto GI. Control del peristaltismo intestinal, actividad de esfínteres y digestión. Mediador de mecanismos de acción de drogas y hormonas.
iNOS	Procesos inflamatorios. Citotoxicidad. Mediador de la respuesta inmune.

En el caso de la síntesis de NO neuronal, esta está dada principalmente por la activación de receptores NMDA en las neuronas postsinápticas al unirse al glutamato liberado desde las neuronas presinápticas, esta unión permite la entrada de los iones calcio y su unión a calmodulina, lo que iniciara la síntesis de NO en las neuronas postsinápticas por activación de la nNOS (Snyder & Bredt, 1992), aunque también se sabe que nNOS puede ser activada por la apertura de canales de Ca<sup>2+</sup> activados por voltaje a raíz de la despolarización de la membrana (Habib & Ali, 2011) ; a nivel gastrointestinal, a este mecanismo se le conoce como inhibición NANC (Shah et al., 2004).

La síntesis de NO neuronal a nivel intestinal ocurre principalmente en el plexo mientérico, que es el lugar donde se encuentran el 50% de los nervios que contienen nNOS (Dijkstra et al., 2004) y sigue el mismo mecanismo de la síntesis de NO endotelial, la cual parte de la conversión de la L-arginina a L-citrulina y NO, esta última, una vez sintetizada se difundirá a través de la membrana de la neurona postsináptica y llegara a la neurona presináptica, promoviendo la conversión de la GTP a GMPc y la

posterior activación de la PKG para promover los efectos de relajación (Habib & Ali, 2011; Shah et al., 2004; Snyder & Brecht, 1992). La sintasa inducible de NO, a diferencia de las sintasas constitutivas (eNOS y nNOS) no es dependiente de calcio ya que se encuentra unida a calmodulina y para ser activada no requiere del incremento de las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, sino que es activada por la acción de citocinas como la IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (García-González & Peña, 1998); la síntesis de NO a partir de este punto seguirá el mismo mecanismo que se sigue por la activación de las sintasas de NO constitutivas (Ånggård, 1994; Vanini et al., 2015), sin embargo, sus efectos difieren de las sintasas constitutivas, ya que el NO sintetizado mediante iNOS tiene funciones principalmente citotóxicas, actuando mediante la inhibición de enzimas necesarias para procesos como el ciclo de Krebs, la cadena de transporte de electrones, la síntesis de ADN así como mediante la unión a especies reactivas como el radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) (M. Martin et al., 2001) Los mecanismos de síntesis y acción del NO de acuerdo a su isoforma se muestran en la Figura 7.



**Figura 7.** Mecanismos de síntesis y acción del NO. A) La célula endotelial recibe estímulos externos (ACh: Acetil colina; BQ; bradiquina) lo que incrementa la concentración de calcio intracelular, activando eNOS para sintetizar NO el cual se difundirá en la células musculares lisas cercana promoviendo la relajación muscular; B) nNOS se activa por el incremento de calcio intracelular debido a la unión del glutamato a su receptor NMDA o la apertura de canales de calcio activados por voltaje tras la despolarización de la membrana, el NO producido difundirá por la membrana de la neurona postsináptica y regresará a la neurona presináptica donde ejercerá su función; C) La presencia de citosinas, lipopolisácaridos, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  activan el factor nuclear de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- $\kappa$ B) y a su vez, este activa iNOS para la posterior síntesis de NO; D) Síntesis y mecanismo de acción de NO a partir de las isoformas constitutivas (eNOS y nNOS); E) Síntesis y mecanismos de acción de NO a partir de iNOS. (Ånggård, 1994; Dijkstra et al., 2004;

García-González & Peña, 1998; Mata et al., 2010; Shah et al., 2004; Snyder & Bredt, 1992; Vanini et al., 2015).

### **Absorción intestinal**

El tránsito de los alimentos digeridos a lo largo del intestino delgado gracias al reflejo peristáltico no es el único proceso que se lleva a cabo, sino que paralelamente, los nutrientes presentes en los alimentos se van absorbiendo en cada uno de los segmentos que conforman el intestino delgado; para que este fenómeno se lleve a cabo, es necesario que los diversos tipos de nutrientes sean transportado desde el lumen intestinal hacia los compartimientos celulares y de ahí pasen a la circulación general para que cada molécula llegue a los órganos que así las requieran; esto es posible gracias a un complejo conjunto de mecanismos de transporte a través de membranas que se explica a continuación para posteriormente explicar cómo se absorben los nutrientes a lo largo del intestino delgado.

### **Mecanismos de absorción de membrana**

Se distinguen principalmente dos tipos de transporte: el **transporte activo** y el **transporte pasivo**.

- A) El transporte pasivo es aquel que no requiere un gasto energético y se divide en 2 tipos: la difusión simple que consiste en el paso del soluto de una región de mayor concentración a una región de menor concentración (o de gradientes electroquímicos si nos referimos al paso de iones), mientras que la difusión facilitada consiste en el paso de solutos gracias a la participación de proteínas integrales de membrana como canales iónicos, porinas y transportadores facilitadores (Karp, 2009; Koolman & Röhm, 2012; Mckee et al., 2003). Los canales iónicos a su vez se clasifican en a) canales abiertos por voltaje, b) canales abiertos por ligando y c) canales controlados mecánicamente (Karp, 2009).
- B) El transporte activo, a diferencia del pasivo, si requiere gasto de energía, el cual está dado por la hidrólisis de moléculas de ATP, esto como consecuencia de que el paso de solutos va *cuesta arriba* (contra el gradiente

de concentración), es decir, va de lugares de menor a mayor concentración (Karp, 2009). A su vez, el transporte activo se puede clasificar en a) transporte activo primario que consiste en que por acción del ATP la proteína transportadora sufre modificaciones estructurales con el objetivo de bombear una sustancia cuesta arriba (contra del gradiente de concentración) y b) transporte activo secundario en el cual el transporte de sustancias está dado por la acumulación de energía de gradientes de  $\text{Na}^+$  o  $\text{H}^+$  (Tortora & Derrickson, 2011).

En lo que respecta al transporte de agua, esta ingresa a las células por un fenómeno denominado *osmosis*, el cual consiste en el paso del agua a través de una membrana semipermeable desde una región de baja concentración a una de alta concentración, ocasionado por una diferencia en la presión osmótica, la cual se define como la presión hidrostática requerida para detener el flujo neto de agua a través de una membrana y la presión osmótica dependerá de la concentración del soluto (Jaramillo et al., 2006; Karp, 2009; Mckee et al., 2003; Nelson & Cox, 2009).

Existe otro tipo de transporte denominado **transporte vesicular**, el cual consiste en el envolvimiento de partículas grandes por medio de estructuras denominadas **vesículas** para internalizarlas en la célula; de este tipo de transporte, existen dos mecanismos: endocitosis y exocitosis, (Koolman & Röhm, 2012; Stillwell, 2013).

La endocitosis es un mecanismo de transporte vesicular que consiste en la elaboración de vesículas a manera de invaginaciones de la membrana plasmática con el fin de internalizar grandes biomoléculas como lípidos, proteínas o líquido extracelular y se distinguen 4 mecanismos: la endocitosis mediada por receptores (dependiente de clatrina, caveolina, independiente de clatrina/caveolina), fagocitosis, macropinocitosis y pinocitosis (Koolman & Röhm, 2012; Yameen et al., 2014).

A) Fagocitosis: Consiste en la internalización de grandes estructuras como células viejas o microorganismos patógenos por medio de la extensión de la membrana plasmática que recibe el nombre de “seudópodos” que se forman cuando la partícula se une a un receptor envolviendo a la partícula a engullir

que termina en la formación de una estructura denominada fagosoma que llevará la molécula, célula, microorganismo al interior de la célula; esta forma de endocitosis se da principalmente en células epiteliales, inmunes, fibroblastos entre otras (Koolman & Röhm, 2012; Tortora & Derrickson, 2011; Yameen et al., 2014).

- B) Pinocitosis: Consiste en la internalización de líquidos extracelulares, incluyendo moléculas disueltas en él; este proceso consiste en la formación de una invaginación de la membrana plasmática que atrapa el líquido y lo transporta al citosol (Iversen et al., 2011; Koolman & Röhm, 2012).
- C) Endocitosis mediada por clatrina: Es un mecanismo mediado por receptores. La formación de las vesículas ocurre cuando un ligando se une a un receptor, tras lo cual, el complejo ligando-receptor se ve encerrado en una cavidad revestida por clatrina que terminará formando una celda hexagonal generada por la participación de una tríplice unión de clatrina que dará lugar a una vesícula, la cual será escindida por acción de la dinamina para que la vesícula llegue al citoplasma (Behzadi et al., 2017; Yameen et al., 2014).
- D) Endocitosis independiente de clatrina y caveolina: Es un mecanismo endocítico mediado por receptores que requiere la presencia de proteínas para la formación de las vesículas tales como Arf-6, RhoA, los cuales participan en distintos mecanismos, en el caso de RhoA, en un mecanismo dependiente de dinamina (RhoA-caveolina/caveola dependiente de balsas lipídicas) o un mecanismo independiente de dinamina (Cdc42 dependiente y Arf-6 independiente). (Yameen et al., 2014).
- E) Endocitosis mediada por caveolina: Otro mecanismo de endocitosis mediada por receptores; el mecanismo es parecido a la endocitosis mediada por clatrina con la diferencia de que la proteína que juega un rol principal es la caveolina y las proteínas involucradas en la formación de la vesícula característica en forma de matraz son las caveolinas (CAV2, CAV2 Y CAV3) (Behzadi et al., 2017; Yameen et al., 2014).

F) Macropinocitosis: Este mecanismo consiste en la formación de grandes pseudópodos por acción de un reacomodo del citoesqueleto el cual se une con la membrana formando una vesícula de entre 0.2 a 5  $\mu\text{m}$  con el fin de internalizar grandes cantidades de líquido extracelular (Behzadi et al., 2017).

La exocitosis es otro mecanismo de transporte vesicular que consiste en el paso de moléculas desde el compartimiento celular al medio extracelular, el cual se da cuando las vesículas que previamente se han sintetizado en los ribosomas y empaquetado en el aparato de Golgi se fusionan con la membrana celular gracias a la presencia de las proteínas llamadas SNARE, que permiten la fijación y fusión de las vesículas a la membrana para posteriormente ser liberadas al medio extracelular (Jaramillo et al., 2006; Koolman & Röhm, 2012).

Por último, se sabe que existen mecanismos paracelulares de transporte a través de membranas. Este mecanismo se efectúa cuando las moléculas hidrofílicas del medio extracelular pasan a través de las uniones estrechas entre las células (Barthe et al., 1999) tales como iones, azúcares, aminoácidos y nucleótidos (Stillwell, 2013).

El estudio de estos mecanismos en el contexto de las NPs resulta de suma importancia debido a que muchos de los daños pueden ser originados por la internalización de las NPs en los órganos, especialmente en el intestino delgado.

### **Absorción de nutrientes en el intestino delgado**

Para que los nutrientes presentes de los alimentos puedan ser aprovechados por el organismo, es necesario que sean absorbidos y transportados a las distintas partes del organismo que los requieran; este proceso de absorción de nutrientes se lleva a cabo principalmente en el intestino delgado, donde péptidos, lípidos, vitaminas y minerales son absorbidos en los distintos segmentos del intestino; estos nutrientes tendrán diversas funciones en el organismo, como el aporte de energía o el crecimiento y la reparación celular por mencionar algunos. Se sabe que en el intestino se llevan a cabo algunos de los mecanismos de transporte de membranas tales como la difusión pasiva, endocitosis, transportadores y transporte paracelular (Barthe et al., 1999).

Como ya se mencionó previamente, la mucosa intestinal está recubierta por vellosidades junto con otras estructuras como las microvellosidades o las válvulas de Kerckring, las cuáles además de su función absortiva, permiten aumentar el área superficial del intestino para un mejor aprovechamiento de estos nutrientes. Las vellosidades están recubiertas por enterocitos, que son células absortivas especializadas que se encargan de transportar los nutrientes desde el lumen al sistema circulatorio (Ross & Pawlina, 2016). Es de suma importancia considerar que el intestino delgado se divide en tres segmentos: duodeno, yeyuno e íleon, donde en cada uno de ellos, se llevarán a cabo los procesos de absorción de nutrientes, los cuales se encargan de absorber distintos tipos de nutrientes de acuerdo con el segmento y su especialización estructural. Estas diferencias pueden ser debidas en parte a las diferencias histológicas entre los segmentos, cobrando gran relevancia el número y la estructura de las vellosidades intestinales, las cuales son más largas y abundantes en el segmento de duodeno y conforme se avanza por el intestino delgado, el número y la longitud de las vellosidades se ve disminuida (Ferrufino et al., 1996).

Entre los nutrientes que se absorben en el intestino delgado se encuentran los oligoelementos, los cuales son bioelementos que se encuentran en pequeñas cantidades en el organismo pero que son importantes para que se lleven a cabo importantes procesos fisiológicos; estos oligoelementos se absorben en el intestino delgado aunque no todos en el mismo segmento, por ejemplo, se sabe que el zinc (Zn) es absorbido a lo largo del intestino principalmente en el yeyuno (Cousins & Liuzzi, 2018), aunque otros autores refieren a que la mayor parte de la absorción del zinc se efectúa en el íleon (Cudeiro, 2005; E. C. Foulkes, 1984) y su entrada al interior del enterocito esta mediada por los transportadores ZIP4 localizados en la membrana apical de los enterocitos (Cousins & Liuzzi, 2018), así como el cobre que se absorbe principalmente a nivel de duodeno (Van Den Berghe & Klomp, 2009); otros elementos como el hierro se absorben principalmente en la región duodenal mientras que el magnesio se puede absorber a lo largo de todo el intestino delgado (Cudeiro, 2005).

Otros nutrientes importantes son los carbohidratos, los cuales, previo a su absorción pasan por procesos de descomposición para transformar azúcares

complejos en moléculas más sencillas como la glucosa, galactosa o fructosa; los mecanismos de absorción en el intestino delgado para estos tres azúcares están basados en el transporte activo al interior del enterocito por cotransportadores de glucosa/galactosa y sodio ubicados en la membrana de los bordes en cepillo (SGLT1) mientras que la fructosa es transportada de manera pasiva mediante transportadores GLUT5 ubicados en la membrana de los bordes en cepillo y una vez en el enterocito, estos tres azúcares pasaran al torrente sanguíneo mediante difusión facilitada por la membrana basolateral del enterocito mediante transportadores GLUT2, aunque también se ha propuesto como otra ruta de absorción un mecanismo paracelular (Gromova et al., 2021; Wright et al., 2003).

Los péptidos y los aminoácidos son otro tipo de biomoléculas que son absorbidas en el intestino, principalmente en la región proximal del yeyuno aunque también se sabe que una pequeña fracción se puede absorber en el íleon (Silk et al., 1985) para posteriormente pasar a tomar parte en distintos procesos fisiológicos; se sabe que entre  $\frac{1}{3}$  y  $\frac{1}{2}$  de la proteína consumida se hidroliza en aminoácidos libres por acción de enzimas pancreáticas mientras que el resto son péptidos de 2 a 6 aminoácidos (Hobson & Hobson, 2007) que para que puedan ser absorbidos en el intestino son sometidos previamente a una digestión enzimática por acción de hidrolasas localizadas en las membranas de los bordes en cepillo y en el citosol o a una degradación proteica para aquellos péptidos de bajo peso molecular para que posteriormente sean transportados hacia las células epiteliales (Hobson & Hobson, 2007; Shen & Matsui, 2019); la absorción de péptidos se puede ver aumentada por la presencia de diversas sustancias como ácidos biliares, surfactantes, glicéridos o acil carnitinas (Aungst et al., 1996).

Una vez que los péptidos se han descompuesto en sus estructuras básicas, los aminoácidos, estos entran a los enterocitos gracias a la presencia de transportadores específicos de aminoácidos como el B<sup>0</sup>, el cual es un sistema dependiente de Na<sup>+</sup> e independiente de Cl<sup>-</sup> ubicado en la membrana de los bordes en cepillo de los enterocitos; es adecuado aclarar que gracias a investigaciones recientes, se sabe que no es necesaria la hidrólisis completa de los péptidos, ya que también se

ha sugerido la presencia de transportadores responsables de la absorción de dipéptidos y tripéptidos que son proteínas transmembrana conocidas como cotransportadores H<sup>+</sup>/péptido PepT1; en general, se han propuesto 4 mecanismos de absorción de péptidos desde el lumen intestinal: a) la vía paracelular a través de las uniones estrechas; b) difusión pasiva a través de los enterocitos; c) endocitosis y d) sistemas de transporte mediados por acarreadores (Miner-Williams et al., 2014).

Por su parte, los lípidos son biomoléculas que en la dieta deberían representar del 30 al 35% del consumo total de calorías (Niot et al., 2009), donde entre el 90-95% de los lípidos consumidos corresponde a los triglicéridos y el resto se reparte entre fosfolípidos, esteroides o vitaminas liposolubles (Iqbal & Hussain, 2009).

En el caso de los triglicéridos, el proceso de absorción comienza en la cavidad bucal, donde la liberación de lipasas comenzarán el proceso digestivo, para posteriormente continuar su digestión en el estómago por acción de enzimas gástricas, entrando a continuación al duodeno donde se mezclarán con bilis y jugos pancreáticos donde se efectuarán procesos de emulsificación y micelización, lo que permitirá su correcta absorción en el intestino (Iqbal & Hussain, 2009).

Los fosfolípidos entran en las micelas juntos con los aminoácidos libres ionizados para formar micelas mixtas que ayudan a los lípidos apolares entrar a través de la capa de agua estática que les permitirá alcanzar la membrana de las microvellosidades, y una vez absorbidos se re-esterificarán volviendo a formar triglicéridos y fosfolípidos en el retículo endoplasmático liso para posteriormente tomar parte en la síntesis de quilomicrones, los cuales pasarán a la linfa y de ahí a la circulación general (Ramírez et al., 2001); también se sabe que los productos de desecho de los lípidos pueden entrar en los vasos quilíferos de las vellosidades para ser transportados al hígado a través de la sangre y los fluidos linfáticos (Marieb, 2008).

En el caso del colesterol, este se incorpora en micelas mixtas junto con triglicéridos y fosfolípidos, siendo previamente hidrolizado por acción de la enzima colesterol esterasa; su incorporación a las micelas mixtas le permite al colesterol pasar la capa de agua estática para posteriormente ser absorbido por los enterocitos, cruzando la membranas de los bordes en cepillo mediante transportadores de

colesterol NPC1L1 (Niemann-Pick C1-like 1 protein) que se encuentra en la membrana apical de los enterocitos o las proteínas ABCG5 y ABCG8 de los transportadores dependientes de ATP (ATP-binding cassette) como transportadores de eflujo de colesterol (Iqbal & Hussain, 2009; D. Q. H. Wang, 2007); en tanto, los ácidos biliares se absorben principalmente en el íleon gracias al transportador apical de ácidos biliares dependiente de sodio (ASBT;SLC10A2) en la membrana apical, mientras que en la membrana basolateral el transporte de los ácidos biliares se efectúa gracias al heterodímero OST $\alpha/\beta$  (Ticho et al., 2020).

### **Mecanismos de absorción de AgNPs**

Ya que en el intestino delgado es donde se realiza la mayor parte de absorción de los nutrientes ingeridos de la dieta, se puede asumir con seguridad que también en este órgano se puede llevar a cabo la internalización de las NPs que ingresan al organismo por vía digestiva (Bachler et al., 2013). En años recientes, la investigación sobre la internalización y bioacumulación de las NPs ha tomado gran relevancia debido a la gran cantidad de trabajos de investigación relacionados con estos procesos, algunos de los cuales ya se ha hecho referencia previamente; por ello, es necesario adentrarse también en cuáles son los mecanismos de transporte involucrados en estos fenómenos de internalización.

Se sabe que entre los mecanismos de transporte de membranas, las NPs se internalizan principalmente por procesos endocíticos tales como la endocitosis mediada por clatrina, caveolina, endocitosis independiente de clatrina/caveolina, fagocitosis y macropinocitosis (Behzadi et al., 2017; Donahue et al., 2019), aunque también se ha señalado la existencia de otras rutas alternas de absorción tales como la translocación directa (transporte directo hacia el citoplasma), fusión lipídica (fusión de lípidos de la bicapa con la membrana plasmática de la célula), electroporación (cambio en la conductividad de la membrana y su permeabilidad) o la microinyección (inyección directa de volúmenes pequeños de NPs en el citoplasma) (Donahue et al., 2019).

Otra característica importante de la internalización de las NPs es que el mecanismo por el cual se efectúe este fenómeno está en dependencia de las

propiedades fisicoquímicas de las mismas, diversos trabajos de revisión han remarcado la importancia que tiene la composición química, la elasticidad, el tamaño, la geometría (forma), la carga superficial, recubiertas, ligandos, el estado de agregación o la hidrofobicidad (Behzadi et al., 2017; Donahue et al., 2019; Unfried et al., 2007), aunque también pueden estar implicados otros factores no relacionados con las propiedades de las NPs tales como el tipo de célula al que se exponen las NPs, el microambiente e incluso la formación de las proteínas corona y las dosis (Behzadi et al., 2017; Florence & Hussain, 2001; Unfried et al., 2007; Zavisova et al., 2019).

En el caso de las AgNPs, existen estudios que refieren a sus mecanismos de internalización como el de Bannunah y col. (2014) donde demostraron que al administrar inhibidores de transporte vesicular como dinasore (inhibidor de dinamina) o nocodazol (inhibidor de la red de microtúbulos) se reduce el transporte de NPs de 50 y 100 nm cargadas positiva y negativamente a través de una monocapa lipídica en una línea celular de cáncer de colon Caco-2. En este estudio también encontraron una reducción en la internalización y transporte de las AgNPs cargadas positivamente en un 46% y 38% respectivamente cuando se administraba clorpromazina, que es un inhibidor de la clatrina, así como la inhibición de la macropinocitosis por efecto de 5-(N-etil-N.isopropil)-amilorida disminuyó la internalización y transporte en un 42% y 38% respectivamente de las AgNPs cargadas positivamente, mientras que metil- $\beta$ -ciclodextrina disminuyó la internalización y transporte de esas mismas NPs en 40 y 38% respectivamente. Además encontraron que la inhibición con genisteína de la endocitosis mediada por caveolina mostraba una disminución en la internalización de las AgNPs cargadas negativamente en un 51% y 48%, respectivamente (Bannunah et al., 2014).

Estos resultados comprobaron que la internalización de las AgNPs está mediada por mecanismos de endocitosis sobre todos aquellos dependientes de receptores; esto es importante ya que se sabe que algunos NMs como los nano-carreadores de plata funcionalizados con folato están siendo estudiados en sistemas de liberación de fármacos gracias a su capacidad de generar una respuesta de

absorción celular mediada por receptores (Prashob & Peter, 2017) o como acarreadores para la absorción oral de péptidos (Florence et al., 1995).

### **Biodistribución y bioacumulación**

Una vez que las NPs se han internalizado, estas pasarán a los distintos compartimientos en diversos órganos; al proceso mediante el cual un adsorbato (es decir, la sustancia que se adsorbe) se acumula intracelularmente se le denomina bioacumulación (Chojnacka, 2010).

Las NPs pueden internalizarse en los tejidos para posteriormente ser distribuidas a través del sistema circulatorio (Gonzalez et al., 2016) hasta las células y tejidos donde ejercerán sus efectos. En años recientes, muchos trabajos de investigación han trabajado con este enfoque encontrando resultados interesantes: Espinosa et al (2016) encontraron que al administrar AgNPs de 14 y 36 nm a concentraciones de 535 µg/ml durante 55 días a ratas wistar hembra las concentraciones de plata más altas se cuantificaban en el intestino delgado, riñón, hígado y cerebro (Espinosa-Cristobal et al., 2013); Osborne et al (2015) encontraron que después de 4 días de exposición a AgNPs de 20 nm recubiertas con citrato se bioacumulaban en mayor cantidad en branquias que en intestino, aunque después de un periodo de 7 días de depuración la plata se eliminaba por completo de las branquias pero no del intestino, encontrando además que las AgNPs recubiertas de citrato se localizaban principalmente en la membrana basolateral de la mucosa intestinal (Osborne et al., 2015); Ramírez-Lee et al, (2017), evaluaron la contractilidad cardiaca utilizando un sistema de corazón perfundido Langerdorff exponiendo el corazón a concentraciones de AgNPs (15 nm) de 0.1, 1, 10 y 100 µg/ml y en términos de bioacumulación encontraron la presencia de clústeres de plata localizados en el miocardio (Ramirez-Lee Manuel et al., 2017). Bachler et al (2013) demostraron mediante un modelo farmacocinético que tras la administración de concentraciones de AgNPs (52.7-70.9 nm) de 30, 300 y 100 mg/kg/día por 28 días era posible asegurar que las propiedades de las nanopartículas como el tamaño de partícula o el agente de recubierta tienen poca influencia en la biodistribución de AgNPs (Bachler et al., 2013).

La presencia de las NPs en el organismo es objeto de amplios estudios en la actualidad, para conocer sus mecanismos de acción, la influencia de sus propiedades fisicoquímicas, sus efectos celulares y tisulares, entre otros. Sin embargo, es importante resaltar qué de entre los distintos tipos de abordajes que se hacen respecto a las NPs, especialmente a las AgNPs, no hay hasta el momento, reportes que aborden cual es el efecto a nivel fisiológico que nos ayude a plantear de manera más holística los efectos de las AgNPs en el organismo y que esta integración de la información nos permita elaborar mejores estrategias para un consumo responsable y seguro.

### **Antecedentes del Laboratorio de Fisiología Celular en torno al estudio de las AgNPs**

El Laboratorio de Fisiología celular de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí ha generado información respecto a los efectos que tienen las AgNPs en el organismo mediante el empleo de sistema de anillos aislados de aorta y tráquea y en corazones aislados y perfundidos de rata: González y col. (2011), realizaron estudios sobre el efecto de AgNPs-45 nm en tráquea de ratas, encontrando que al administrar NPs de plata en conjunto con ACh se producía un incremento en la contractilidad del músculo liso inducida por ACh que está asociado con un incremento en la producción de óxido nítrico (NO), en tanto que la respuesta contráctil de los AgNPs inducida por ACh fue bloqueada en su totalidad cuando los anillos fueron incubados después de la ACh y antes de la administración de los AgNPs. (González et al., 2011).

Ramírez Lee y col. (2014), demostraron que a concentraciones de NPs de plata entre 10 y 100  $\mu\text{g/ml}$ , se inducía la toxicidad prolongada independiente de ACh así como la disminución de la proliferación celular mediada por la vía del receptor muscarínico dependiente de la iNOS, sin embargo, a concentraciones de AgNPs de 100  $\mu\text{g/ml}$  se inducía la apoptosis independiente del receptor muscarínico, indicando una prolongada citotoxicidad y un efecto anti-proliferativo de las células de músculo liso del sistema respiratorio (Ramírez-Lee et al., 2014); otro estudio del mismo autor evaluó el tono muscular y la contractilidad cardíaca en ratas en respuesta a la presencia de NPs de plata, donde se encontró que a concentraciones de 10 a 100

$\mu\text{g/ml}$  de AgNPs se promovía una vasoconstricción sostenida incrementando la contractibilidad cardiaca relacionada al estrés oxidativo, ocasionando rabiomiólisis (Ramirez-Lee Manuel et al., 2017).

Estos antecedentes han servido como base para el desarrollo del presente trabajo de investigación, el cual está orientado a conocer por primera vez qué pasa a nivel fisiológico en el intestino delgado cuando se expone a AgNPs asociando estos efectos con la ingestión de las AgNPs por vía oral, la cual es una de las más importantes y conocidas vías de ingestión debido a la gran cantidad de productos, sobre todo alimenticios que pueden contener AgNPs y que llegarán al intestino delgado donde serán absorbidas.

### **Justificación**

En la actualidad, una gran proporción de los estudios que involucran AgNPs o productos que contienen AgNPs se enfocan principalmente en los efectos en sistema respiratorio y cardiaco, mientras que los estudios enfocados al tracto gastrointestinal son abordados principalmente con estudios *in vitro*.

Además, debido al uso ampliamente extendido de estas NPs en los últimos años, en diversos productos alimenticios, agrícolas, cosméticos, farmacéuticos, médicos y en sistemas de tratamiento de aguas y su categorización como contaminantes emergentes, los cuales son contaminantes que han estado presentes en el medio ambiente pero que han pasado inadvertidos, se vuelve necesario y urgente la elaboración de estudios que ayuden, en primera instancia, a dilucidar los posibles efectos nocivos que tengan las NPs en diferentes sistemas y organismos y la posterior elaboración de normas que permitan regular la presencia de nanoestructuras, NPs en productos de uso común, así como procedimientos que permitan eliminar de manera eficaz la presencia de estos contaminantes emergentes de cuerpos de agua, aguas residuales, aire y suelos.

Las PVP-AgNPs son un tipo de NPs ampliamente utilizadas en diversas áreas de la industria debido a su gran variedad de propiedades, aunado al hecho de que la recubierta de polivinilpirrolidona (PVP) se ha empleado en mayor medida debido a su

ampliamente reconocida inocuidad en sistemas biológicos. Es por ello, que en el presente trabajo estudiamos los efectos de las PVP-AgNPs a nivel gastrointestinal, específicamente en el intestino delgado, lo que abonará en la investigación de los posibles efectos inducidos por las PVP-AgNPs y que aportará un recurso científico y técnico de gran utilidad para el Sistema Nacional para la Evaluación Toxicológica de Nanomateriales (SINANOTOX).

### **Hipótesis**

PVP-AgNPs dispersas en solución acuosa, modifican la tonicidad de segmentos aislados de intestino delgado de rata, así como la producción y/o secreción de mediadores que regulan su función.

### **Objetivo general**

Estudiar los efectos promovidos por la administración de PVP-AgNPs dispersas en solución acuosa en segmentos aislados de intestino delgado de rata, así como los mediadores involucrados.

### **Objetivos específicos**

- Realizar la caracterización de un lote comercial adquirido de PVP-AgNPs
- Estudiar efectos de concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs en anillos aislados de intestino delgado.
- Cuantificar la producción de óxido nítrico, triptófano y serotonina en anillos aislados de intestino delgado tratados con concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs.

- Estudiar los efectos de concentraciones individuales de AgNPs en anillos aislados de intestino delgado.
- Cuantificar la producción de óxido nítrico, triptófano y serotonina en anillos aislados de intestino delgado tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs.
- Realizar estudios histológicos en tejido intestinal tratado con concentraciones individuales de AgNPs.

## **Metodología**

### *Caracterización fisicoquímica*

Las PVP-AgNPs fueron adquiridas de U.S Research Nanomaterials Inc (Houston, Texas). Para la caracterización fisicoquímica, las PVP-AgNPs fueron suspendidas en solución Tyrode (NaCl 136.9 mM, KCl 2.69 mM, MgCl<sub>2</sub> 1.05 mM, CaCl<sub>2</sub> 1.8 mM, Dextrosa 5.55 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.42 mM, NaHCO<sub>3</sub> 11.9 mM) (Okazaki et al., 1975). La morfología se determinó con un microscopio electrónico de barrido (SEM) JSM-7401F acoplado a un detector de rayos x de energía dispersiva (EDS) a 2 kv con una resolución de 1 nm (Oxford). Para determinar el tamaño se utilizó la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS) con un analizador de partículas Lifesizer 500 Anton Paar (Graz, Austria) con un diodo láser semiconductor a una longitud de onda de 658 nm con celda desmontable. En tanto que el análisis de difracción de rayos X (XRD) se realizó con un equipo Bruker D8 Advance mediante haciendo incidir una radiación monocromática CU Ka con 1.541 Å en un rango de 10 a 90°. Por último, la medición del potencial Z se determinó con un zeta meter SurPASS 3.

### *Anillos aislados de intestino delgado*

Se utilizaron ratas Wistar macho de entre 250 a 350 g de peso, las cuales fueron resguardadas en jaulas a condiciones de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad con agua y comida *ad libitum* hasta 24 horas previas donde se sometieron a ayuno. Los experimentos fueron realizados de acuerdo con los lineamientos de la Guía del

Instituto Nacional de Salud para uso y cuidado de animales de laboratorio y aprobada por el Comité de uso y cuidado de animales de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (CONBIOETICA-24-CEI-003-20190726; Número de protocolo: CEID 2020-03).

Las ratas después de sedación profunda mediante inyección intraperitoneal con pentobarbital sódico (50 mg/kg) y con la pérdida de reflejos podales, se procedió a la extirpación del intestino delgado. Se diseccionó el intestino delgado y después se removió la materia fecal y el tejido conectivo para posteriormente ser resguardado en buffer Tyrode por una hora a 4°C. Al término de este tiempo, se obtuvieron anillos de 1 cm de largo de cada segmento de intestino (duodeno, yeyuno e íleon), los cuales fueron posteriormente colocados de manera individual en baños de tejido que contenían solución Tyrode oxigenada (95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>). Para la calibración, se aplicó una carga de 1 g en el transductor para posteriormente colocar los anillos de intestino colocados en dos ganchos, el gancho inferior acoplado a la cámara de tejidos, mientras que el gancho superior iría acoplado al transductor isométrico. Una vez colocado, se procedió a estabilizar el tejido durante 30 minutos para posteriormente estabilizar en 0 g durante 10 minutos. Pasado este tiempo, se administró cloruro de potasio (KCl) 0.03 M y se dejó en estabilidad por 30 minutos para posteriormente agregar 5 concentraciones acumulativas de PVP-AgNPs (0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/ml) o en su caso, concentraciones individuales de PVP-AgNPs (0.01, 1, 100 µg/ml). Finalmente, se administró nitroprusiato de sodio (SNP) 100 nM como control de viabilidad. El registro de los datos se realizó en tiempo real mediante el software Poliview.

#### *Determinación de Óxido Nítrico (NO)*

La determinación de NO fue determinada indirectamente mediante la técnica de Griess la cual mide la relación de nitritos y nitratos (NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>) (Miranda et al., 2001). Se recolectaron alícuotas de buffer Tyrode antes de la administración de PVP-AgNPs, previo a la administración de SNP y después de la administración de SNP. Muestras de 100 µl se vertieron en una placa de 96 pocillos, a las cuales se les adicionaron 80 µl de cloruro de vanadio (VCl<sub>3</sub>) 0.05 M seguido de una adición de 10 µl de solución de Griess A (dicloruro de *N*-(1-naftil) etilendiamina 0.1% w/v) y 10 µl de solución de Griess

B (sulfanilamida 2% w/v); las placas se incubaron durante 45 minutos a 37°C. Para la curva de calibración se utilizó un estándar de NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> a concentraciones de 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 y 200 µM. Las placas se leyeron utilizando un lector de placas (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) a una longitud de onda de 595 nm.

#### *Determinación de Trp y 5-HT*

La determinación de Trp y 5-HT se realizó mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución con un detector de diodo de UV (HPLC-UV) (Alliance HPLC, Waters Co). Para la medición se procedió a hacer una extracción con ácido perclórico 0.1 M de los segmentos de intestino delgado previamente tratados con las PVP-AgNPs; se homogenizaron las muestras utilizando un homogenizador Omni THG homogenizer® para posteriormente centrifugar a 1000 rpm con una centrifuga MicroCL 21R Thermo®. Una vez homogenizadas, las muestras se filtraron con filtros Acrodisc CR13 con una membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) con tamaño de poro de 2 µm. El sobrenadante se inyectó en el sistema de inyección del HPLC que utiliza como fase móvil una solución de acetonitrilo: ácido acético 0.1% (10:90 v/v) que eluye por una columna c18 Zorbax 2.6x25 cm con tamaño de poro de 5 µm y un flujo de 1 ml/min y a una longitud de onda de 280 nm (Lesniak et al., 2013). Los reactivos para la curva de calibración de Trp y 5-HT (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) se prepararon en agua mili-Q y las concentraciones se determinaron en base a lo reportado por Lesniak y col. (2013) (Lesniak et al., 2013). Los resultados se obtuvieron utilizando el software Empower.

#### *Análisis histológico en anillos aislados de intestino delgado expuestos a PVP-AgNPs*

Con el objetivo de corroborar si la exposición a PVP-AgNPs podría causar daños en el tejido intestinal, se realizaron pruebas histológicas con la tinción de hematoxilina-eosina (H&E). Anillos aislados de intestino delgado de los tres segmentos intestinales fueron tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100 µg/ml) durante 15 minutos. Posteriormente, los tejidos se colocaron en un procesador de tejidos automatizado W-PR10 (Van Wessel, Querétaro, México). Las muestras se deshidrataron secuencialmente utilizando xileno, etanol 100%, etanol 95% y agua desionizada y finalmente colocadas en parafina (Leica®). Secciones

micrométricas de tejido en parafina fueron montadas en portaobjetos cubiertos con solución salina usando un microtomo Olympus CUT 4060 (American Inc) con número de serie 600368. Los portaobjetos se observaron con un microscopio Leica DM500 (Wetzlar, Alemania) con amplificación de 4x y 40x. El orden secuencial de los reactivos utilizados para la tinción H&E fueron: xilol (2 veces por dos minutos), etanol 100% (2 veces por dos minutos), etanol 95% (2 minutos), lavado con agua destilada (dos minutos), hematoxilina (tres minutos), agua desionizada (un minuto), diferenciador (1 minuto), agua desionizada (un minuto), azulado (un minuto), agua desionizada (un minuto), eosina (45 segundos), etanol 95% (un minuto) etanol 100% (2 veces, dos minutos) y xilol (dos veces por dos minutos) (Sampias & Rolls, 2024).

#### *Bioacumulación de plata*

Para comprobar si los tejidos tratados con PVP-AgNPs internalizaba la plata, se realizó la tinción de Grimelius (DiaPath®) que se basa en la reducción de iones plata a su forma elemental ( $\text{Ag}^0$ ). Las muestras histológicas embebidas en parafina se desparafinaron utilizando xilol, etanol 100%, etanol 95% y agua desionizada. Los cubreobjetos se sumergieron en una solución de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) 1% por 3 horas a 60°C. A continuación, los portaobjetos se sumergieron en una solución reductora de hidroquinona con sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) por 5 minutos a 60°C dejándose enfriar posteriormente a temperatura ambiente y lavados con agua desionizada. Una vez atemperados, los portaobjetos se sumergieron nuevamente en la solución de nitrato de plata 1% por 10 minutos a temperatura ambiente para posteriormente ser lavados y cubiertos con la solución reductora por 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, los portaobjetos se lavaron con agua desionizada por 3 minutos para posteriormente aplicarles una solución de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) 5% por dos minutos. Finalmente se lavaron con agua desionizada, deshidratadas y montadas en bálsamo. Las muestras se observaron con una amplificación de 4x y 40x.

### *Análisis de datos*

Los datos recopilados fueron analizados con el software GraphPad Prism 9 (Dotmatics®, Boston, MA). Para el análisis estadístico se utilizó un ANOVA de una vía con corrección de Dunnet donde las diferencias estadísticas son la expresión de la diferencia entre los errores estándar. Valores de  $P < 0.05$ ,  $P < 0.1$ ,  $P < 0.01$  y  $P < 0.001$  se consideran significativos.

## **Resultados y discusiones**

### Caracterización de las PVP-AgNPs

El análisis SEM muestra que las PVP-AgNPs suspendidas en solución Tyrode con un tamaño entre 20 a 40 nm con una morfología semiesférica y ligeramente aglomeradas (Figura 8A); esta aglomeración se explica tomando en cuenta los rangos en el potencial z de las nanopartículas en sus distintas concentraciones (0.01, 0.1, 1, 10 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ), entre -16.2 y -22.2 mV. Los tamaños de partícula obtenidos en el DLS a las distintas concentraciones de PVP-AgNPs muestran un incremento en su tamaño conforme aumenta la concentración, exceptuando la concentración de 10  $\mu\text{g/ml}$ . La tabla inserto (Figura 8B) en la columna del análisis DLS corrobora el proceso de aglomeración observado en la Figura 8A, la cual muestra un aglomerado formado de NPs que varían en tamaño, sin embargo, no se puede considerar esta aglomeración como un material nanoestructurado debido a que a pesar de estar formado por NPs de tamaño menor a 100 nm, las dimensiones del aglomerado no están por debajo de los 100 nm. El índice de polidispersidad (PDI) muestra la distribución del tamaño de partícula, donde a mayor PDI es indicativo de la formación de agregados, siendo el mayor PDI a concentraciones de 0.01  $\mu\text{g/ml}$ . (Tabla inserto Figura 8B).

La formación de estos agregados puede estar influenciada por varios factores como la concentración del PVP que en estas partículas era del 2%; se ha reportado

que los fenómenos de aglomeración de las nanopartículas recubiertas con PVP tienden a aglomerarse cuando la concentración de PVP es menor a 5% (Soltani et al., 2012), se debe considerar también la acción de fuerzas de atracción electrostática que ejercen las sales del buffer; la influencia de la presencia de sales en la formación de aglomerados ha sido reportada previamente por (Millour et al., 2020). Además, se debe tomar en cuenta el método seguido para el tratamiento de muestras en SEM. (Inkson, 2016). El análisis EDS demuestra la presencia de las PVP-AgNPs mientras que la presencia de PVP se acusa también mediante análisis EDS en términos de la presencia de trazas de nitrógeno (Figura 8B). El difractograma de PVP-AgNPs muestra los planos cristalinos localizados a 38.2, 44.5, 64.8 y 77.4 en  $2\theta$  correspondientes a los planos (111), (200), (220) y (311) característicos de las AgNPs y que corresponde a una estructura cubica centrada en las caras (FCC) (Figura 8C) y que se comprueba con la carta cristalográfica JCPDS No. 04-3783 (Figura 8D).

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 8.** Caracterización de las PVP-AgNPs. A) Análisis SEM; B) Análisis EDS con tabla inserto que muestra potencial Z; C) Difractograma característico para PVP-AgNPs y D) Carta cristalográfica.

#### **Controles de tonicidad y producción de NO en anillos aislados de segmentos de intestino delgado**

Se realizaron los experimentos en condiciones control para cada uno de los 3 segmentos del intestino delgado (duodeno, yeyuno, íleon) con la finalidad de verificar el funcionamiento fisiológico normal de los anillos aislados de intestino delgado en presencia de un agente contráctil como el KCl y un agente relajante como el nitroprusiato de sodio (SNP) que funciona como un donador exógeno de NO. Los registros gráficos, así como los gráficos de porcentaje de contracción y de concentración de NO se presentan en las Figuras 9, 10 y 11.

Para los anillos de los tres segmentos del intestino delgado, la aplicación de KCl 0.03 M contrae el anillo y después de 45 minutos de estabilización, se aplica SNP (100 nM) el cual relaja los anillos de intestino delgado (Figuras 9A, 10A y 11A), donde en el

segmento de duodeno, el porcentaje de contracción final alcanzado después de la adición de SNP fue de 61.57%; para el segmento de yeyuno fue de 48.36% y para el segmento de íleon fue de 43.27% (Figuras 9B, 10B y 11B). Estos resultados se relacionan con la producción de NO, que para los anillos aislados de duodeno las concentraciones de NO tras la aplicación de KCl 0.03 M y SNP 100 nM fueron de 48.81  $\mu$ M y 85.80  $\mu$ M; yeyuno 46.70  $\mu$ M 72.88  $\mu$ M y para íleon 46.78  $\mu$ M y 89.87  $\mu$ M (Figuras 9C, 10C y 11C)

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 9.** Control de segmento de duodeno: A) Gráfico de tensión (g); B) Gráfico de porcentaje de contracción; C) Gráfico de producción de NO ( $\mu$ M). \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 10.** Control de segmento de yeyuno: A) Gráfico de tensión (g); B) Gráfico de porcentaje de contracción; C) Gráfico de producción de NO ( $\mu$ M). \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 11.** Control de segmento de íleon: A) Gráfico de tensión (g); B) Gráfico de porcentaje de contracción; C) Gráfico de producción de NO ( $\mu$ M). \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

*Pruebas de tonicidad en anillos aislados de segmentos de intestino delgado con administraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs*

El siguiente paso fue la administración de concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs en anillos aislados de los 3 segmentos del intestino delgado de rata Wistar (Figuras 12A, 13A y 14A), la cual mostró una disminución en la

tensión de los anillos que habían sido previamente contraídos con cloruro de potasio (KCl) 0.03 M, mostrando un comportamiento diferente. Para el segmento de duodeno, el porcentaje de contracción disminuyó a 53.61% tras la administración de las concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs y hasta un 39.05% con la adición de SNP, (Figura 12B), mientras que, para los segmentos de yeyuno e íleon, el porcentaje de contracción disminuyó a 46.38 % y 46.96 % (Figuras 13B, 14B) tras la administración de las concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs y hasta un 20.85% y 36.38%, (Figuras 13B y 14B) respectivamente. También se observó que, aunque ocurre una disminución en el porcentaje de contractilidad, se observa un fenómeno interesante donde los anillos aislados de intestino delgado de rata se contraen de manera transitoria, lo que podría indicar la acción conjunta de procesos contráctiles y de relajación promovidos por mediadores.

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 12.** Efecto de concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs en segmento de **duodeno**: A) Gráfico de tensión; B) Gráfico de porcentaje de contracción (g); C) Gráfico de producción de NO ( $\mu\text{M}$ ). \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 13.** Efecto de concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs en segmento de **yeyuno**: A) Gráfico de tensión (g); B) Gráfico de porcentaje de contracción; C) Gráfico de producción de NO ( $\mu\text{M}$ ). \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

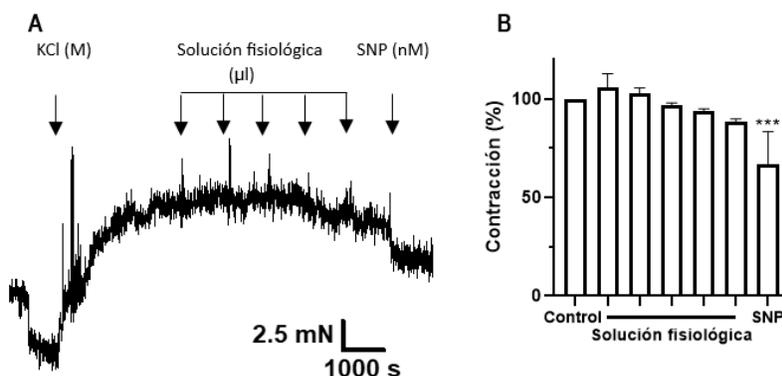
#### **Imagen no mostrada**

**Figura 14.** Efecto de concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs en segmento de **íleon**: A) Gráfico de tensión (g); B) Gráfico de porcentaje de contracción; C) Gráfico de producción de NO ( $\mu\text{M}$ ). \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

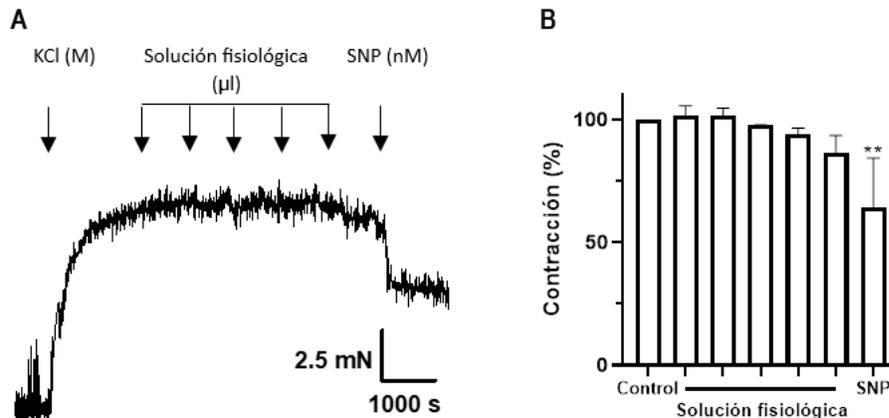
El aumento en la relajación de los anillos aislados de intestino delgado de rata (disminución del porcentaje de contracción) se vio reflejado también por la producción de NO, donde las concentraciones de NO obtenidas fueron de 85.80  $\mu\text{M}$ , 76.83  $\mu\text{M}$  y 92.95  $\mu\text{M}$  para segmentos de duodeno, yeyuno e íleon, respectivamente tras la administración de concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs y de 109.90  $\mu\text{M}$ , 161.39  $\mu\text{M}$  y 170.19  $\mu\text{M}$  después de la administración de SNP 100 nM (Figuras 12C, 13C y 14C), siendo los segmentos de yeyuno e íleon en los que se aprecia una respuesta más marcada del efecto de las PVP-AgNPs en la disminución de la contractilidad, los cuales se corroboran con las gráficas de producción de NO, las cuales, son también mayores en los dos segmentos antes mencionados y menor en el segmento de duodeno. Al compararse los niveles de NO entre los controles de los tres segmentos y los segmentos tratados con PVP-AgNPs, podemos observar que la producción de NO para los segmentos de yeyuno e íleon tratados con PVP-AgNPs se incrementa de manera considerable, siendo el segmento del duodeno tratado con AgNPs el que presenta una producción de NO poco significativa comparada con su control.

#### *Control de contracción con administraciones consecutivas de buffer Tyrode*

Con la finalidad de establecer que los efectos de relajación transitoria que mostraron los distintos segmentos fueran consecuencia de las PVP-AgNPs y no por la manipulación mecánica, se montaron conjuntamente controles de tonicidad para cada segmento, en los cuales, se administraron volúmenes constantes de buffer Tyrode (10 $\mu\text{l}$ ) simulando la administración de PVP-AgNPs y mezclando en las cámaras con una pipeta Pasteur simulando el procedimiento de mezcla con las PVP-AgNPs.



**Figura 15.** Control de tonicidad en segmento de duodeno con volúmenes constantes de buffer: A) Gráfico de tensión (g); B) Gráfico de porcentaje de contracción. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.



**Figura 16.** Control de tonicidad en segmento de yeyuno con volúmenes constantes de buffer: A) Gráfico de tensión (g); B) Gráfico de porcentaje de contracción. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

#### Imagen no mostrada

**Figura 17.** Control de tonicidad en segmento de íleon con volúmenes constantes de buffer: A) Gráfico de tensión (g); B) Gráfico de porcentaje de contracción. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

Como se muestra en los registros de las Figuras 15A, 16A y 17A, correspondientes respectivamente a los segmentos de duodeno, yeyuno e íleon, con cada administración de los volúmenes constantes de buffer Tyrode, no se perciben los mismos efectos que con la administración de las concentraciones crecientes de PVP-AgNPs, manteniéndose casi sin variación los porcentajes de contracción como se muestra en las Figuras 15B, 16B y 17B. Estos datos, sugieren que los efectos observados previamente con los segmentos aislados de intestino delgado tratados con concentraciones crecientes de PVP-AgNPs de relajación transitoria se pueden asociar a procesos fisiológicos desencadenados por la presencia de las PVP-AgNPs y que este efecto no es producto de la manipulación mecánica de las muestras.

### *Cuantificación de 5-HT en anillos aislados de segmentos de intestino delgado tratados con concentraciones acumulativas de PVP-AgNPs*

Los cambios en la producción de 5-HT y Trp a consecuencia de las concentraciones crecientes de PVP-AgNPs en anillos de intestino de rata por HPLC-UV se muestran en la Figura 18.

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 18.** *Cuantificación de 5-HT y Trp en anillos aislados de intestino delgado. \*P<0.05 vs control; \*\*P<0.01 vs control; \*\*\*P<0.001 vs control; \*\*\*\*P<0.0001 vs control.*

Se registró la cuantificación de Trp, cuya relevancia para este estudio se basa en ser el precursor de la 5-HT, observándose que no existen diferencias entre los grupos control y los grupos que se les aplicaron PVP-AgNPs., pero entre las diferentes secciones del intestino, se obtuvo una mayor presencia de Trp en yeyuno e íleon que en duodeno (Figura 18). Por otro lado, la producción de 5-HT, neurotransmisor/mediador clave en el peristaltismo intestinal no muestra una diferencia significativa entre los grupos control y los grupos a los que se les aplicaron PVP-AgNPs para los segmentos de duodeno y yeyuno, siendo solo significativa en el segmento de íleon; entre los segmentos de intestino, la producción de 5-HT no es tan marcada a comparación de lo que se observa con el Trp.

### *Efecto de concentraciones individuales de PVP-AgNPs en anillos aislados de segmentos de intestino delgado*

Con el objetivo de observar los efectos que tenían las administraciones individuales de PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100 µg/ml), se realizaron pruebas de tonicidad de anillos aislados de intestino de ratas macho wistar (Figura 19A, 20A y 21A) así como las determinaciones de NO y 5-HT

Para el segmento de duodeno, se administraron dosis individuales de PVP-AgNPs a tres concentraciones de 0.01, 1 y 100 µg/ml; los registros fisiológicos se muestran en las Figuras 19A, 19B y 19C, correspondientes a las concentraciones de 0.01, 1 y 100 µg/ml respectivamente. Los porcentajes de contracción alcanzados

posterior a la administración de PVP-AgNPs (0.01  $\mu\text{g/ml}$ , 1  $\mu\text{g/ml}$  y 100  $\mu\text{g/ml}$ ) son de 92.34%, 93.52% y 89.70% respectivamente (Figura 19D), de igual manera, las diferencias en los porcentajes de contracción alcanzados posterior a la administración de SNP 100 nM son 45.58%, 56.71% y 53.57% respectivamente (Figura 19D).

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 19.** Anillos aislados de duodeno tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs: A) Registro fisiológico de duodeno tratado con PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$ ; B) Registro fisiológico de duodeno tratado con PVP-AgNPs 1  $\mu\text{g/ml}$ ; C) Registro fisiológico de duodeno tratado con PVP-AgNPs 100  $\mu\text{g/ml}$ ; D) Porcentaje de contracción de anillos aislados de duodeno tratados con PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ); E) Producción de NO de anillos aislados de duodeno tratados con PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ); F) Gráfico de producción de Trp; G) Gráfico de producción de 5-HT. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

La concentración de NO control para el segmento de duodeno es 48.81  $\mu\text{M}$  obtenida a partir de un pool de datos; las concentraciones de NO obtenidas después de la administración de PVP-AgNPs (0.01  $\mu\text{g/ml}$ , 1  $\mu\text{g/ml}$  y 100  $\mu\text{g/ml}$ ) 68.31  $\mu\text{M}$ , 67.97  $\mu\text{M}$  y 79.57  $\mu\text{M}$  (Figura 19E) en tanto que estas concentraciones después de la administración de SNP 100 nM registradas fueron de 122.25  $\mu\text{M}$ , 115.32  $\mu\text{M}$  y 120.79  $\mu\text{M}$  (Figura 19E).

El valor registrado para el control de Trp se registró en 37.96 ng/mg mientras las concentraciones obtenidas después del tratamiento con concentraciones individuales de PVP-AgNPs antes mencionadas fueron: 27.29 ng/mg, 6.83 ng/mg y 6.51 ng/mg respectivamente (Figura 19F). El valor del control de 5-HT fue de 32.04 ng/mg, mientras que los valores de 5-HT obtenidos en el segmento de duodeno a concentraciones individuales de 0.01  $\mu\text{g/ml}$ , 1  $\mu\text{g/ml}$  y 100  $\mu\text{g/ml}$  fueron: 27.73 ng/mg, 7.22 ng/mg y 6.93 ng/mg respectivamente (Figura 19G).

Para el segmento de yeyuno, se siguió el mismo procedimiento que en duodeno, los resultados se muestran a continuación; los registros fisiológicos se muestran en las Figuras 20A, 20B y 20C, correspondientes a las concentraciones de 0.01, 1 y 100

$\mu\text{g/ml}$  respectivamente. Los porcentajes de contracción obtenidos para cada anillo de yeyuno posterior a la administración de 3 diferentes concentraciones de PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ) de manera individual fueron 93.49%, 93.80% y 86.92% respectivamente, mientras que los porcentajes de contracción posteriores a la administración de SNP 100 nM fueron 46.74%, 59.94% y 41.42% respectivamente (Figura 20D).

Las concentraciones de NO control para el segmento de yeyuno son 46.70  $\mu\text{M}$  obtenidas a partir de un pool de datos; la cuantificación de NO para los anillos de yeyuno obtenidas se muestra a continuación: Las concentraciones de NO posterior a la administración de las PVP-AgNPs de manera individual a las concentraciones antes mencionadas, son de 64.72  $\mu\text{M}$ , 49.86  $\mu\text{M}$  y 57.25  $\mu\text{M}$  respectivamente (Figura 20E); se realizó una tercer cuantificación de NO posterior a la administración de SNP 100 nM obteniéndose las siguientes concentraciones de NO: 111.67  $\mu\text{M}$ , 83.93  $\mu\text{M}$  y 119.57  $\mu\text{M}$  (Figura 20E).

Para la cuantificación de Trp, el valor control observado fue de 31.52 ng/mg mientras que los valores cuantificados de Trp en los anillos aislados de intestino delgado tratados con PVP-AgNPs a las concentraciones previamente mencionadas fueron de 15.98 ng/mg, 6.90 ng/mg y 7.49 ng/mg respectivamente (Figura 20F). Para la cuantificación de 5-HT, el valor control alcanzado para el segmento de yeyuno fue de 33.36 ng/mg, mientras que los valores de 5-HT registrados en los anillos aislados de intestino delgado tratados con PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ) fueron de 16.73 ng/mg, 5.15 ng/mg y 8.29 ng/mg respectivamente (Figura 20G).

#### **Imagen no mostrada**

**Figura 20.** Anillos aislados de yeyuno tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs: A) Registro fisiológico de yeyuno tratado con PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$ ; B) Registro fisiológico de yeyuno tratado con PVP-AgNPs 1  $\mu\text{g/ml}$ ; C) Registro fisiológico de yeyuno tratado con PVP-AgNPs 100  $\mu\text{g/ml}$ ; D) Porcentaje de contracción de anillos aislados de yeyuno tratados con PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ); E) Producción de NO de anillos aislados de yeyuno tratados con PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ); F)

*Gráfico de producción de Trp; G) Gráfico de producción de 5-HT. \*P<0.05 vs control; \*\*P<0.01 vs control; \*\*\*P<0.001 vs control; \*\*\*\*P<0.0001 vs control.*

El segmento de íleon también fue evaluado en términos de su porcentaje de contracción y producción de NO alcanzados posterior a la administración de PVP-AgNPs y SNP, los resultados se muestran a continuación.

Los registros fisiológicos se muestran en las Figuras 21A, 21B y 21C, correspondientes a las concentraciones de 0.01, 1 y 100 µg/ml respectivamente. los porcentajes de contracción que registraron los anillos aislados del segmento de íleon posterior a las administraciones de concentraciones individuales de PVP-AgNPs a tres distintas concentraciones (0.01, 1 y 100 µg/ml) son: 93.40%, 92.48% y 88.76% respectivamente, en tanto que posterior a la administración de SNP 100 nM los porcentajes de contracción obtenidos fueron de 54.86%, 56.63% y 49.84% respectivamente (Figura 21D).

Las concentraciones de NO control para el segmento de íleon son 46.78 µM obtenidas a partir de un pool de datos; Las concentraciones de NO determinadas posteriormente a la administración de las concentraciones individuales de PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100 µg/ml) registraron una producción de NO para cada tratamiento de 47.46 µM, 56.71 µM y 63.91 µM respectivamente; las concentraciones finales de NO (posterior a la administración de SNP) obtenidas son respectivamente 91.48 µM, 118.59 µM y 120.79 µM (Figura 21E).

De igual manera, se realizó la cuantificación de 5-HT y Trp en anillos aislados del segmento de íleon. Para la cuantificación de Trp, el valor control registrado para este segmento fue de 23.91 ng/mg, mientras que para los anillos de íleon tratados con las concentraciones previamente mencionadas de PVP-AgNPs la cuantificación de Trp alcanzó valores de 11.33 ng/mg, 4.84 ng/mg y 7.57 ng/mg (Figura 21F). El valor basal de 5-HT cuantificado para este segmento fue de 32.42 ng/mg, mientras que los anillos de íleon tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100 µg/ml) registraron valores de 5-HT de 14.50 ng/mg, 6.24 ng/mg y 9.76 ng/mg respectivamente (Figura 21G).

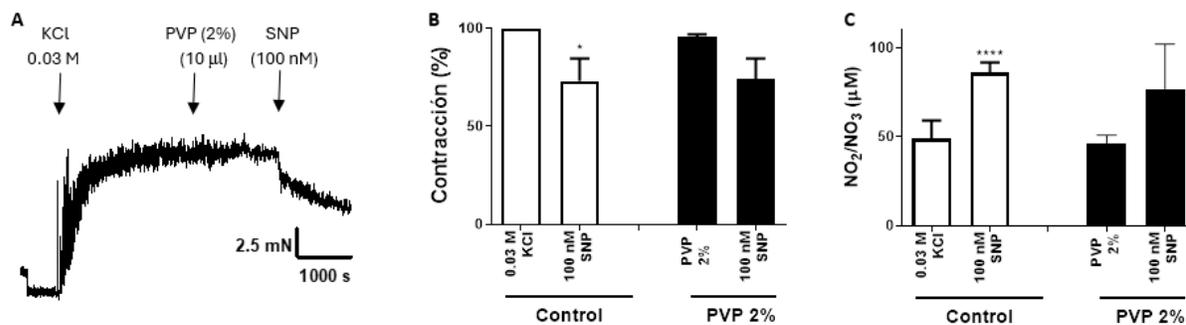
**Imagen no mostrada**

**Figura 21.** Anillos aislados de íleon tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs: A) Registro fisiológico de íleon tratado con PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$ ; B) Registro fisiológico de íleon tratado con PVP-AgNPs 1  $\mu\text{g/ml}$ ; C) Registro fisiológico de íleon tratado con PVP-AgNPs 100  $\mu\text{g/ml}$ ; D) Porcentaje de contracción de anillos aislados de íleon tratados con PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ); E) Producción de NO de anillos aislados de íleon tratados con PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$ ); F) Gráfico de producción de Trp; G) Gráfico de producción de 5-HT. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

*Control de contracción con PVP en anillos aislados de intestino delgado.*

Con el fin de comprobar si la recubierta de PVP de las PVP-AgNPs tenía una contribución en el perfil fisiológico mostrado en los anillos aislados de intestino delgado tratados con PVP-AgNPs se realizaron pruebas de tonicidad en anillos de intestino delgado administrando alícuotas de una solución de PVP 2% utilizando los mismos volúmenes de PVP-AgNPs (Figura 22A).

En el segmento de duodeno, el porcentaje de contracción resultante de la administración de PVP fue de 95.70% mientras que el porcentaje de contracción alcanzado después de la administración de SNP 100 nM fue de 75.74%, siendo que, para ambos casos, las diferencias no fueron significativas al ser comparadas con sus respectivos controles (92.14% y 73.09%) (Figura 22B). Las determinaciones de NO arrojaron que para los anillos aislados fueron de 46.33  $\mu\text{M}$  posterior a la administración de PVP 2% y 76.74  $\mu\text{M}$  después de administrar SNP 100 nM, concentraciones que no resultaron en una diferencia significativa respecto a sus controles (48.12  $\mu\text{M}$  y 89.13  $\mu\text{M}$  respectivamente) (Figura 22C).



**Figura 22.** Administraciones individuales de PVP 2% en anillos aislados de duodeno de rata: A) Registro fisiológico en anillo de duodeno; B) Gráfico de porcentaje de contracción; C) Gráfico de producción de NO. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

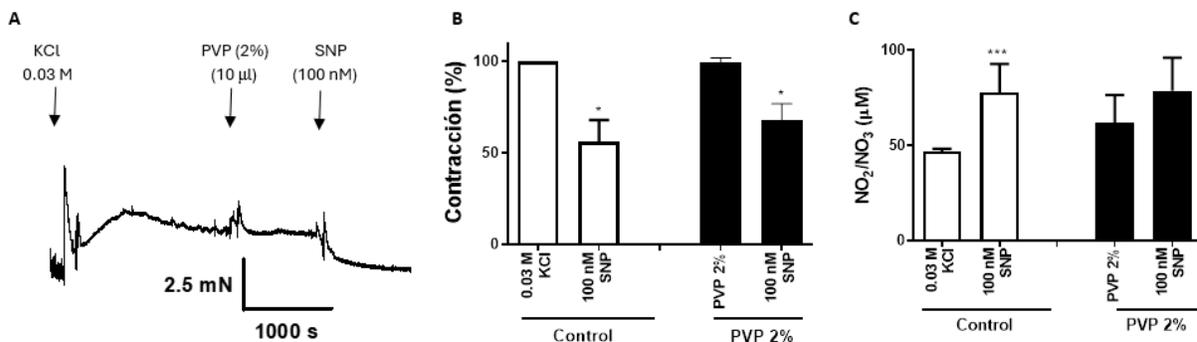
Para el segmento de yeyuno, se muestra el registro fisiológico característico (Figura 23 A); el porcentaje de contracción obtenido posterior a la administración de PVP 2% fue de 99.55% y 70.88% posterior a la administración de SNP 100 nM; para este segmento, las diferencias entre las muestras problema y sus respectivos controles tampoco fueron significativas (90.57% y 70.48%) (Figura 23B). Las concentraciones de NO después de la administración de PVP 2% y SNP 100 nM son respectivamente 46.74% y 96.09% en tanto que las concentraciones de NO de los controles son, respectivamente: 45.15% y 99.92%, no mostrando diferencia significativa entre los anillos tratados con PVP y los controles (Figura 23C).

#### Imagen no mostrada

**Figura 23.** Administraciones individuales de PVP 2% en anillos aislados de yeyuno de rata: A) Registro fisiológico; B) Gráfico de porcentaje de contracción; C) Gráfico de producción de NO. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

La Figura 24A muestra el registro fisiológico del segmento de íleon. El porcentaje de contracción alcanzado en el segmento de íleon fue de 99.17% posterior a la administración de PVP 2% y 68.09% después de administras SNP 100 nM; para este segmento también las diferencias entre las muestras problemas con sus

respectivos controles (99.78% y 70.88% respectivamente) no se consideran significativas (Figura 24B). Las concentraciones de NO obtenidas fueron 67.58  $\mu\text{M}$  después de administrar PVP 2% y 78.70  $\mu\text{M}$  después de administras SNP 100 nM; respecto a sus controles (45.95  $\mu\text{M}$  y 78.70  $\mu\text{M}$ ) no se encontró diferencia significativa (Figura 24C).



**Figura 24.** Administraciones individuales de PVP 2% en anillos aislados de íleon de rata: A) Registro fisiológico; B) Gráfico de porcentaje de contracción; C) Gráfico de producción de NO. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

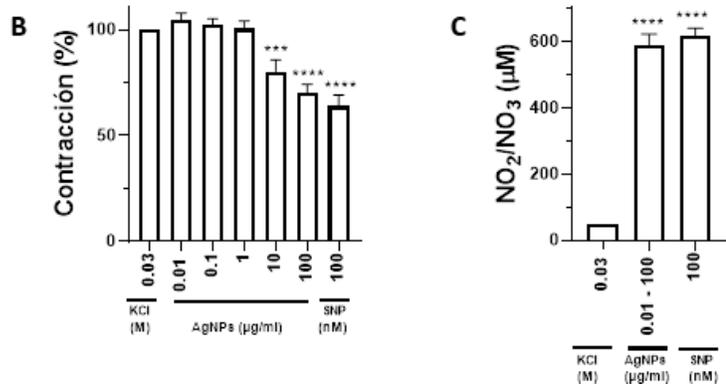
#### Control de ionización en anillos aislados de segmentos de intestino delgado

Con el objetivo de corroborar si los perfiles fisiológicos mostrados previamente en anillos aislados de intestino delgado tratados con concentraciones crecientes de PVP-AgNPs eran originados por las NPs o si existían procesos de ionización que estuvieran ejerciendo los efectos ya mostrados, se realizó el control de ionización en anillos aislados de intestino delgado de rata macho wistar de 250 g a 350 g de peso. Se siguió el procedimiento utilizado en las administraciones de PVP-AgNPs, empleando para este caso nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) a las mismas concentraciones (0.01, .1, 1, 10, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ).

El registro fisiológico se muestra en la Figura 25A. Para los anillos aislados del segmento del duodeno, los porcentajes de contracción registrados fueron de 66.59% después de la última administración de  $\text{AgNO}_3$  y 57.02% después de la administración

de SNP (Figura 25B) y su producción de NO por acción del AgNO<sub>3</sub> y SNP fueron respectivamente, 587.53 μM y 616.75 μM (Figura 25C).

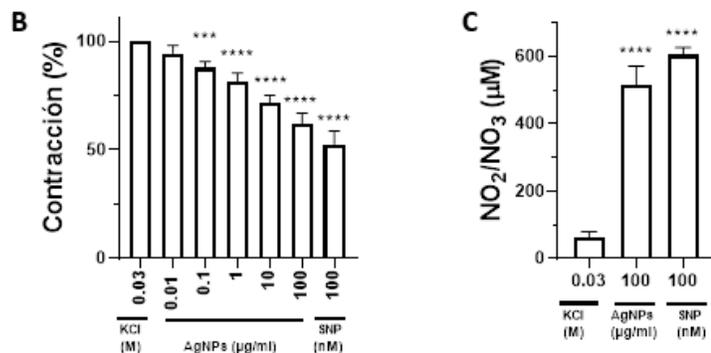
Imagen no mostrada



**Figura 25.** Control de ionización en segmentos de anillos aislados de duodeno: A) Registro fisiológico; B) Porcentaje de contracción; C) Producción de NO. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

En el caso de los anillos aislados del segmento de yeyuno, el registro fisiológico se muestra en la Figura 26A, los porcentajes de contracción registrados fueron de 61.92% después de la última administración de AgNO<sub>3</sub> y 52.43% posterior a la administración de SNP (Figura 26B) y las concentraciones de NO obtenidas fueron 514.23 μM y 603.84 μM (Figura 26C).

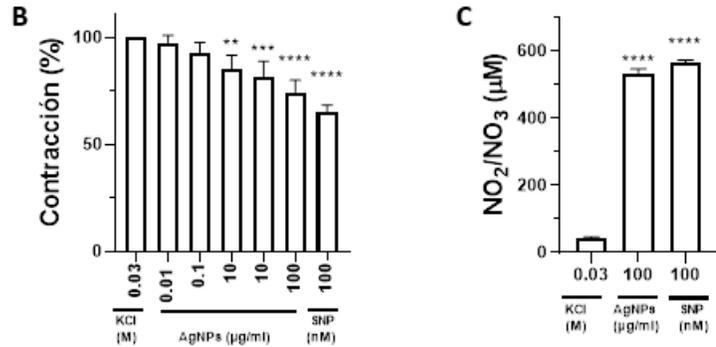
Imagen no mostrada



**Figura 26.** Control de ionización en segmentos de anillos aislados de yeyuno: A) Registro fisiológico; B) Porcentaje de contracción; C) Producción de NO. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

El registro fisiológico para el segmento de íleon se muestra en la Figura 27A. Para los anillos aislados de segmento de íleon, los porcentajes de contracción finales

Imagen no mostrada



fueron de 74.16 % posterior a la última administración de AgNO<sub>3</sub> y 65.18% después de la administración de SNP (Figura 27B), en cuanto a la determinación de NO, los valores obtenidos fueron 534.62 µM y 566.6 µM (Figura 27C).

**Figura 27.** Control de ionización en segmentos de anillos aislados de íleon: A) Registro fisiológico; B) Porcentaje de contracción; C) Producción de NO. \* $P < 0.05$  vs control; \*\* $P < 0.01$  vs control; \*\*\* $P < 0.001$  vs control; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs control.

*Análisis histológico de anillos aislado de intestino delgado expuestos a concentraciones individuales de PVP-AgNPs*

Con el fin de observar si existes un daño tisular en segmentos aislados de intestino delgado a PVP-AgNPs se realizaron as pruebas histológicas exponiendo segmentos de intestino delgado a concentraciones individuales de PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100 µg/ml) durante 15 minutos, los resultados se muestran en la Figura 28.

Imagen no mostrada

**Figura 28.** Cortes histológicos de segmentos de intestino delgado de rata tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs (0.01, 1 y 100 µg/ml): A) Control duodeno; B) Duodeno tratado con PVP-AgNPs 0.01 µg/ml; C) Duodeno tratado con PVP-AgNPs 1 µg/ml; D) Duodeno tratado con PVP-AgNPs 100 µg/ml; E) Control yeyuno; F) Yeyuno tratado con PVP-AgNPs 0.01 µg/ml; G) Yeyuno tratado con PVP-AgNPs 1 µg/ml; H) Yeyuno tratado con PVP-AgNPs 100 µg/ml; I) Control íleon; J) Íleon tratado con PVP-AgNPs 0.01 µg/ml; K) Íleon tratado con PVP-AgNPs 1 µg/ml; L) Íleon tratado con PVP-AgNPs 100 µg/ml. (Abreviatura: M: Mucosa; SM: Submucosa; MC:

*Capa Muscular; S: Serosa).*

Los controles de los segmentos de intestino (28A, 28E, 28I) muestra cortes intactos sin ningún daño tisular visible, se aprecian sus 4 capas intactas, así como nulo desprendimiento de las vellosidades. Los anillos de los segmentos de intestino delgado (duodeno y yeyuno) tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$  (Figuras 28B y 28F) muestran desprendimiento de las vellosidades en la capa epitelial (marcadas como \*\*), mientras que en el segmento de íleon, se aprecia un proceso necrótico en las vellosidades (marcado como \*) (Figura 28J). Para las figuras restantes a las concentraciones de 1 y 100  $\mu\text{g/ml}$  (Figuras 28C, 28D, 28G, 28H, 28K y 28L), de los tres segmentos tratados, es posible observar desprendimiento de las vellosidades. Estos resultados muestran que la exposición de PVP-AgNPs en anillos de intestino delgado puede tener como consecuencia la presencia de daño tisular que pudiera estar relacionada con los cambios en la tonicidad y la secreción de mediadores endógenos que hacen posible el movimiento peristáltico.

*Visualización de la internalización de las PVP-AgNPs en los anillos aislados de intestino delgado mediante la tinción de Grimelius*

Una vez determinado si existía o no daño tisular en los anillos de intestino delgado por efecto de la presencia de las PVP-AgNPs se realizaron pruebas para visualizar a qué nivel la plata se internalizaba en el intestino delgado y para este fin se utilizó la tinción de Grimelius tomando como base la exposición a concentraciones individuales de PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$ , Se muestran a continuación los resultados.

Las imágenes muestran que en los grupos control positivo (segmentos que tiñeron en CE que se aprecia un color negro) (Figura 29A) se aprecian células argentofílicas teñidas (CE) que se visualizan como estructura teñidas de un color oscuro mientras que el control negativo no muestra ninguna acumulación de plata en ninguna estructura (Figura 29B); para los segmentos tratados con las concentraciones individuales previamente mencionadas (Figura 29C y 29E); es posible observar que la plata se bioacumula principalmente en la zona apical de las vellosidades del intestino delgado en los tres segmentos las cuales se visualizan como cúmulos cafés

oscurecidos en los bordes, lo que demostraría que las PVP-AgNPs son capaces de internalizarse en las vellosidades del intestino delgado; las Figuras 29D y 29F muestran las ampliaciones a 40x de estos segmentos donde se aprecia la bioacumulación de la plata en estas estructura. Los cuales se indican en la figura con asteriscos (\*).

### **Imagen no mostrada**

**Figura 29.** Tinción de Grimelius en anillos aislados de segmento de intestino delgado: A) Control positivo; B) Control negativo; C) Corte de segmento de duodeno tratado con PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$ ; D) Corte de segmento de duodeno tratado con PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$  (amplificado a 40x); E) Corte de segmento de íleon tratado con PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$ ; F) Corte de segmento de íleon tratado con PVP-AgNPs 0.01  $\mu\text{g/ml}$  (amplificado a 40x).

Los resultados obtenidos muestran que con cada administración de concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs el porcentaje de contracción disminuye de manera gradual, siendo más evidente en los segmentos de yeyuno e íleon, y de menor magnitud en el segmento de duodeno. Sin embargo, se deben profundizar los estudios que determinen los factores que hacen posible los efectos diferenciales entre los segmentos de intestino por acción de la administración de concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs y la disminución de la contracción parece estar relacionada con la producción de NO.

Se sabe que por efecto de estímulos locales como la presencia de quimo, se favorece la secreción coordinada de mediadores como 5-HT y NO en el intestino delgado, y sus efectos en la sinapsis de neuronas aferentes intrínsecas primarias (NAIP), interneuronas y motoneuronas dan como resultados procesos de contracción-relajación continuos de las capas de musculo liso circular y longitudinal que conocemos como peristaltismo (Beattie & Smith, 2008; Camilleri, 2009).

A partir de los datos obtenidos, la evidencia sugiere que los fenómenos de relajación transitoria que se muestran en los registros de las Figuras 12A, 13A y 14A pueden ser producto del efecto de la secreción de ambos mediadores por efecto de las concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs y que también tiene

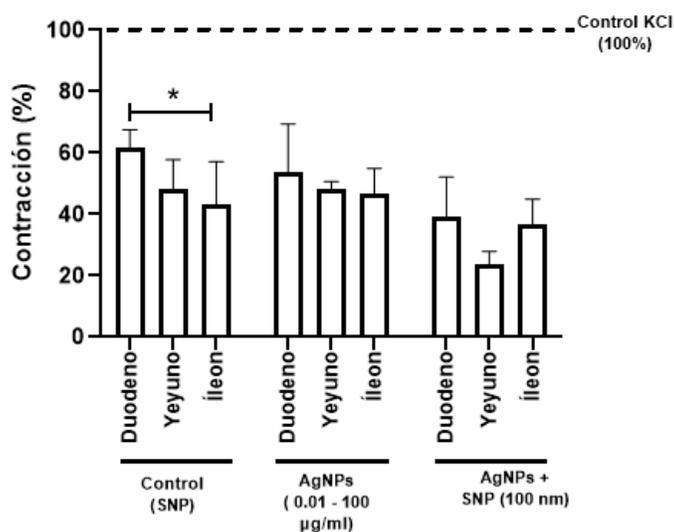
implicación en la disminución del porcentaje de contracción debido probablemente a que con la producción de ambos mediadores (NO y 5-HT), los efectos relajantes del NO predominan ligeramente sobre los de la 5-HT, aunque no se puede descartar la acción de otros mediadores, para los que debido a los alcances de este trabajo, no se cuantifican; también se debe destacar que la disminución en la tensión de los anillos aislados de intestino es resultado de la suma de la producción de NO asociada a cada administraciones de NPs.

Es importante mencionar que para los tres segmentos, los porcentajes de contracción alcanzados posterior a la última administración de las PVP-AgNPs fue similar en los tres segmentos pero también recalando que estos porcentajes son similares a los registrados en los controles cuando se les administró SNP; a su vez, el porcentaje de contracción final de los anillos de intestino delgado disminuía aún más al administrar SNP lo que implicaría que en efecto, las PVP-AgNPs son los agentes causantes de los cambios en la tensión intestinal, sin embargo, el intestino aún mantiene su viabilidad funcional. Estos cambios en la tensión vienen acompañados de su respectiva producción de NO la cual se puede observar que aumenta después de las administraciones de PVP-AgNPs con respecto a su control, aunque también se observa que, entre los tres segmentos, este incremento es menor en el yeyuno, y a su vez, la cuantificación de NO incrementa nuevamente posterior a la administración de SNP, siendo este incremento más evidente también en yeyuno.

Otro hallazgo interesante fue la observación de un fenómeno de relajación transitoria, este efecto se aprecia inmediatamente posterior a la administración de las PVP-AgNPs, donde se aprecia una disminución de la tensión del anillo seguida de un aumento inmediato en la tensión que trata de alcanzar el nivel de tensión previo a la administración de las PVP-AgNPs. Este fenómeno ya ha sido previamente descrito por Bogers y col. (1991) cuando estudiaron el efecto del NO en la relajación no adrenérgica no colinérgica del segmento terminal de íleon canino mediada por 5-HT (Bogers et al., 1991). Estos fenómenos de relajación transitoria también se han reportado por parte del grupo de investigación del Laboratorio de Fisiología Celular de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP; González et al, 2011, reportaron estos efectos en

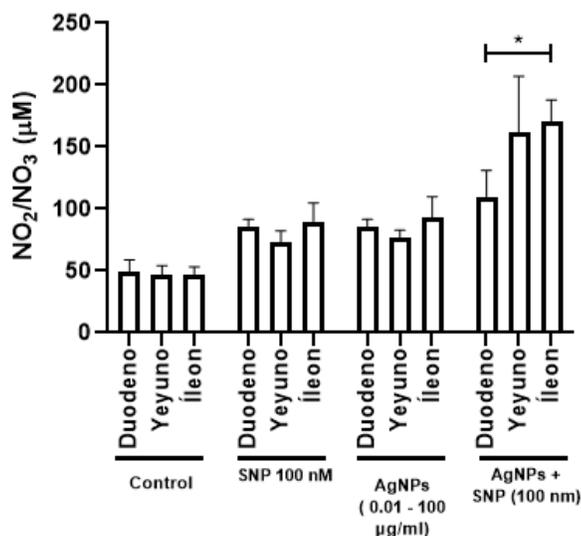
anillos aislados de tráquea (González et al., 2011), siendo necesario resaltar que hasta el momento no se cuenta con otros trabajos que aborden el efecto fisiológico de las PVP-AgNPs en el tracto gastrointestinal.

Es posible observar que hay una diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre el porcentaje de contracción final cuando se administra SNP entre los controles de los segmentos de duodeno e íleon, siendo menor en íleon, pero sin existir diferencias de ambos segmentos con el segmento de yeyuno (Figura 30) mientras que los porcentajes de contracción entre los segmentos tratados con PVP-AgNPs y SNP no muestran diferencias significativas (Figura 30), lo que es indicativo que la reactividad de los anillos a los diversos agentes vasoactivos es dependiente de la estructura propia de cada segmento.



**Figura 30.** Comparativo de porcentajes de contracción entre segmentos (control, tratados con concentraciones crecientes acumulativas PVP-AgNPs y tratados con concentraciones crecientes acumulativas PVP-AgNPs – SNP). \* $P < 0.05$  duodeno vs íleon.

Sin embargo, la cuantificación de NO muestra ser significativa solo cuando se comparan los segmentos de duodeno e íleon una vez que se les administró PVP-AgNPs y SNP ( $p < 0.05$ ), siendo mayor la cuantificación de NO alcanzada en íleon (Figura 31), lo que indicaría que el segmento de duodeno presenta una mayor reactividad al NO que el segmento de íleon. Se debe observar que las concentraciones de NO alcanzadas en los controles y en los segmentos tratados con PVP-AgNPs muestran un patrón similar, lo que estaría en concordancia con el hecho de que los porcentajes de contracción de los controles y de los segmentos tratados con las concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs son muy similares (Figura 30).



**Figura 31.** Comparativo de producción de NO entre segmentos (Control. Control con SNP. tratados con concentraciones crecientes acumulativas PVP-AgNPs y tratados con concentraciones crecientes acumulativas PVP-AgNPs y SNP). \* $P < 0.05$  duodeno vs íleon.

La 5-HT es un importante neurotransmisor que en el intestino delgado está relacionada con el reflejo peristáltico, como ya se mencionó, la 5-HT se produce en la CE ubicadas en la capa mucosa del intestino y se excreta de manera paracrina en la zona apical de las células de lumen intestinal y en la membrana basolateral de las células (Alcalde Herrero, 2011). Se sabe que para que se inicie la producción de 5-HT en el intestino delgado se requiere de un estímulo físico (alimentos) o químicos

(Bertrand & Bertrand, 2010), es por ello que resulta de suma importancia conocer cuál es el efecto que tiene la exposición a las PVP-AgNPs en anillos aislados de intestino delgado.

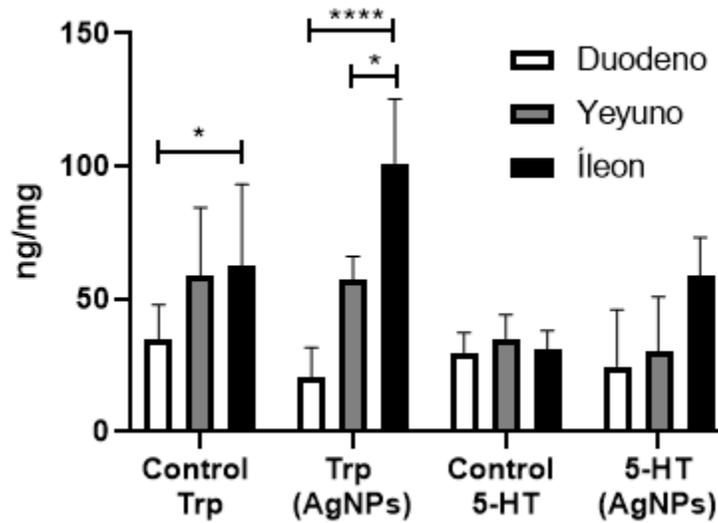
La producción de 5-HT en los tres segmentos de intestino delgado, mostró que la mayor producción fue en el segmento de íleon, mientras que en los segmentos de yeyuno y duodeno mostro una disminución; este efectos podría deberse a un daño a nivel de los transportadores de recaptura de serotonina (SERT) o la activación de otros receptores de 5-HT. La producción de 5-HT puede estar relacionado en el efecto de relajación transitoria observado en los registros aunque también no se puede descartar la implicación de otros mediadores, no solo en el segmento de íleon, sino también en los segmentos de duodeno y yeyuno; los datos obtenidos en este trabajo está en concordancia con lo publicado por Legay et al, 1983, quienes encontraron que las concentraciones de 5-HT en el sistema gastrointestinal de ratones Sprague-Dawley son mayores en el íleon que en duodeno y yeyuno (Legay et al., 1983); de forma similar el artículo de revisión publicado por Camilleri, 2009, reporta que en el intestino humano la mayor cantidad de receptores SERT para 5-HT se encuentran en el íleon, seguido de duodeno y yeyuno (Camilleri, 2009).

Existen trabajos de investigación como el realizado por Althomali y col. (2022) donde se demuestra que la presencia de nanopartículas de AgNPs (*Moringa olifera*--AgNPs) de 25 nm incrementan la regulación del gen de la proteína 5 relacionada con el receptor de la lipoproteína LRP5 en las líneas celulares cancerígenas HTC116 y SW480, inhibiendo la expresión de la enzima limitante triptófano hidroxilasa 1 que es necesaria para la síntesis de 5-HT (Althomali et al., 2022), lo que pudiera ser considerada evidencia de que la presencia de AgNPs pueden incidir directamente en la biosíntesis de la 5-HT; los efectos que las modificaciones en la biosíntesis de 5-HT resultan relevantes debido a que están fuertemente implicados en procesos esenciales como la peristalsis; trabajos como el de Bogers y col. (1991) demostraron que cuando se administra 5-HT a concentraciones de  $10^{-4}$ M en íleon terminal canino causaba una relajación NANC mientras que a concentraciones de  $10^{-5}$ M un efecto de relajación transitoria (Bogers et al., 1991), por lo tanto, cualquier alteración en la ruta biosintética

de la 5-HT repercute en el funcionamiento fisiológico normal de órganos como el intestino. La secreción de 5-HT en el intestino delgado juega un papel muy importante en los reflejos peristálticos, participando en los procesos contráctiles por estas razones, se considera que son necesarios más pruebas para corroborar los datos obtenidos.

El Trp es un aminoácido esencial que se obtiene por la ingesta de alimentos y cuya función principal es servir como precursor de diversos mediadores como la 5-HT; su cuantificación en este abordaje experimental muestra que solo en el segmento de íleon hay una diferencia significativa en su producción cuando los anillos de intestino delgado son expuestos a las PVP-AgNPs, lo cual coincide también con los resultados obtenidos en la producción de 5-HT por la acción de las PVP-AgNPs administradas acumulativamente a los anillos aislados de segmentos de intestino delgado.

La concentración de Trp en los controles muestra que entre segmentos de íleon y duodeno, existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) pero no cuando ambos segmentos se comparan con yeyuno, mientras que en los segmentos tratados, existe una mayor concentración de Trp en íleon cuando se compara con duodeno ( $p > 0.0001$ ) y yeyuno ( $p > 0.05$ ), mientras que para las concentraciones de 5-HT determinadas en los controles y en los segmentos tratados con concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs no hay diferencias significativas; esto puede ser debido al ayuno de 24 horas al que se sometió a las ratas previo a la cirugía, por lo cual, las concentraciones basales de 5-HT eran mínimas (Figura 32).



**Figura 32.** Gráfico comparativo de la producción de Trp y 5-HT entre segmentos (control y segmentos tratados con PVP-AgNPs) \* $P < 0.05$  Duodeno vs íleon; \*\*\*\* $P < 0.0001$  duodeno vs íleon.

Podemos concluir con base a la evidencia obtenida, que la secreción coordinada de 5-HT y NO por acción de las PVP-AgNPs en los anillos aislados de intestino delgado tienen una influencia en los procesos de relajación transitoria que se presentan en los registros (Figuras 5A, 6A y 7A) así como en la disminución gradual de la tensión en los anillos aislados de intestino delgado, aunque no necesariamente sean los únicos mediadores involucrados en dichos procesos, sugiriendo que las PVP-AgNPs pueden desencadenar estos procesos si se consideran como estímulos locales, necesarios para iniciar la producción de los mediadores ya mencionados.

Los experimentos con las concentraciones individuales muestran diferentes perfiles en cada segmento de intestino delgado: los anillos aislados del segmento de duodeno muestran una tendencia de un efecto contráctil disminuido en términos de porcentaje, donde la administración de concentraciones menores de PVP-AgNPs (0.01  $\mu\text{g/ml}$ ) da como resultado un porcentaje de contracción similar con las otras dos concentraciones empleadas (1  $\mu\text{g/ml}$  y 100  $\mu\text{g/ml}$ ), observándose este efecto posterior a la administración de las PVP-AgNPs y del SNP.

Paralelamente, podemos observar que, en el segmento de yeyuno, el porcentaje de contracción a concentraciones de PVP-AgNPs de 1  $\mu\text{g/ml}$  y posterior a

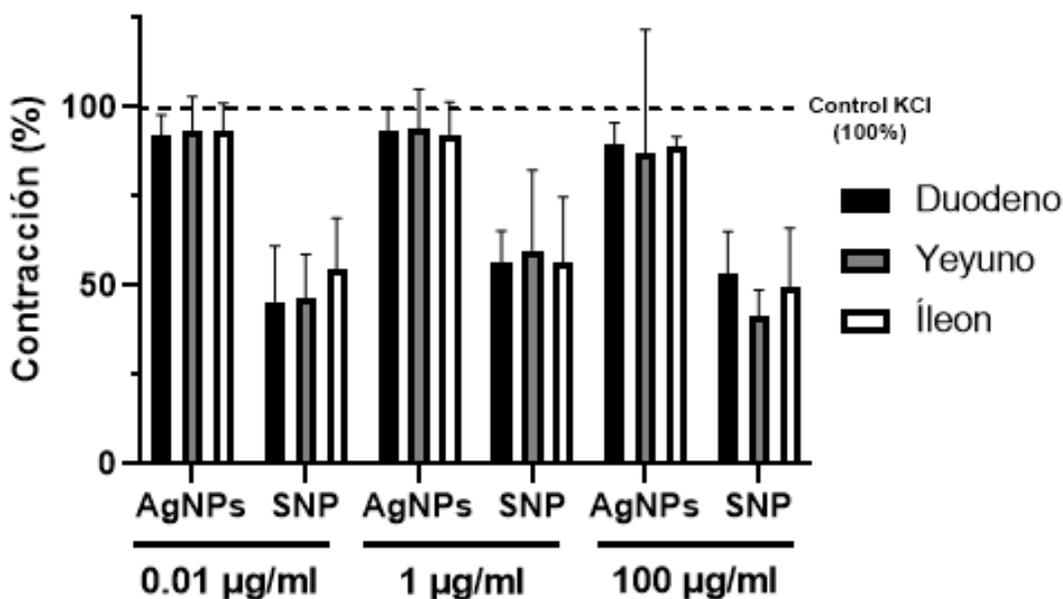
la administración de SNP es mayor que el registrado a las otras dos concentraciones; los resultados de las determinaciones de NO muestran este mismo comportamiento, pudiendo observar la producción de NO en los anillos aislados del segmento de yeyuno tratados con PVP-AgNPs 1  $\mu\text{g/ml}$  es menor que las obtenidas en los otros dos grupos. Observando los valores del porcentaje de contracción del control del segmento de yeyuno de 48.36% (Figura 10B) y comparándolo con los porcentajes de contracción final obtenidos en los anillos tratados con PVP-AgNPs a concentraciones de 0.01  $\mu\text{g/ml}$  y 100  $\mu\text{g/ml}$  se sugiere que la administración de concentraciones de PVP-AgNPs tiene un efecto deletéreo en la tonicidad del tejido de intestino delgado a estas concentraciones.

Respecto a los anillos aislados de íleon, los porcentajes de contracción registrados por efecto la administración de las concentraciones de PVP-AgNPs a los anillos aislados de segmentos de intestino delgado describen un perfil de disminución conforme aumentan las concentraciones, este perfil se sustenta en base a las concentraciones de NO obtenidas de los anillos tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs. En relación con su control, los porcentajes de contracción final alcanzados por los segmentos de íleon tratados con PVP-AgNPs 1  $\mu\text{g/ml}$  posterior a la administración de las concentraciones individuales de PVP-AgNPs y SNP, muestra ser ligeramente menor al registrado por la gráfica de contracción del control de íleon de 51.12% (Figura 11B), donde el porcentaje de contracción final es ligeramente menor, mientras que para las otras dos concentraciones de 0.01  $\mu\text{g/ml}$  y 100  $\mu\text{g/ml}$  el porcentaje de contracción final es un poco mayor al registrado por el control sin ser esta variación, para los 3 tratamientos, significativa. Para aquellas gráficas de producción de NO donde no es posible apreciar diferencias significativas, se puede sugerir que el proceso de relajación mostrado en los anillos puede no ser completamente dependiente de la producción de NO. Un análisis de la tensión

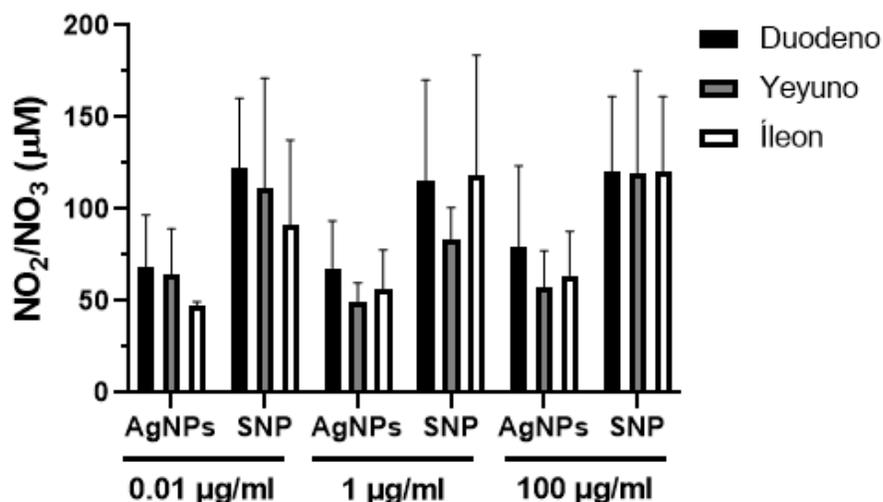
alcanzada en los anillos aislados de segmentos de intestino delgado no mostró diferencias significativas entre segmentos (Figura 33).

**Figura 33.** Gráfico comparativo de las tensiones alcanzadas por la administración de concentraciones individuales de PVP-AgNPs y las tensiones alcanzadas por la administración de SNP posterior al tratamiento con PVP-AgNPs entre segmentos de intestino delgado. \* $P < 0.05$  vs segmentos; \*\* $P < 0.01$  vs segmentos; \*\*\* $P < 0.001$  vs segmentos; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs segmentos.

De manera similar, una comparativa entre segmentos de la producción de NO mostró que no existen diferencias significativas en la producción de NO (Figura 34),



demostrando que las administraciones individuales de PVP-AgNPs no ejercen efectos dañinos considerables en un esquema de exposición aguda (horas).



**Figura 34.** Gráfico comparativo de la producción de NO alcanzada por la administración de concentraciones individuales de PVP-AgNPs y las tensiones alcanzadas por la administración de SNP posterior al tratamiento con PVP-AgNPs entre segmentos de intestino delgado. \* $P < 0.05$  vs segmentos; \*\* $P < 0.01$  vs segmentos; \*\*\* $P < 0.001$  vs segmentos; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs segmentos.

Las gráficas de producción de 5-HT y Trp para 3 concentraciones individuales de PVP-AgNPs (0.01 µg/ml, 1 µg/ml y 100 µg/ml) para los tres segmentos muestran una depleción en la secreción de ambos mediadores. A menor concentración de las PVP-AgNPs mayor secreción de 5-HT y Trp. El efecto en la secreción de estos mediadores es de notar ya que la disminución en la concentración de 5-HT ocurre paralelamente con la depleción de Trp; el hecho que las concentraciones de Trp sean menores que las de 5-HT se debe a que, durante el proceso de contracción, la 5-HT se sintetiza a partir del Trp cuando en el lumen intestinal hay un estímulo mecánico o químico que active la síntesis y liberación de 5-HT en las CE.

Comparando las gráficas de producción de 5-HT y Trp con las gráficas de porcentaje de contracción y las gráficas de producción de NO, podemos observar que el comportamiento de los anillos aislados de segmentos de intestino es consistente. Para los tres segmentos, las concentraciones de 0.01 µg/ml registra una mayor concentración de 5-HT y Trp que las concentraciones registradas para 1 µg/ml y 100 µg/ml y salvo en el segmento de duodeno, para yeyuno e íleon, se registra un ligero

incremento en la concentración de Trp a 100 µg/ml en comparación con los anillos tratados con PVP-AgNPs a concentraciones de 1 µg/ml.

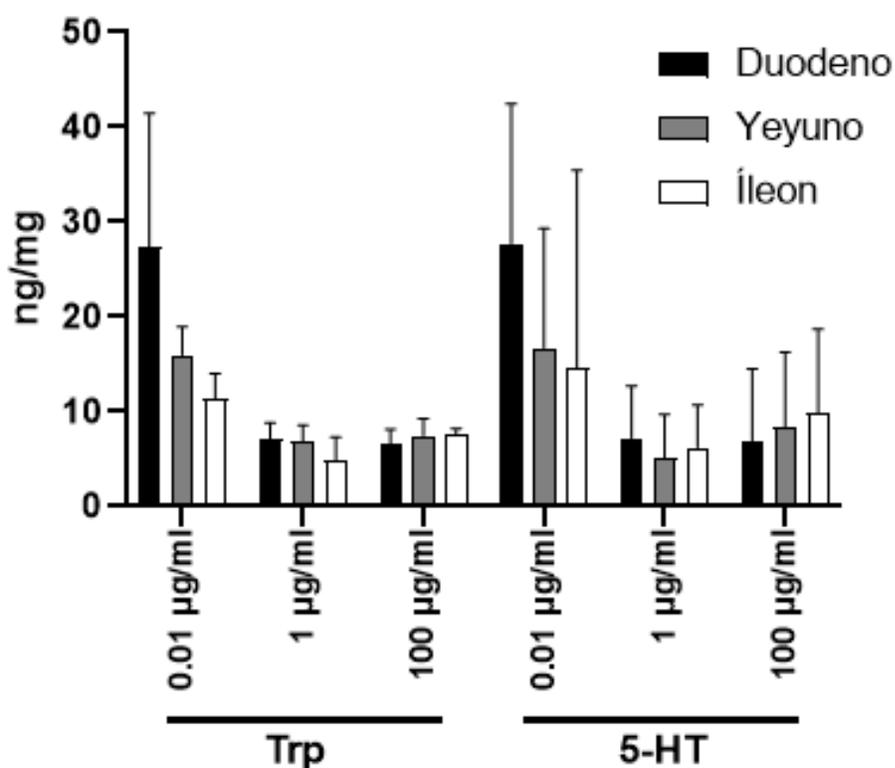
Para el caso de la 5-HT, en el segmento de duodeno, se registra una clara disminución en la concentración de 5-HT conforme se aumenta la dosis de PVP-AgNPs, de la misma manera, en el segmento de yeyuno, la concentración de 5-HT decrece mostrando un perfil similar al del Trp. Para el segmento de íleon, el comportamiento si muestra diferencias: aunque se puede mostrar que la administración de PVP-AgNPs también genera una disminución en la concentración de 5-HT y Trp con respecto a sus controles, también es cierto que se observa que mientras al administrar PVP-AgNPs a concentraciones de 0.01 µg/ml la producción de 5-HT es menor que el Trp a esa misma concentración; cuando se administran PVP-AgNPs 1 µg/ml, las concentraciones de 5-HT son levemente mayores que las registradas para Trp mientras que para administraciones de PVP-AgNPs 100 µg/ml muestran el mismo comportamiento que a concentraciones de 0.01 µg/ml.

Es necesario mencionar que estos resultados, muestran un perfil de disminución de la concentración de 5-HT y Trp, aunque en algunos casos, como en los controles vs 0.01 µg/ml estas diferencias no resulten ser significativas. Para estos casos, la disminución de la producción de 5-HT y NO y su relación con la disminución en el tono muscular de los anillos de intestino delgado se puede explicar como una consecuencia de la alteración en la producción de estos precursores, la producción de NO que relaja los anillos y la producción de 5-HT que los contrae se ve mermada ya que en presencia de PVP-AgNPs, los anillos son incapaces de recuperar su tono inicial.

Un comparativo entre segmentos de la producción de Trp y 5-HT de los segmentos de intestino delgado tratados con concentraciones individuales de AgNPs no mostro diferencias significativas en la producción de Trp y 5-HT entre segmentos (Figura 35), corroborando que los efectos deletéreos de las PVP-AgNPs no son significativos en un esquema de exposición aguda (en horas).

La elevación en la producción de Trp en íleon pudiera deberse a que el daño histológico ocasionado por las PVP-AgNPs repercutió en la efectividad de la enzima monoamina oxidasa (MAO) que es necesaria para metabolizar 5-HT, este escenario

fue estudiado por Legay y col. (1983) quienes descubrieron que las concentraciones de Trp en intestino delgado pueden regresar a sus valores control después de una administración de pargilina, que es un inhibidor de la MAO (Legay et al., 1983); la diferencia con los segmentos de duodeno y yeyuno puede explicarse a partir de las características histológicas entre segmentos, ya que existe una mayor cantidad de vellosidades en los segmentos de duodeno y yeyuno que en íleon (Ferrufino et al., 1996), mientras que el incremento de 5-HT en íleon se puede explicar bajo esas mismas condiciones estructurales.



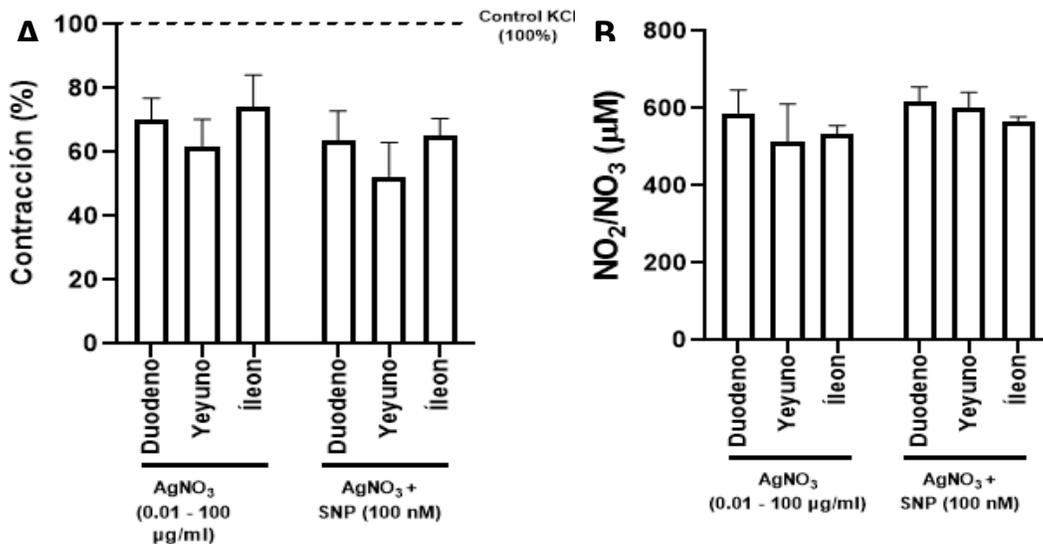
**Figura 35.** Gráfico comparativo de la producción de Trp y 5-HT entre segmentos tratados con concentraciones individuales de PVP-AgNPs. \* $P < 0.05$  vs segmentos; \*\* $P < 0.01$  vs segmentos; \*\*\* $P < 0.001$  vs segmentos; \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs segmentos.

Para los anillos tratados con concentraciones acumulativas de  $\text{AgNO}_3$  se puede observar que al analizar los porcentajes de contracción alcanzados (Figura 36A) y la cuantificación de NO después de la administración de  $\text{AgNO}_3$  y después de la

administración de SNP no existen diferencias significativas entre los segmentos (Figura 36 B).

Atendiendo a los registros gráficos en tiempo real (Figura 25A, 26A y 27A) es posible observar que en todos los segmentos se presenta un efecto relajante transitorio cuando se administran concentraciones crecientes acumulativas de  $\text{AgNO}_3$ , y aunque el perfil es similar, la magnitud es distinta.

Para los segmentos de duodeno tratados con PVP-AgNPs, el porcentaje de contracción alcanzado tras las administraciones crecientes acumulativas fue de 61.57% 66.59% y en términos de producción de NO, los anillos de duodeno tratados con concentraciones crecientes acumulativas de PVP-AgNPs alcanzaron concentraciones de 85.80  $\mu\text{M}$  y de 92.64 tras la administración de SNP, mientras que los anillos tratados con  $\text{AgNO}_3$  alcanzó un porcentaje de contracción de 66.59% después de la administración de concentraciones crecientes acumulativas de  $\text{AgNO}_3$  y 57.02% después de la administración de SNP (Figura 25B) y su producción de NO por acción del  $\text{AgNO}_3$  y SNP fueron respectivamente 587.53  $\mu\text{M}$  y 616.75  $\mu\text{M}$  (Figura 25C).



**Figura 36.** A) Gráfico comparativo del porcentaje de contracción alcanzado por anillos aislados de intestino delgado después de las administraciones crecientes acumulativas de  $\text{AgNO}_3$  y SNP. B) Gráfico comparativo de la producción de NO alcanzado por anillos aislados de intestino delgado después de las administraciones

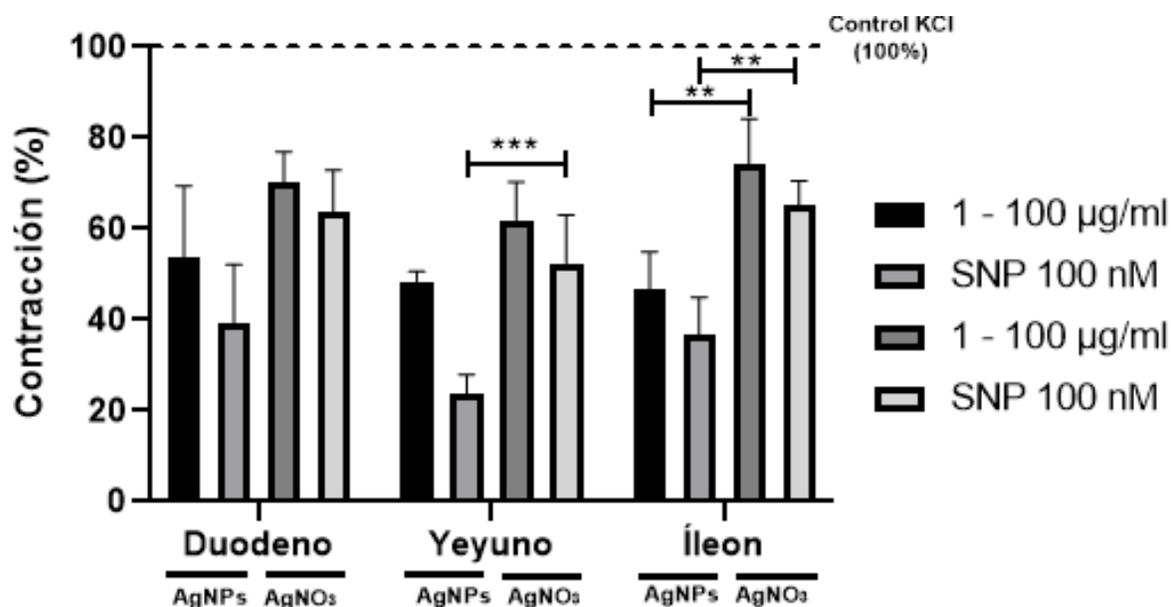
*crecientes acumulativas de AgNO<sub>3</sub> y SNP. \*P<0.05 vs segmentos; \*\*P<0.01 vs segmentos; \*\*\*P<0.001 vs segmentos; \*\*\*\*P<0.0001 vs segmentos.*

Para el segmento de yeyuno, el porcentaje de contracción disminuyó a 48.36 % con la administración de las concentraciones crecientes de PVP-AgNPs y hasta un 22.75% tras la administración de SNP; la cuantificación de NO resultó en concentraciones de 76.83  $\mu\text{M}$  después de la administración de las PVP-AgNPs y de 161.39  $\mu\text{M}$  tras la administración de SNP, en ese mismo contexto, los segmentos de yeyuno tratados con concentraciones crecientes acumulativas de AgNO<sub>3</sub> el porcentaje de contracción alcanzado fue de 61.92% y 52.43% posterior a la administración de SNP (Figura 26B) mientras que las concentraciones de NO cuantificadas después del tratamiento con PVP-AgNPs y SNP son respectivamente fueron 514.23  $\mu\text{M}$  y 603.84  $\mu\text{M}$  (Figura 26C).

Para los anillos aislados de íleon, el porcentaje de contracción alcanzado tras la administración de PVP-AgNPs y SNP fueron respectivamente y 55.68% y 28.87% mientras que la cuantificación de NO tras estos tratamientos (PVP-AgNPs y SNP) fueron de 92.95  $\mu\text{M}$  y 170.19  $\mu\text{M}$ ; en tanto que los valores de porcentaje de contracción para los anillos aislados de íleon tratados con concentraciones crecientes acumulativas de AgNO<sub>3</sub> y posteriormente la administración de SNP fueron de 74.16 y 65.18% respectivamente (Figura 27B), siendo la cuantificación de NO de 534.62  $\mu\text{M}$  y 566.6  $\mu\text{M}$  para el tratamiento con PVP-AgNPs y SNP respectivamente (Figura 27C).

Estos perfiles nos indican que, si bien es cierto, tanto las PVP-AgNPs y el AgNO<sub>3</sub> muestran perfiles similares, sin embargo, la magnitud tanto de porcentajes de contracción presentan diferencias significativas cuando se comparan los segmentos tratados con PVP-AgNPs y los tratados con AgNO<sub>3</sub>; estas diferencias se aprecian en los segmentos de yeyuno, los cuales, después de la administración de SNP, los segmentos tratados con PVP-AgNPs presentan la mayor disminución en el porcentaje de contracción ( $p>0.0001$ ) mientras que en íleon se presentan una mayor disminución en el porcentaje de contracción después de la administración de las PVP-AgNPs a comparación de los segmentos de íleon tratados con AgNO<sub>3</sub> ( $p>0.0001$ ), aunque no

se presentan diferencias significativas entre los segmentos de duodeno lo que indicaría que en términos de efectos, el intestino delgado es más reactivo a las PVP-AgNPs que al AgNO<sub>3</sub> y estas diferencias pueden estar relacionadas no solo a la forma de la Ag, sino también a las diferencias histológicas que existen entre segmentos (Figura 37).



**Figura 37.** Gráfico comparativo de los efectos de los tratamientos con PVP-AgNPs y AgNO<sub>3</sub> en segmentos de intestino delgado. \*\* $P < 0.01$  íleon AgNPs vs íleon AgNO<sub>3</sub>, \*\* $P > 0.001$  Íleon AgNPs+SNP vs íleon AgNO<sub>3</sub>+SNP; \*\*\* $P < 0.001$  Yeyuno AgNPs+SNP vs yeyuno AgNO<sub>3</sub>+SNP.

Como ya se observó, la producción de NO en los segmentos tratados con AgNO<sub>3</sub> resultaron ser mucho mayores que la producción en segmentos tratados con PVP-AgNPs. Esto se puede deber a que el durante la administración de AgNO<sub>3</sub>, al reaccionar con el cloruro de sodio (NaCl) formará cloruro de plata y nitrato de sodio.



El nitrato de sodio formado es convertido a nitrito por acción del cloruro de vanadio (VCl<sub>3</sub>) a temperatura ambiente (Miranda et al., 2001) y este cuantificado por medio del método de Griess, esto explicaría los altos niveles de NO cuantificados para los controles de ionización.



Cómo es posible observar, los porcentajes de contracción alcanzados en estos controles de ionización difieren en magnitud siendo mayores a aquellos que se observaron con las PVP-AgNPs: esto se puede deber a que el NO está causando un efecto contráctil, esto está reportado en el trabajo de Barthó y Lefevre (1994), encontrando que cuando segmentos de duodeno colocados en transductores isométricos se les administra concentraciones de NO en rango de  $1 \times 10^{-10}$  a  $1 \times 10^{-6}$  M en presencia de atropina se produce un efecto de contracción transitoria y de igual manera, en segmentos de duodeno precontraídos con 5-HT los rangos de concentraciones de NO que causan estos efectos de relajación van de  $1 \times 10^{-7}$  M a  $3 \times 10^{-6}$  M (Barthó & Lefebvre, 1994), mientras que en nuestro trabajo, las concentraciones de NO cuantificadas en unidades de molaridad fueron de casi  $6 \times 10^{-4}$  M; el efecto de contracción transitorio también se ha observado en experimentos con tiras musculares de uniones ileocolónicas e íleon terminal colocados en transductores isométricos siendo precontraídos con ACh a concentraciones de  $10^{-5}$  M de NO se producen contracciones transitorias mientras que con la administración de 5-HT de  $10^{-4}$  M se observa una relajación inicial seguida de una contracción (relajación no adrenérgica-no colinérgica) la cual es producida por la 5-HT mediada por NO (Bogers et al., 1991). Se puede concluir que pueden existir procesos de ionización de las PVP-AgNPs que puedan estar influyendo en los efectos de disminución del porcentaje de contracción, ocurriendo paralelamente a los efectos provocados por las características propias de las PVP-AgNPs.

Se realizaron experimentos para determinar si la polivinilpirrolidona (PVP) ejerce un efecto sobre la tonicidad de los anillos de intestino delgado.

En cuanto al porcentaje de contracción mostrado en los segmentos, es posible apreciar que el perfil de contracción para los anillos control y los anillos tratados con PVP 2% w/v mostrado para los segmentos de duodeno, yeyuno e íleon (Figuras 22A y 22B, 23A y 23B, 24A y 24B respectivamente), son similares, mostrando que los cambios en la tensión ocurren de manera similar no importando la adición de PVP 2% w/v, lo que podría ser indicativo que el PVP no ejerce efecto alguno (o al menos, no uno

significativo) en los cambios de tonicidad de anillos aislados de intestino delgado tratados con PVP-AgNPs a concentraciones crecientes acumulativas y a concentraciones individuales; esto se aprecia con más claridad en las gráficas de porcentaje de contracción para los distintos segmentos (Figuras 22B, 23B y 24B), donde el cambio en la tensión no resulta significativo después de la administración de PVP 2% w/v, además que el porcentaje de contracción alcanzado posterior a la administración de SNP 100 nM en los anillos de intestino tratados con PVP 2% w/v no resultan significativos al compararse con el porcentaje alcanzado por los anillos control.

La cuantificación de NO para los anillos de los 3 segmentos de intestino (Figuras 22C, 23C y 24C) muestra que tanto para los anillos control como para aquellos tratados con PVP 2% w/v no resulta en un cambio significativo en la producción de este mediador, lo cual respalda los resultados mostrados en las gráficas de porcentaje de contracción.

Esta falta de efectos dañinos del PVP está documentado en algunos trabajos, los cuales, con sus distintos enfoques al evaluado en este trabajo, realizaron evaluaciones toxicológicas del PVP, solo o en combinación con otros agentes de cubierta; Zhao et al (2012) realizaron pruebas de toxicidad aguda con PVP con 5 µg/L, 50 µg/l, 500 µg/l y 5000 µg/l durante 48 horas en *Daphnia magna*, evaluando la supervivencia de los especímenes, encontrando que después de 48 horas, todos los modelos habían sobrevivido (Zhao & Wang, 2012). Lacave et al (2017) realizaron una evaluación de supervivencia de *Artemia sp.* después de una exposición aguda por 24 horas y 48 horas a concentraciones de ~25 mg/l, ~50 mg/l, ~75 mg/l y ~100 mg/l de una mezcla de PVP/PEI (77%/23%), no encontrando ningún efecto significativo (Lacave et al., 2017).

Los experimentos realizados tuvieron el propósito de generar muestras para su posterior estudio histológico pero se puede apreciar que para todos los tratamientos se mantiene el comportamiento previamente observado, presentándose nuevamente los efectos de relajación transitoria en todos los anillos, aunque en algunos se observa que el porcentaje de contracción incluso aumento o no disminuyo en la misma

proporción que en experimentos anteriores, se observa un perfil similar al que se presentó previamente; de momento no se ha realizado la cuantificación de NO.

Las muestras histológicas muestran daños que van desde el desprendimiento epitelial y necrosis coagulativa. Estos hallazgos pueden ser indicativo de un daño ocasionado por las PVP-AgNPs administradas sin cambios en las capas subyacentes. Esto explicaría que pese al daño generado por la exposición a las PVP-AgNPs a nivel epitelial y de acuerdo con los registros obtenidos en las pruebas de tensión, los tejidos aún son funcionalmente viables. Esto resulta importante debido a que el daño histológico por acción de las PVP-AgNPs en distintas estructuras esta reportado.

Pecoraro et al, 2017 estudiaron los efectos de las NPs de plata en pez cebra expuestos durante 30 días a AgNPs de 25 nm a concentraciones de 8, 45, y 70  $\mu\text{g/l}$ , encontrando que a nivel intestinal, estas NPs ocasionaban necrosis y disminución en el tamaño de las microvellosidades principalmente a concentraciones bajas (8  $\mu\text{g/l}$ ) ya que a mayor concentración es más probable que las AgNPs se aglomeren (Pecoraro et al., 2017), lo que estaría en concordancia con nuestros hallazgos donde se da cuenta de la presencia de tejidos necróticos (Figura 28G). Osborne et al, 2015 y Lacave et al, 2017 encontraron resultados similares cuando expusieron peces cebras a NPs de plata por periodos de 4 días a concentraciones de 1 ppm observando una disminución del tamaño y pérdida de microvellosidades (Osborne et al., 2015) y 21 días con concentraciones de 1, 2.5, 5, 7.5 y 10 mg Ag/l de PVP/PEI-AgNPs (Lacave et al., 2017), observando procesos necróticos en tejido hepático (Lacave et al., 2017).

Se debe tener en cuenta que la presencia de mayor o menor daño estructural puede deberse a que, mientras que en el trabajo citado, las AgNPs utilizadas tenían recubiertas de citrato y PVP/PEI (Lacave et al., 2017; Osborne et al., 2015) y que los tiempos de exposición fueron más prolongados, en nuestro trabajo se utilizaron PVP-AgNPs de entre 20 y 40 nm recubiertas con PVP, esto pudiera ser un factor a considerar tomando en cuenta que los daños ocasionados por las NPs en los organismos no solo dependen de su tiempo exposición, sino que además se deben considerar el tamaño de la partícula y su estado de aglomeración, ya que es conocido que las NPs de menor tamaño pueden ser más tóxicas debido a que pueden ingresar

más fácilmente a las estructuras celulares por diversos mecanismos de absorción. Sin embargo, los resultados obtenidos hacen patente el daño que las PVP-AgNPs, al menos en este sistema experimental y pueden llegar a ocasionar incluso si poseen recubiertas que tengan el fin de disminuir su toxicidad, esto debido a que en el caso del PVP como lo mostró el estudio de Lacave et al, 2017, las AgNPs con recubierta de PVP/PEI pueden ocasionar daños estructurales (Lacave et al., 2017) incluso aunque es conocido que el PVP es un buen agente dispersante y estabilizante que les confiere a las AgNPs mayor estabilidad, (Koczkur et al., 2015b). Además, la solubilidad del PVP en agua (Koczkur et al., 2015b) pudiera ser otro factor a considerar en el desarrollo de los procesos deletéreos a nivel histológico, por lo que no se pueden descartar procesos de solubilización del PVP cuando las PVP-AgNPs son administradas.

Los resultados de la tinción de Grimelius arrojaron que la plata, bajo las condiciones experimentales de nuestro trabajo se bioacumulan principalmente en la zona apical de las vellosidades del intestino delgado; previamente se ha reportado este tipo de efecto en otros modelos biológicos, aunque con diferentes abordajes: Osborne y col. 2015, encontraron que la exposición a concentración de 1 ppm de AgNPs recubiertas con citrato de 110 nm y a las mismas concentraciones de AgNO<sub>3</sub> en peces cebra durante 4 días ocasionaba su bioacumulación en la membrana apical del intestino delgado, mientras que el tratamiento con AgNPs con recubierta de citrato de 20 nm se bioacumulaba en la membrana basolateral (Osborne et al., 2015); García-Alonso y col. (2011), estudiaron el efecto de la exposición de AgNPs recubiertas con citrato de 30 nm a concentraciones de 50 ngAg/g de sedimento en el gusano *Nereis diversicolor* durante 10 días y 3 días de depuración encontrando que al término del procedimiento experimental se descubrió la presencia de AgNPs en la membrana apical del epitelio intestinal, destacando los autores que estas zonas tienen una alta actividad endocítica (García-Alonso et al., 2011). Nuestros resultados muestran concordancia con los antecedentes discutidos en esta sección. Es interesante notar que, pese a las diferencias de los agentes de recubierta, el comportamiento de las PVP-AgNPs resulta similar incluso teniendo en cuenta la diferencia entre los modelos biológicos empleados tanto en los antecedentes mostrados como en el biomodelo

empleado en este trabajo.

Estos resultados también resultan relevantes ya que la bioacumulación de las AgNPs en la membrana apical del intestino delgado se presenta tanto los abordajes *in vivo* y con periodos de exposición más prolongados realizados por Osborne y col. (2015) y García-Alonso y col. (2011) como en el abordaje *ex vivo* con un tiempo de exposición marcadamente más corto establecido para este trabajo; de igual manera, nuestro trabajo muestra que los procesos de bioacumulación empiezan desde los primeros momentos en que las AgNPs entran en contacto con el lumen intestinal, mientras que el trabajo de García-Alonso y col. (2011) demuestra que incluso después de un periodo de depuración de la plata ingerida, esta permanece internalizada en las estructuras celulares (García-Alonso et al., 2011).

De acuerdo a los datos obtenidos a lo largo de la etapa experimental, los efectos que se presentaron por la administración de PVP-AgNPs: modificación del porcentaje de contracción, el efecto contráctil transitorio, todo esto originado por el aumento en la producción de NO y la disminución de Trp y 5-HT así como los efectos histológicos observados han permitido vislumbrar, de manera teórica un posible mecanismo de acción: la presencia de las PVP-AgNPs en el intestino podría estar favoreciendo la activación de otra vía metabólica del Trp, la vía de las quinureninas; trabajos como el de Hörnik et al, 2021 y Adeyemi et al, 2019 han recabado información sobre como las AgNPs sin recubierta y la exposición a nanocompositos que contengan Fe, Mn y Si pueden están relacionados con metabolitos de la vía de las quinureninas (Adeyemi et al., 2019; Horník et al., 2021); el favorecimiento de la vía de las quinureninas explicaría tanto el decremento en la cuantificación de Trp y 5-HT observados en nuestro abordaje experimental así como el reflejo contráctil transitorio observado. En general, se sabe que algunos metabolitos de la vía de las quinureninas se caracterizan por ser excitotóxicos,(Jhamandas et al., 2000), es decir, el daño y destrucción que sufren las neuronas al ser sobreexcitados sus receptores., está sobreexcitación está dada en términos del aumento en la concentración de  $Ca^{2+}$  y NOS pudiera explicar el efecto contráctil transitorio. El mecanismo de acción propuesto se explica a continuación.

Un fuerte candidato sería el ácido quinolínico, el cual se sabe que puede ejercer excitotoxicidad (Lugo-Huitrón et al., 2013), actuando mediante la unión a los receptores N-metil-D-aspartato (NMDAr), ocasionando un aumento en las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y óxido nítrico sintasa (NOS) principalmente las isoformas neuronal (nNOS) e inducible (iNOS) (Braidy et al., 2010) y por consecuencia de ON; este proceso excitotóxico también desencadena la liberación de mediadores como la caspasa, responsable de procesos necróticos y apoptóticos (La Cruz et al., 2012). El aumento simultáneo de  $\text{Ca}^{2+}$  y NO puede ser el mecanismo responsable del efecto contráctil transitorio observado, de igual manera y de igual manera, los daños histológicos observados se pueden atribuir a la excitotoxicidad producida por el ácido quinolínico, sin embargo, este dato aún debe ser corroborado de manera experimental. A su vez, al favorecerse esta vía, la producción de 5-HT se vería afectada, disminuyendo su síntesis.

Es pertinente señalar que la experimentación en un modelo murino implica necesariamente que los datos obtenidos están en función de la anatomía y fisiología propia del biomodelo que evidentemente difieren de las características del organismo humano (DeSesso & Jacobson, 2001), además, considerando que no es posible simular exactamente estas características en biomodelos animales, es necesaria una adecuada elección del biomodelo y del enfoque experimental (Kararli, 1995); en el caso del presente trabajo, la elección del modelo murino y el enfoque experimental abordado resultan adecuados tomando en cuenta que este es un primer abordaje fisiológico sobre los efectos de las PVP-AgNPs en el intestino delgado, siendo que los procesos y estructuras estudiados son parámetros que tanto los humanos como las ratas tienen en común: los fenómenos contráctiles-relajantes y las estructuras que componen el intestino delgado, como señalan Hryn y col. (2018) el sistema digestivo de humanos y ratas son filogenéticamente sistemas funcionales homólogos que guardan muchas cosas en común pese a las diferencias estructurales y/o funcionales (Hryn, Kostylenko, Yushchenko, Lavrenko, et al., 2018), esto también, respaldado por un artículo del mismo autor quien señala que la estructura histológica de la mucosa intestinal de ratas y humanos es muy similar (no incluyendo las diferencias

estructurales del ciego y el estómago) (Hryn, Kostylenko, Yushchenko, Ryabushko, et al., 2018).

Con la evidencia recolectada, podemos concluir que las PVP-AgNPs al estar en contacto con el intestino delgado pueden ocasionar daños fisiológicos y estructurales que pueden repercutir en el correcto funcionamiento de dicho órgano; por lo que, a futuro, se debe estudiar el efecto de AgNPs sin recubierta para poder verdaderamente dimensionar el daño ocasionado por estas NPs. De igual manera, se requieren estudios *in vivo* para ampliar nuestro panorama en términos de como el organismo puede modificar la estructura/estabilidad/estado de aglomeración de las PVP-AgNPs y determinar cuál sería el efecto neto sobre el funcionamiento del aparato digestivo, principalmente en el intestino delgado abordando. Nuestros datos también arrojan que la contribución del PVP como agente de recubierta de las AgNPs no aporta al efecto deletéreo observado en los segmentos de intestino delgado, sin embargo, en artículos de revisión se ha mencionado que el PVP puede ser un agente que puede intervenir en efectos dañinos como el bloqueo de sitios activos en procesos catalíticos (Koczur et al., 2016), por lo que se sugiere realizar investigaciones sobre las posibles concentraciones a las cuales el PVP puede ejercer estos efectos, ya sea solo o en conjunto con otras NPs, en especial con las AgNPs; para efectos de este trabajo, a una concentración de 2% el PVP no mostro estos efectos. El abordaje hecho para este trabajo nos permite avanzar en el entendimiento de los procesos fisiológicos que se pueden ver afectados por la presencia de AgNPs cuando ingresan por la vía digestiva, así como desarrollar estrategias para el desarrollo de futuras regulaciones que permitan el uso responsable y controlado de estas NPs.

## **Conclusiones**

Con los resultados obtenidos de este trabajo, se concluye que PVP-AgNPs en el intestino delgado pueden ser agentes causales de daño tisular, así como de cambios en la función normal del intestino delgado a lo largo de sus tres segmentos; la evidencia experimental señala que incluso, aunque las AgNPs posean un agente de recubierta como el PVP, esto no es garante de una disminución en sus efectos dañinos ejercidos dentro del organismo. Si bien es cierto que este trabajo presenta un abordaje

experimental poco empleado a nivel global, los datos obtenidos deben ser tomados como una primera evidencia de los efectos deletéreos que pueden producir las PVP-AgNPs a nivel intestinal y que su presencia se relaciona estrechamente con alteraciones en la producción de agentes endógenos encargados de la motilidad intestinal. Este trabajo tiene fuertes implicaciones en campos como la investigación de padecimientos intestinales que pudieran ser desencadenados por la ingesta de las AgNPs como el síndrome de colon irritable, cáncer de colon o diarrea carcinoide, úlceras, padecimientos inflamatorios, estreñimiento entre otros.

A su vez, los resultados tienen una fuerte implicación regulatoria ya que se enmarcan en una red temática nacional denominada Sistema Nacional de Evaluación Toxicológica de Nanomateriales (SINANOTOX) que tiene como objetivo generar información sobre los efectos de los NMs y que a su vez sirva como un sistema de referencia nacional con el objetivo de sentar las bases para la elaboración de futuras regulaciones sobre los NMs. Es por ello por lo que la información presentada aportara valiosa información sobre las AgNPs, las cuales son ampliamente utilizadas en una gran variedad de productos de consumo humano como los productos alimenticios y de igual manera. A su vez, la información generada abonara en el entendimiento de cómo está relacionada la contaminación por AgNPS de cuerpos de agua y efluentes y el ingreso de estas en el organismo, por lo que el enfoque medio ambiental esta también estrechamente implicado en este trabajo.

Aunque aún es necesario seguir explorando a profundidad en que otros procesos fisiológicos pueden estar implicadas las AgNPs evaluando otros posibles mediadores, mecanismos moleculares, así como evaluar otros enfoques tales como los enfoques *in vivo*, los datos arrojados por este trabajo ofrecen un primer acercamiento a los efectos fisiológicos originados por las AgNPs.

## Bibliografía

- Abass Sofi, M., Sunitha, S., Ashaq Sofi, M., Khadheer Pasha, S. K., & Choi, D. (2022). An overview of antimicrobial and anticancer potential of silver nanoparticles. *Journal of King Saud University - Science*, 34(2), 101791. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101791>
- Abbott Chalew, T. E., & Schwab, K. J. (2013). Toxicity of commercially available engineered nanoparticles to Caco-2 and SW480 human intestinal epithelial cells. *Cell Biology and Toxicology*, 29(2), 101–116. <https://doi.org/10.1007/s10565-013-9241-6>
- Adeyemi, O. S., Uloko, R. A., Awakan, O. J., Adeyanju, A. A., & Otohinoyi, D. A. (2019). The oral administration of silver nanoparticles activates the kynurenine pathway in rat brain independently of oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*, 302(January), 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.01.034>
- Ahn, J.-M., Eom, H.-J., Yang, X., Meyer, J. N., & Choi, J. (2014). Comparative toxicity of silver nanoparticles on oxidative stress and DNA damage in the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, 108, 343–352. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.078>
- Alcalde Herrero, A. I. (2011). Importancia del sistema serotoninérgico en la fisiopatología intestinal. In *Libro de Ponencias: Discurso Leído En el acto de su recepción académica* (pp. 1–64). Cometa S.A.
- Almutairi, Z., & Alharbi, A. (2015). Effect of Silver Nanoparticles on Seed Germination of Crop Plants. *JOURNAL OF ADVANCES IN AGRICULTURE*, 4(1), 280–285. <https://doi.org/10.24297/jaa.v4i1.4295>
- Althomali, A., Daghestani, M. H., Basil Almukaynizi, F., Al-Zahrani, S. A., Awad, M. A., Merghani, N. M., Bukhari, W. I., Ibrahim, E. M., Alzahrani, S. M., Altowair, N.,

- AL-Ghamdi, A. S., AlQahtani, A. M., Ramadan, R., & Bhat, R. S. (2022). Anti-colon cancer activities of green-synthesized *Moringa oleifera* –AgNPs against human colon cancer cells. *Green Processing and Synthesis*, 11(1), 545–554. <https://doi.org/10.1515/gps-2022-0052>
- Änggård, E. (1994). Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *The Lancet*, 343(8907), 1199–1206. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)92405-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)92405-8)
- Anu Mary Ealia, S., & Saravanakumar, M. P. (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263(3), 032019. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>
- Anzar, N., Hasan, R., Tyagi, M., Yadav, N., & Narang, J. (2020). Carbon nanotube - A review on Synthesis, Properties and plethora of applications in the field of biomedical science. *Sensors International*, 1(December 2019), 100003. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100003>
- Aungst, B. J., Saitoh, H., Burcham, D. L., Huang, S. M., Mousa, S. A., & Hussain, M. A. (1996). Enhancement of the intestinal absorption of peptides and non-peptides. *Journal of Controlled Release*, 41(1–2), 19–31. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(96\)01353-3](https://doi.org/10.1016/0168-3659(96)01353-3)
- Ávalos, A., Haza, A., & Morales, P. (2013). Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 7(2), 1–23. [https://doi.org/10.5209/rev\\_RCCV.2013.v7.n2.43408](https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408)
- Bachler, G., von Goetz, N., & Hungerbühler, K. (2013). A physiologically based pharmacokinetic model for ionic silver and silver nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 3365. <https://doi.org/10.2147/IJN.S46624>
- Badawy, A. A. B. (2017). Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *International Journal of Tryptophan Research*, 10(1), 117864691769193. <https://doi.org/10.1177/1178646917691938>
- Badawy, A. A. B. (2020). Kynurenine pathway and human systems. *Experimental Gerontology*, 129, 110770. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2019.110770>

- Baker, A. J. (2017). *Bioaccumulation , biological effects and trophic transfer of metal ( oxide ) nanoparticles in marine invertebrates*. <http://hdl.handle.net/10871/33183>
- Bannunah, A. M., Vllasaliu, D., Lord, J., & Stolnik, S. (2014). Mechanisms of nanoparticle internalization and transport across an intestinal epithelial cell model: Effect of size and surface charge. *Molecular Pharmaceutics*, *11*(12), 4363–4373. <https://doi.org/10.1021/mp500439c>
- Barthe, L., Woodley, J., & Houin, G. (1999). Gastrointestinal absorption of drugs: Methods and studies. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, *13*(2), 154–168. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.1999.tb00334.x>
- Barthó, L., & Lefebvre, R. A. (1994). Nitric oxide causes contraction in the rat isolated small intestine. *European Journal of Pharmacology*, *259*(1), 101–104. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(94\)90166-X](https://doi.org/10.1016/0014-2999(94)90166-X)
- Batley, G. E., Kirby, J. K., & McLaughlin, M. J. (2013). Fate and Risks of Nanomaterials in Aquatic and Terrestrial Environments. *Accounts of Chemical Research*, *46*(3), 854–862. <https://doi.org/10.1021/ar2003368>
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*, *25*(1), 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2020). The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules*, *25*(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
- Beattie, D. T., & Smith, J. A. M. (2008). Serotonin pharmacology in the gastrointestinal tract: a review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, *377*(3), 181–203. <https://doi.org/10.1007/s00210-008-0276-9>
- Behzadi, S., Serpooshan, V., Tao, W., Hamaly, M. A., Alkawareek, M. Y., Dreaden, E. C., Brown, D., Alkilany, A. M., Farokhzad, O. C., & Mahmoudi, M. (2017). Cellular uptake of nanoparticles: Journey inside the cell. *Chemical Society Reviews*, *46*(14), 4218–4244. <https://doi.org/10.1039/c6cs00636a>

- Bergin, I. L., & Witzmann, F. A. (2013). Nanoparticle toxicity by the gastrointestinal route: evidence and knowledge gaps. *International Journal of Biomedical Nanoscience and Nanotechnology*, 3(1/2), 163.  
<https://doi.org/10.1504/IJBNN.2013.054515>
- Berlanga Mora, I. (2013). Síntesis y caracterización de nanomateriales 0D, 1D y 2D [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid]. In *Biblios-e Archivo*.  
<https://repositorio.uam.es/handle/10486/660464>
- Berne, R. M., & Levy, M. N. (2009). *Fisiología* (B. M. Koeppen & B. A. Stanton (Eds.); 6th ed.). Elsevier.
- Bertrand, P. P. (2006). Real-time measurement of serotonin release and motility in guinea pig ileum. *The Journal of Physiology*, 577(2), 689–704.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.117804>
- Bertrand, P. P., & Bertrand, R. L. (2010). Serotonin release and uptake in the gastrointestinal tract. *Autonomic Neuroscience*, 153(1–2), 47–57.  
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2009.08.002>
- Bogers, J. J., Pelckmans, P. A., Boeckxstaens, G. E., De Man, J. G., Herman, A. G., & Van Maercke, Y. M. (1991). The role of nitric oxide in serotonin-induced relaxations in the canine terminal ileum and ileocolonic junction. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 344(6), 716–719.  
<https://doi.org/10.1007/BF00174756>
- Braidy, N., Grant, R., Adams, S., & Guillemin, G. J. (2010). Neuroprotective effects of naturally occurring polyphenols on quinolinic acid-induced excitotoxicity in human neurons. *FEBS Journal*, 277(2), 368–382. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07487.x>
- Bruneau, A., Turcotte, P., Pilote, M., Gagné, F., & Gagnon, C. (2016). Fate of silver nanoparticles in wastewater and immunotoxic effects on rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 174, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.02.013>
- Brzezinski, A. (1997). Melatonin in Humans. *New England Journal of Medicine*, 336(3), 186–195. <https://doi.org/10.1056/NEJM199701163360306>
- Bubenik, G. A. (2002). Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical

- relevance. *Digestive Diseases and Sciences*, 47(10), 2336–2348.  
<https://doi.org/10.1023/A:1020107915919>
- Calignano, A., Whittle, B. J. R., Di Rosa, M., & Moncada, S. (1992). Involvement of endogenous nitric oxide in the regulation of rat intestinal motility in vivo. *European Journal of Pharmacology*, 229(2–3), 273–276.  
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(92\)90567-N](https://doi.org/10.1016/0014-2999(92)90567-N)
- Camilleri, M. (2009). Serotonin in the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 16(1), 53–59.  
<https://doi.org/10.1097/MED.0b013e32831e9c8e>
- Cervantes-Avilés, P., Souza-Brito, E., Bernal-Martínez, A., Cuevas-Rodríguez, G., Antonio Reyes-Aguilera, J., & de la Rosa, G. (2017). Impact of nanopollutants in aerobic bioreactors for wastewater treatment. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(1), 247–260.
- Cervantes-Áviles, P., Souza-Brito, E., Bernal-Martínez, A., Reyes-Aguilera, J. A., de la Rosa, G., & Cuevas-Rodríguez, G. (2016). Impact of nanopollutants in aerobic biorreactors for wastewater treatment. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(1), 247–260. <https://doi.org/10.24275/rmiq/IA858>
- Chávez-Hernández, J. A., Velarde-Salcedo, A. J., Navarro-Tovar, G., & Gonzalez, C. (2024). Safe nanomaterials: from their use, application, and disposal to regulations. *Nanoscale Advances*, 6(6), 1583–1610.  
<https://doi.org/10.1039/D3NA01097J>
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and bioaccumulation - the prospects for practical applications. *Environment International*, 36(3), 299–307.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.12.001>
- Cousins, R. J., & Liuzzi, J. P. (2018). Trace Metal Absorption and Transport. In *Physiology of the Gastrointestinal Tract, Sixth Edition* (Sixth Edit, Vol. 2). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809954-4.00061-X>
- Coutiño, E. M. del R., to Ávila Lagunes, L., ar Arroyo Helguera, O., Lagunes, L. Á., & Helguera, O. A. (2017). Las nanopartículas de plata: mecanismos de entrada, toxicidad y estrés oxidativo. *Revista de Educación Bioquímica*, 36(2), 39–54.

- <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=75677#.YZgpEYmmkxI.mendeley>
- Cox, R. D. (1980). Determination of nitrate and nitrite at the parts per billion level by chemiluminescence. *Analytical Chemistry*, 52(2), 332–335.  
<https://doi.org/10.1021/ac50052a028>
- Cudeiro, J. (2005). Fisiología de la absorción intestinal. In *I curso de especialización en nutrición* (pp. 37–42).
- Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., & Yadav, V. (2016). Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*, 7(NOV), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01831>
- Dean, S., Mansoori, G., & Fauzi Soelaiman, T. (2005). Nanotechnology — An Introduction for the Standards Community. *Journal of ASTM International*, 2(6), 13110. <https://doi.org/10.1520/JAI13110>
- Delgado, G. C. (2010). Economics and governance of nanomaterials: potential and risks. *Technology in Society*, 32(2), 137–144.  
<https://doi.org/10.1016/j.techsoc.2010.03.002>
- DeSesso, J. M., & Jacobson, C. F. (2001). Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food and Chemical Toxicology*, 39(3), 209–228. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(00\)00136-8](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(00)00136-8)
- Dijkstra, G., Van Goor, H., Jansen, P. L., & Moshage, H. (2004). Targeting nitric oxide in the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 5(5), 529–536.
- Donahue, N. D., Acar, H., & Wilhelm, S. (2019). Concepts of nanoparticle cellular uptake, intracellular trafficking, and kinetics in nanomedicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 143, 68–96. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.04.008>
- Espinosa-Cristobal, L. F., Martinez-Castañon, G. A., Loyola-Rodriguez, J. P., Patiño-Marin, N., Reyes-Macias, J. F., Vargas-Morales, J. M., & Ruiz, F. (2013). Toxicity, distribution, and accumulation of silver nanoparticles in Wistar rats. *Journal of Nanoparticle Research*, 15(6), 1702. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1702-6>

- Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011, Official Journal of the European Union 1 (2011). <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:012:0001:0089:EN:PDF>
- Farhoodi, M. (2016). Nanocomposite Materials for Food Packaging Applications: Characterization and Safety Evaluation. *Food Engineering Reviews*, 8(1), 35–51. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9114-2>
- Fernandez, C. C., Sokolonski, A. R., Fonseca, M. S., Stanisic, D., Araújo, D. B., Azevedo, V., Portela, R. D., & Tasic, L. (2021). Applications of silver nanoparticles in dentistry: Advances and technological innovation. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 1–21. <https://doi.org/10.3390/ijms22052485>
- Ferrufino, J. C., Taxa, L., & Gladis, A. (1996). Histología normal del intestino delgado. *Revista Medica Herediana*, 7(1), 46–57. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X1996000100009&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X1996000100009&lng=es).
- Feynman, R. (1959). There's Plenty of Room at the Bottom. In *Feynman and Computation* (pp. 63–76). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429500459-7>
- Florence, A. T., Hillery, A. M., Hussain, N., & Jani, P. U. (1995). Nanoparticles as carriers for oral peptide absorption: Studies on particle uptake and fate. *Journal of Controlled Release*, 36(1–2), 39–46. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(95\)00059-H](https://doi.org/10.1016/0168-3659(95)00059-H)
- Florence, A. T., & Hussain, N. (2001). Transcytosis of nanoparticle and dendrimer delivery systems: evolving vistas. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50(SUPPL. 1), S69–S89. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(01\)00184-3](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(01)00184-3)
- Foulkes, E. C. (1984). *Intestinal Absorption of Heavy Metals*. 543–565. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-69505-6\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-642-69505-6_14)
- Foulkes, R., Man, E., Thind, J., Yeung, S., Joy, A., & Hoskins, C. (2020). The regulation of nanomaterials and nanomedicines for clinical application: current and future perspectives. *Biomaterials Science*, 8(17), 4653–4664. <https://doi.org/10.1039/D0BM00558D>

- Fytianos, G., Rahdar, A., & Kyzas, G. Z. (2020). Nanomaterials in Cosmetics: Recent Updates. *Nanomaterials*, 10(5), 979. <https://doi.org/10.3390/nano10050979>
- Gaillet, S., & Rouanet, J.-M. (2015). Silver nanoparticles: Their potential toxic effects after oral exposure and underlying mechanisms – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 77, 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.12.019>
- Gallego, D., Mañé, N., Gil, V., Martínez-Cutillas, M., & Jiménez, M. (2016). Mecanismos responsables de la relajación neuromuscular en el tracto gastrointestinal. In *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas* (Vol. 108, Issue 11, pp. 721–731). <https://doi.org/10.17235/reed.2016.4058/2016>
- Gao, J., Mahapatra, C. T., Mapes, C. D., Khlebnikova, M., Wei, A., & Sepúlveda, M. S. (2016). Vascular toxicity of silver nanoparticles to developing zebrafish (*Danio rerio*). *Nanotoxicology*, 10(9), 1363–1372. <https://doi.org/10.1080/17435390.2016.1214763>
- García-Alonso, J., Khan, F. R., Misra, S. K., Turmaine, M., Smith, B. D., Rainbow, P. S., Luoma, S. N., & Valsami-Jones, E. (2011). Cellular Internalization of Silver Nanoparticles in Gut Epithelia of the Estuarine Polychaete *Nereis diversicolor*. *Environmental Science & Technology*, 45(10), 4630–4636. <https://doi.org/10.1021/es2005122>
- García-Gallegos, J. C. (2015). Efecto de la Ingesta de Nanoestructuras en el Organismo. In M. E. Ramirez-Ortiz (Ed.), *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos* (pp. 255–287). OmniaScience. <https://doi.org/10.3926/oms.290>
- García-González, M. A., & Peña, A. S. (1998). Óxido nítrico y enfermedad intestinal. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 90(12), 870–876.
- Garcia, T., Lafuente, D., Blanco, J., Sánchez, D. J., Sirvent, J. J., Domingo, J. L., & Gómez, M. (2016). Oral subchronic exposure to silver nanoparticles in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 92, 177–187. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.04.010>
- Garcia, X., & Stein, F. (2006). Nitric Oxide. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, 17(2), 55–57. <https://doi.org/10.1053/j.spid.2006.04.002>
- Ghebretatios, M., Schaly, S., & Prakash, S. (2021). Nanoparticles in the Food

- Industry and Their Impact on Human Gut Microbiome and Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1942.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22041942>
- Giovanni, M., Tay, C. Y., Setyawati, M. I., Xie, J., Ong, C. N., Fan, R., Yue, J., Zhang, L., & Leong, D. T. (2015). Toxicity profiling of water contextual zinc oxide, silver, and titanium dioxide nanoparticles in human oral and gastrointestinal cell systems. *Environmental Toxicology*, 30(12), 1459–1469.  
<https://doi.org/10.1002/tox.22015>
- Gonzalez, C., Navarro Tovar, G., & Ramírez Lee, M. A. (2018). Perfil fisiológico de los nanomateriales. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencia y Nanotecnología*, 11(20), 27.  
<https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2018.20.63062>
- Gonzalez, C., Rosas-Hernandez, H., Ramirez-Lee, M. A., Salazar-García, S., & Ali, S. F. (2016). Role of silver nanoparticles (AgNPs) on the cardiovascular system. *Archives of Toxicology*, 90(3), 493–511. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1447-8>
- González, C., Salazar-García, S., Palestino, G., Martínez-Cuevas, P. P., Ramírez-Lee, M. A., Jurado-Manzano, B. B., Rosas-Hernández, H., Gaytán-Pacheco, N., Martel, G., Espinosa-Tanguma, R., Biris, A. S., & Ali, S. F. (2011). Effect of 45nm silver nanoparticles (AgNPs) upon the smooth muscle of rat trachea: Role of nitric oxide. *Toxicology Letters*, 207(3), 306–313.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.09.024>
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R. W., & Nowack, B. (2009). Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environmental Science and Technology*, 43(24), 9216–9222. <https://doi.org/10.1021/es9015553>
- Gromova, L. V., Fetissov, S. O., & Gruzdkov, A. A. (2021). Mechanisms of Glucose Absorption in the Small Intestine in Health and Metabolic Diseases and Their Role in Appetite Regulation. *Nutrients*, 13(7), 2474.  
<https://doi.org/10.3390/nu13072474>

- Gutiérrez González, L., Hernández Jiménez, M. J., & Molina Borchert, L. (2013). Daños para la salud tras exposición laboral a nanopartículas. *Medicina y Seguridad Del Trabajo*, 59(231), 276–296. <https://doi.org/10.4321/S0465-546X2013000200007>
- Habib, S., & Ali, A. (2011). Biochemistry of Nitric Oxide. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 26(1), 3–17. <https://doi.org/10.1007/s12291-011-0108-4>
- Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2016). *Guyton y Hall. Tratado de Fisiología Médica* (13th ed.). Elsevier.
- Haq, S., Grondin, J. A., & Khan, W. I. (2021). Tryptophan-derived serotonin-kynurenine balance in immune activation and intestinal inflammation. *The FASEB Journal*, 35(10), 1–22. <https://doi.org/10.1096/fj.202100702R>
- Hasan, K. M. F., Xiaoyi, L., Shaoqin, Z., Horváth, P. G., Bak, M., Bej3, L., Sipos, G., & Alp3r, T. (2022). Functional silver nanoparticles synthesis from sustainable point of view: 2000 to 2023 – A review on game changing materials. *Heliyon*, 8(12). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12322>
- Hasler, W. L. (2009). Serotonin and the GI tract. *Current Gastroenterology Reports*, 11(5), 383–391. <https://doi.org/10.1007/s11894-009-0058-7>
- Hibberd, T. J., Zagrodnyuk, V. P., Spencer, N. J., & Brookes, S. J. H. (2012). Identification and mechanosensitivity of viscerofugal neurons. *Neuroscience*, 225, 118–129. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.08.040>
- Hobson, D. W., & Hobson, V. L. (2007). Normal and abnormal intestinal absorption by humans. *Toxicology of the Gastrointestinal Tract*, 33(December), 279–320. <https://doi.org/10.1201/9780429433252-12>
- Horn3k, Š., Mich3lkov3, L., S3ykora, J., Žd3imal, V., Vl3ckov3, Š., Dvoř33kov3, Š., & Pelclov3, D. (2021). Effects of Workers Exposure to Nanoparticles Studied by NMR Metabolomics. *Applied Sciences*, 11(14), 6601. <https://doi.org/10.3390/app11146601>
- Hryn, V. H., Kostylenko, Y. P., Yushchenko, Y. P., Lavrenko, A. V., & Ryabushko, O. B. (2018). General comparative anatomy of human and white rat digestive systems: a bibliographic analysis. *Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland :*

- 1960), 71(8), 1599–1602.
- Hryn, V. H., Kostylenko, Y. P., Yushchenko, Y. P., Ryabushko, M. M., & Lavrenko, D. O. (2018). Comparative histological structure of the gastrointestinal mucosa in human and white rat: a bibliographic analysis. *Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*, 71(7), 1398–1403.
- Inkson, B. J. (2016). Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM) for Materials Characterization. In *Materials Characterization Using Nondestructive Evaluation (NDE) Methods* (pp. 17–43). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100040-3.00002-X>
- Iqbal, J., & Hussain, M. M. (2009). Intestinal lipid absorption. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 296(6). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90899.2008>
- Istiqola, A., & Syafiuddin, A. (2020). A review of silver nanoparticles in food packaging technologies: Regulation, methods, properties, migration, and future challenges. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 67(11), 1942–1956. <https://doi.org/10.1002/jccs.202000179>
- Iversen, T. G., Skotland, T., & Sandvig, K. (2011). Endocytosis and intracellular transport of nanoparticles: Present knowledge and need for future studies. *Nano Today*, 6(2), 176–185. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2011.02.003>
- Jaramillo, H. No., Patiño, J. P., & Giraldo, M. L. (2006). Transporte a través de membranas. In P. J. Patiño (Ed.), *Biología de la Celula* (1st ed.). Editoria Biogénesis.
- Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9(1), 1050–1074. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>
- Jhamandas, K. H., Boegman, R. J., Beninger, R. J., Miranda, A. F., & Lipic, K. A. (2000). Excitotoxicity of quinolinic acid: Modulation by endogenous antagonists. *Neurotoxicity Research*, 2(2–3), 139–155. <https://doi.org/10.1007/BF03033790>
- Johari, S. A., Kalbassi, M. R., Yu, I. J., & Lee, J. H. (2015). Chronic effect of

- waterborne silver nanoparticles on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histopathology and bioaccumulation. *Comparative Clinical Pathology*, 24(5), 995–1007. <https://doi.org/10.1007/s00580-014-2019-2>
- Kale, S. K., Parishwad, G. V., Husainy, A. S. N., & Patil, A. S. (2021). Emerging Agriculture Applications of Silver Nanoparticles. *ES Food and Agroforestry*, 3, 17–22. <https://doi.org/10.30919/esfaf438>
- Kararli, T. T. (1995). Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 16(5), 351–380. <https://doi.org/10.1002/bdd.2510160502>
- Karimi, M., Sadeghi, R., & Kokini, J. (2018). Human exposure to nanoparticles through trophic transfer and the biosafety concerns that nanoparticle-contaminated foods pose to consumers. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 129–145. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.012>
- Karp, G. (2009). *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos* (5th ed.).
- Khan, F. A. (2020). Applications of nanomaterials in human health. In *Applications of Nanomaterials in Human Health*. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-4802-4>
- Koczur, K. M., Mourdikoudis, S., & Polavarapu, L. (2016). The versatile role of PVP in nanoparticle synthesis Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis. *Dalton Transactions*, 1, 1–24. [www.rsc.org/dalton](http://www.rsc.org/dalton)
- Koczur, K. M., Mourdikoudis, S., Polavarapu, L., & Skrabalak, S. E. (2015a). Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis. *Dalton Transactions*, 44(41), 17883–17905. <https://doi.org/10.1039/C5DT02964C>
- Koczur, K. M., Mourdikoudis, S., Polavarapu, L., & Skrabalak, S. E. (2015b). Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis. *Dalton Transactions*, 44(41), 17883–17905. <https://doi.org/10.1039/C5DT02964C>
- Koolman, J., & Röhm, K.-H. (2012). *Bioquímica humana. Texto y Atlas* (4th ed.). Editorial Medica Panamericana.
- Kroto, H. W., Heath, J. R., O'Brien, S. C., Curl, R. F., & Smalley, R. E. (1985). C60 : Buckminsterfullerene. *Nature*, 318, 162–163.

- La Cruz, V. P.-D., Carrillo-Mora, P., & Santamaría, A. (2012). Quinolinic Acid, an Endogenous Molecule Combining Excitotoxicity, Oxidative Stress and Other Toxic Mechanisms. *International Journal of Tryptophan Research*, 5(1), IJTR.S8158. <https://doi.org/10.4137/IJTR.S8158>
- Lacave, J. M., Fanjul, Á., Bilbao, E., Gutierrez, N., Barrio, I., Arostegui, I., Cajaraville, M. P., & Orbea, A. (2017). Acute toxicity, bioaccumulation and effects of dietary transfer of silver from brine shrimp exposed to PVP/PEI-coated silver nanoparticles to zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 199, 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.03.008>
- Lacave, J. M., Vicario-Parés, U., Bilbao, E., Gilliland, D., Mura, F., Dini, L., Cajaraville, M. P., & Orbea, A. (2018). Waterborne exposure of adult zebrafish to silver nanoparticles and to ionic silver results in differential silver accumulation and effects at cellular and molecular levels. *Science of The Total Environment*, 642, 1209–1220. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.128>
- Lee, J., Yang, J., Kwon, S. G., & Hyeon, T. (2016). Nonclassical nucleation and growth of inorganic nanoparticles. *Nature Reviews Materials*, 1(8), 16034. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.34>
- Lee, Y.-H., Cheng, F.-Y., Chiu, H.-W., Tsai, J.-C., Fang, C.-Y., Chen, C.-W., & Wang, Y.-J. (2014). Cytotoxicity, oxidative stress, apoptosis and the autophagic effects of silver nanoparticles in mouse embryonic fibroblasts. *Biomaterials*, 35(16), 4706–4715. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.02.021>
- Leeson, T. S., Leeson, R. S., & Paparo, A. A. (1990). *Texto/Atlas de Histología* (1st ed.). Interamericana.
- Legay, C., Faudon, M., & Ternaux, J. P. (1983). Amines and choline acetyltransferase in rat intestine. *Neurochemistry International*, 5(3), 275–284. [https://doi.org/10.1016/0197-0186\(83\)90029-3](https://doi.org/10.1016/0197-0186(83)90029-3)
- Lesniak, W. G., Jyoti, A., Mishra, M. K., Louissaint, N., Romero, R., Chugani, D. C., Kannan, S., & Kannan, R. M. (2013). Concurrent quantification of tryptophan and its major metabolites. *Analytical Biochemistry*, 443(2), 222–231.

<https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.09.001>

- Leyva Gómez, G. (2013). Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. *Investigación En Discapacidad*, 2(1), 18–22. [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
- Liu, N., Chen, X., Zhang, J., & Schwank, J. W. (2014). A review on TiO<sub>2</sub>-based nanotubes synthesized via hydrothermal method: Formation mechanism, structure modification, and photocatalytic applications. *Catalysis Today*, 225, 34–51. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2013.10.090>
- Liu, Y., Zhao, Y., Sun, B., & Chen, C. (2013). Understanding the Toxicity of Carbon Nanotubes. *Accounts of Chemical Research*, 46(3), 702–713. <https://doi.org/10.1021/ar300028m>
- Loeschner, K., Hadrup, N., Qvortrup, K., Larsen, A., Gao, X., Vogel, U., Mortensen, A., Lam, H., & Larsen, E. H. (2011). Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Particle and Fibre Toxicology*, 8(1), 18. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-8-18>
- López de la Mora, D. A. (2019). Identificación de posibles riesgos toxicológicos y sus regulaciones sanitarias del uso de nanomateriales en productos de consumo humano en México. *Revista Médica*, 10(3), 221–228. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2018/md182t.pdf>
- Lugo-Huitrón, R., Ugalde Muñiz, P., Pineda, B., Pedraza-Chaverrí, J., Ríos, C., & Pérez-de la Cruz, V. (2013). Quinolinic Acid: An Endogenous Neurotoxin with Multiple Targets. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2013/104024>
- Ma, R., Levard, C., Judy, J. D., Unrine, J. M., Durenkamp, M., Martin, B., Jefferson, B., & Lowry, G. V. (2014). Fate of zinc oxide and silver nanoparticles in a pilot wastewater treatment plant and in processed biosolids. *Environmental Science and Technology*, 48(1), 104–112. <https://doi.org/10.1021/es403646x>
- Mackevica, A., Olsson, M. E., & Hansen, S. F. (2016). Silver nanoparticle release from commercially available plastic food containers into food simulants. *Journal of Nanoparticle Research*, 18(1), 5. <https://doi.org/10.1007/s11051-015-3313-x>

- Mao, X., Nguyen, T. H. D., Lin, M., & Mustapha, A. (2016). Engineered Nanoparticles as Potential Food Contaminants and Their Toxicity to Caco-2 Cells. *Journal of Food Science*, 81(8), T2107–T2113. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13387>
- Marieb, E. N. (2008). *Anatomía y Fisiología Humana*. Pearson Education.
- Martin, J. D., Frost, P. C., Hintelmann, H., Newman, K., Paterson, M. J., Hayhurst, L., Rennie, M. D., Xenopoulos, M. A., Yargeau, V., & Metcalfe, C. D. (2018). Accumulation of Silver in Yellow Perch ( *Perca flavescens* ) and Northern Pike ( *Esox lucius* ) From a Lake Dosed with Nanosilver. *Environmental Science & Technology*, 52(19), 11114–11122. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03146>
- Martin, M., Jimenez, M., & Motilva, V. (2001). New Issues about Nitric Oxide and its Effects on the Gastrointestinal Tract. *Current Pharmaceutical Design*, 7(10), 881–908. <https://doi.org/10.2174/1381612013397645>
- Martini, F. H., Timmons, M. J., & Tallitsch, Ro. B. (2009). Anatomía Humana. In *El Primer Radio. Biomecánica y Otropodología* (6th ed.). Pearson Education.
- Mata, C., Martínez, S., Olivia, M., Leyva, S., Carmen, M., Nieto, G., María, R., Negrete, A., Mata, P. C., Olivia, M., Martínez, S., Sánchez, C., María, R., Nieto, G., & Negrete, S. A. (2010). El óxido nítrico : una molécula biológica llena de contrastes. *Acta Universitaria Universidad de Guanajuato*, 20(3), 24–33.
- Matteucci, F., Giannantonio, R., Calabi, F., Agostiano, A., Gigli, G., & Rossi, M. (2018). Deployment and exploitation of nanotechnology nanomaterials and nanomedicine. *AIP Conference Proceedings*, 1990(July), 020001. <https://doi.org/10.1063/1.5047755>
- Mckee, T., Mckee, J. R., & Hiu, M. (2003). *Bioquímica, La base molecular de la vida* (3rd ed.). McGraw-Hill/ Interamericana de España S.A.U.
- Millour, M., Gagné, J.-P., Doiron, K., Lemarchand, K., & Pelletier, É. (2020). Silver nanoparticles aggregative behavior at low concentrations in aqueous solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 603, 125191. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125191>
- Miner-Williams, W. M., Stevens, B. R., & Moughan, P. J. (2014). Are intact peptides absorbed from the healthy gut in the adult human? *Nutrition Research Reviews*,

- 27(2), 308–329. <https://doi.org/10.1017/S0954422414000225>
- Miranda, K. M., Espey, M. G., & Wink, D. A. (2001). A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Nitric Oxide*, 5(1), 62–71. <https://doi.org/10.1006/niox.2000.0319>
- Monge Oroz, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Anales de La Real Sociedad Española de Química*, 1, 33–41.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2009). *Lehninger. Principios de Bioquímica* (5th ed.). Omega.
- Niot, I., Poirier, H., Tran, T. T. T., & Besnard, P. (2009). Intestinal absorption of long-chain fatty acids: Evidence and uncertainties. *Progress in Lipid Research*, 48(2), 101–115. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2009.01.001>
- Okazaki, T., Ilea, V., Okazaki, A., Reisman, R. E., & Arbesman, C. E. (1975). The effect of Tris-buffered media and Tyrode physiologic saline solution on the antigenic release of histamine from human leukocytes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 56(1), 27–32. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(75\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0091-6749(75)90031-7)
- Oladimeji, P. O., & Chen, T. (2018). PXR: More Than Just a Master Xenobiotic Receptor. *Molecular Pharmacology*, 93(2), 119–127. <https://doi.org/10.1124/mol.117.110155>
- Osborne, O. J., Lin, S., Chang, C. H., Ji, Z., Yu, X., Wang, X., Lin, S., Xia, T., & Nel, A. E. (2015). Organ-Specific and Size-Dependent Ag Nanoparticle Toxicity in Gills and Intestines of Adult Zebrafish. *ACS Nano*, 9(10), 9573–9584. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b04583>
- Palani, G., Trilaksana, H., Sujatha, R. M., Kannan, K., Rajendran, S., Korniejenko, K., Nykiel, M., & Uthayakumar, M. (2023). Silver Nanoparticles for Waste Water Management. *Molecules*, 28(8). <https://doi.org/10.3390/molecules28083520>
- Panea, B., Ripoll, G., González, J., Fernández-Cuello, Á., & Albertí, P. (2014). Effect of nanocomposite packaging containing different proportions of ZnO and Ag on chicken breast meat quality. *Journal of Food Engineering*, 123, 104–112.

- <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.09.029>
- Park, E.-J., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., & Park, K. (2010). Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicology in Vitro*, 24(3), 872–878. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.12.001>
- Patil, S. S., Shedbalkar, U. U., Truskewycz, A., Chopade, B. A., & Ball, A. S. (2016). Nanoparticles for environmental clean-up: A review of potential risks and emerging solutions. *Environmental Technology & Innovation*, 5, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.11.001>
- Pecoraro, R., Marino, F., Salvaggio, A., Capparucci, F., Di Caro, G., Iaria, C., Salvo, A., Rotondo, A., Tibullo, D., Guerriero, G., Scalisi, E. M., Zimbone, M., Impellizzeri, G., & Brundo, M. V. (2017). Evaluation of Chronic Nanosilver Toxicity to Adult Zebrafish. *Frontiers in Physiology*, 8, 1011. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01011>
- Pham, T.-L. (2019). Effect of Silver Nanoparticles on Tropical Freshwater and Marine Microalgae. *Journal of Chemistry*, 2019, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2019/9658386>
- Pindřáková, L., Kašpárková, V., Kejlová, K., Dvořáková, M., Krsek, D., Jírová, D., & Kašparová, L. (2017). Behaviour of silver nanoparticles in simulated saliva and gastrointestinal fluids. *International Journal of Pharmaceutics*, 527(1–2), 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.05.026>
- Poornasareena, T., Sathya, M., Keerthiga, K., & Anishkumar, M. (2023). *Silver Nanoparticles and its Applications*. 8(2), 1014–1018.
- Prashob, P. K. J., & Peter, P. (2017). Multi-Functional Silver Nanoparticles for Drug Delivery: A Review. *Int J Cur Res Rev*, April. <https://www.researchgate.net/publication/317045038>
- Puay, N.-Q., Qiu, G., & Ting, Y.-P. (2015). Effect of Zinc oxide nanoparticles on biological wastewater treatment in a sequencing batch reactor. *Journal of Cleaner Production*, 88, 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.03.081>
- Pulit-Prociak, J., & Banach, M. (2016). Silver nanoparticles – a material of the future...? *Open Chemistry*, 14(1), 76–91. <https://doi.org/10.1515/chem-2016->

0005

- Purohit, R., Mittal, A., Dalela, S., Warudkar, V., Purohit, K., & Purohit, S. (2017). Social, Environmental and Ethical Impacts of Nanotechnology. *Materials Today: Proceedings*, 4(4), 5461–5467. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.05.058>
- Rajkishore, S. K., Subramanian, K. S., Natarajan, N., & Gunasekaran, K. (2013). Nanotoxicity At Various Trophic Levels : a Review. *The Bioscan*, 8(3), 975–982. [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/31979078/Nanotoxicity\\_at\\_various\\_trophic\\_levels-\\_a\\_review-libre.pdf?1391424925=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DNanotoxicity\\_at\\_various\\_trophic\\_levels\\_a.pdf&Expires=1690337339&Signature=NjN8TqOGStbnR](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/31979078/Nanotoxicity_at_various_trophic_levels-_a_review-libre.pdf?1391424925=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DNanotoxicity_at_various_trophic_levels_a.pdf&Expires=1690337339&Signature=NjN8TqOGStbnR)
- Ramírez-Lee, M. A., Rosas-Hernández, H., Salazar-García, S., Gutiérrez-Hernández, J. M., Espinosa-Tanguma, R., González, F. J., Ali, S. F., & González, C. (2014). Silver nanoparticles induce anti-proliferative effects on airway smooth muscle cells. Role of nitric oxide and muscarinic receptor signaling pathway. *Toxicology Letters*, 224(2), 246–256. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.10.027>
- Ramirez-Lee Manuel, A., Martinez-Cuevas, P. P., Rosas-Hernandez, H., Oros-Ovalle, C., Bravo-Sanchez, M., Martinez-Castañon, G. A., & Gonzalez, C. (2017). Evaluation of vascular tone and cardiac contractility in response to silver nanoparticles, using Langendorff rat heart preparation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 13(4), 1507–1518. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.01.017>
- Ramírez, M., Amate, L., & Gil, A. (2001). Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. *Early Human Development*, 65(SUPPL. 2), 95–101. [https://doi.org/10.1016/S0378-3782\(01\)00211-0](https://doi.org/10.1016/S0378-3782(01)00211-0)
- Rane, A. V., Kanny, K., Abitha, V. K., & Thomas, S. (2018). Methods for Synthesis of Nanoparticles and Fabrication of Nanocomposites. In *Synthesis of Inorganic Nanomaterials* (pp. 121–139). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101975-7.00005-1>
- Rathinavel, S., Priyadarshini, K., & Panda, D. (2021). A review on carbon nanotube: An overview of synthesis, properties, functionalization, characterization, and the

- application. *Materials Science and Engineering: B*, 268(March), 115095.  
<https://doi.org/10.1016/j.mseb.2021.115095>
- Rodríguez, F. D. D. C. (2012). Introducción a los nanomateriales. *Lecturas de Ingeniería* 20, 79.  
[http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina\\_ingenieria/mecanica/mat/mat\\_mec/m6/Introduccion a los nanomateriales.pdf](http://olimpia.cuautitlan2.unam.mx/pagina_ingenieria/mecanica/mat/mat_mec/m6/Introduccion%20a%20los%20nanomateriales.pdf)
- Romero-Trujillo, J. O., Frank-Marquez, N., Cervantes-Bustamante, R., Cadena-Leon, J. F., Montijo-Barrios, E., Zarate-Mondragon, F., Cazares-Mendez, J. M., & Ramirez-Mayans, J. (2012). Sistema nervioso entérico y motilidad gastrointestinal. *Acta Pediátrica de México*, 33(4), 207–214.  
<file:///C:/Users/Usuario/Downloads/digestivofarmaco2022.pdf>
- Rosas-Hernández, H., Jiménez-Badillo, S., Martínez-Cuevas, P. P., Gracia-Espino, E., Terrones, H., Terrones, M., Hussain, S. M., Ali, S. F., & González, C. (2009). Effects of 45-nm silver nanoparticles on coronary endothelial cells and isolated rat aortic rings. *Toxicology Letters*, 191(2–3), 305–313.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.09.014>
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2016). *Histología: Texto y Atlas. Correlacion con biología molecular y celular* (7th ed.). Wolters Kluwer.
- Sainio, E.-L. L., Pulkki, K., Young, S. N., Pilkki, K., Young, S. N., Pulkki, K., & Young, S. N. (1996). L-Tryptophan: Biochemical, nutritional and pharmacological aspects. *Amino Acids*, 10(1), 21–47. <https://doi.org/10.1007/BF00806091>
- Sampias, C., & Rolls, G. (2024). *Descripción general de la tinción con H&E: Una guía de mejores prácticas*. <https://www.leicabiosystems.com/es/knowledge-pathway/he-staining-overview-a-guide-to-best-practices/>
- Sánchez Hernández, B. (2003). Mecanismo de acción del óxido nítrico en el organismo y su acción como agente terapéutico. *Revista Mexicana de Enfermería Cardiológica*, 11(2), 72–76.
- Schlich, K., Klawonn, T., Terytze, K., & Hund-Rinke, K. (2013). Hazard assessment of a silver nanoparticle in soil applied via sewage sludge. *Environmental Sciences Europe*, 25(1), 17. <https://doi.org/10.1186/2190-4715-25-17>

- Schwab, F., Zhai, G., Kern, M., Turner, A., Schnoor, J. L., & Wiesner, M. R. (2016). Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants - Critical review. *Nanotoxicology*, *10*(3), 257–278. <https://doi.org/10.3109/17435390.2015.1048326>
- Scotton, W. J., Hill, L. J., Williams, A. C., & Barnes, N. M. (2019). Serotonin Syndrome: Pathophysiology, Clinical Features, Management, and Potential Future Directions. *International Journal of Tryptophan Research*, *12*, 117864691987392. <https://doi.org/10.1177/1178646919873925>
- Shah, V., Lyford, G., Gores, G., & Farrugia, G. (2004). Nitric oxide in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, *126*(3), 903–913. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2003.11.046>
- Shen, W., & Matsui, T. (2019). Intestinal absorption of small peptides: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, *54*(6), 1942–1948. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14048>
- Silk, D. B. A., Grimble, G. K., & Rees, R. G. (1985). Protein digestion and amino acid and peptide absorption. *Proceedings of the Nutrition Society*, *44*(1), 63–72. <https://doi.org/10.1079/pns19850011>
- Sim, W., Barnard, R., Blaskovich, M. A. T., & Ziora, Z. (2018). Antimicrobial Silver in Medicinal and Consumer Applications: A Patent Review of the Past Decade (2007–2017). *Antibiotics*, *7*(4), 93. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040093>
- Singh, N. A. (2017). Nanotechnology innovations, industrial applications and patents. *Environmental Chemistry Letters*, *15*(2), 185–191. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0612-8>
- Singh, S., Kumar, V., Romero, R., Sharma, K., & Singh, J. (2019). Applications of Nanoparticles in Wastewater Treatment. In *Nanotechnology in the Life Sciences* (pp. 395–418). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-17061-5\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-030-17061-5_17)
- Sistema Nacional de Evaluación Nanotoxicológica “SINANOTOX”. Red Temática de Nanociencias y Nanotecnología CONACyT. (2018).
- Snyder, S. H., & Bredt, D. S. (1992). Biological Roles of Nitric Oxide. *Scientific American*, *266*(5), 68–77. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0592-68>

- Soltani, N., Saion, E., Erfani, M., Rezaee, K., & Bahmanrokh, G. (2012). *Influence of the Polyvinyl Pyrrolidone Concentration on Particle Size and Dispersion of ZnS Nanoparticles Synthesized by Microwave Irradiation*. 12412–12427. <https://doi.org/10.3390/ijms131012412>
- Statnano. (2023). Nanotechnology Products Database. <https://product.statnano.com/>
- Stillwell, W. (2013). Membrane Transport. In *An Introduction to Biological Membranes* (Vol. 5, Issue 1, pp. 305–337). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52153-8.00014-3>
- Swami, T., & Weber, H. C. (2018). Updates on the biology of serotonin and tryptophan hydroxylase. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, 25(1), 12–21. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000383>
- Tabatabaei, S. R. F., Moshrefi, M., & Askaripour, M. (2015). Prenatal exposure to silver nanoparticles causes depression like responses in mice. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77(6), 681. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.174983>
- Tan, M., Qiu, G., & Ting, Y.-P. (2015). Effects of ZnO nanoparticles on wastewater treatment and their removal behavior in a membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 185, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.094>
- Tang, T., Zhang, Z., & Zhu, X. (2019). Toxic Effects of TiO<sub>2</sub> NPs on Zebrafish. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(4), 523. <https://doi.org/10.3390/ijerph16040523>
- Thanh, N. T. K., Maclean, N., & Mahiddine, S. (2014). Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution. *Chemical Reviews*, 114(15), 7610–7630. <https://doi.org/10.1021/cr400544s>
- Ticho, A. L., Malhotra, P., Dudeja, P. K., Gill, R. K., & Alrefai, W. A. (2020). Intestinal absorption of bile acids in health and disease. *Comprehensive Physiology*, 10(1), 21–56. <https://doi.org/10.1002/cphy.c190007>
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2011). *Principios de Anatomía y Fisiología* (13th ed.). Editorial Medica Panamericana.
- Trop, M., Novak, M., Rodl, S., Hellbom, B., Kroell, W., & Goessler, W. (2006). Silver-Coated Dressing Acticoat Caused Raised Liver Enzymes and Argyria-like

- Symptoms in Burn Patient. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*, 60(3), 648–652. <https://doi.org/10.1097/01.ta.0000208126.22089.b6>
- Unfried, K., Albrecht, C., Klotz, L. O., Von Mikecz, A., Grether-Beck, S., & Schins, R. P. F. (2007). Cellular responses to nanoparticles: Target structures and mechanisms. *Nanotoxicology*, 1(1), 52–71. <https://doi.org/10.1080/00222930701314932>
- Van Den Berghe, P. V. E., & Klomp, L. W. J. (2009). New developments in the regulation of intestinal copper absorption. *Nutrition Reviews*, 67(11), 658–672. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00250.x>
- Vanini, F., Kashfi, K., & Nath, N. (2015). The dual role of iNOS in cancer. *Redox Biology*, 6, 334–343. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.009>
- Varner, K. (2010). State of the Science Literature Review : Nano Titanium Dioxide. In *U.S. Environmental Protection Agency*.
- Vilaplana, M. (2016). Alimentación y neuronas. In *Farmacia Profesional* (Vol. 30, Issue 6, pp. 17–20).
- Wang, D. Q. H. (2007). Regulation of intestinal cholesterol absorption. *Annual Review of Physiology*, 69, 221–248. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.69.031905.160725>
- Wang, Y., Lee, K., & Irudayaraj, J. (2010). Silver Nanosphere SERS Probes for Sensitive Identification of Pathogens. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(39), 16122–16128. <https://doi.org/10.1021/jp1015406>
- Wright, E. M., Martín, M. G., & Turk, E. (2003). Intestinal absorption in health and disease - Sugars. *Bailliere's Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology*, 17(6), 943–956. [https://doi.org/10.1016/S1521-6918\(03\)00107-0](https://doi.org/10.1016/S1521-6918(03)00107-0)
- Wu, K. J., Tse, E. C. M., Shang, C., & Guo, Z. (2022). Nucleation and growth in solution synthesis of nanostructures – From fundamentals to advanced applications. *Progress in Materials Science*, 123(March), 1–45. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2021.100821>
- Xiang, Q.-Q., Wang, D., Zhang, J.-L., Ding, C.-Z., Luo, X., Tao, J., Ling, J., Shea, D.,

- & Chen, L.-Q. (2020). Effect of silver nanoparticles on gill membranes of common carp: Modification of fatty acid profile, lipid peroxidation and membrane fluidity. *Environmental Pollution*, 256, 113504.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113504>
- Xu, X., Ray, R., Gu, Y., Ploehn, H. J., Gearheart, L., Raker, K., & Scrivens, W. A. (2004). Electrophoretic Analysis and Purification of Fluorescent Single-Walled Carbon Nanotube Fragments. *Journal of the American Chemical Society*, 126(40), 12736–12737. <https://doi.org/10.1021/ja040082h>
- Y. Ghidan, A., & M. Al Antary, T. (2020). Applications of Nanotechnology in Agriculture. In *Applications of Nanobiotechnology: Vol. S* (Issue 2, pp. 1345–1349). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88390>
- Yameen, B., Choi, W. Il, Vilos, C., Swami, A., Shi, J., & Farokhzad, O. C. (2014). Insight into nanoparticle cellular uptake and intracellular targeting. *Journal of Controlled Release*, 190(1), 485–499.  
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.06.038>
- Yazdanparast, T., Sharifpour, I., Soltani, M., & Esfahani, H. K. (2016). Evaluation of Silver Retention in Different Organs of Zebrafish ( Danio Rerio ) Fed Diet Supplemented With Silver Nanoparticles. *International Journal of Engineering Research*, 5(4), 269–274. <https://doi.org/10.17950/ijer/v5s4/410>
- Zanella, R. (2014). Metodologías para la síntesis de nanopartículas controlando forma y tamaño. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencia y Nanotecnología*, 5(1), 69–81.  
<https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2012.1.45167>
- Zavisova, V., Koneracka, M., Gabelova, A., Svitkova, B., Ursinyova, M., Kubovcikova, M., Antal, I., Khmara, I., Jurikova, A., Molcan, M., Ognjanović, M., Antić, B., & Kopcansky, P. (2019). Effect of magnetic nanoparticles coating on cell proliferation and uptake. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 472, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2018.09.116>
- Zhao, C.-M., & Wang, W.-X. (2012). Importance of surface coatings and soluble silver in silver nanoparticles toxicity to *Daphnia magna*. *Nanotoxicology*, 6(4), 361–370.

https://doi.org/10.3109/17435390.2011.579632

## Resumen del reporte de similitud

03-Sep-2024 02:03PM 37403 palabras • 408 coincidencias • 161 fuentes Preguntas

**iThenticate** Efecto de nanopartículas de plata en un modelo ex vivo de FOR JORGE ANTONIO CHAVEZ HERNANDEZ Citas incluidas 15% Bibliografía excluida SIMILAR

**Resumen de Coincidencias**

Rank	Source	Words	Percentage
1	Internet Copiado el 02-Jul-2024 <a href="http://repositorio.institucional.uaesp.mx">repositorio.institucional.uaesp.mx</a>	629	2%
2	Internet Copiado el 11-Jul-2024 <a href="http://www.frontiersin.org">www.frontiersin.org</a>	496	2%
3	Internet Copiado el 11-Jul-2024 <a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a>	445	1%
4	Internet Copiado el 11-Nov-2020 <a href="http://idoc.pub">idoc.pub</a>	151	<1%
5	Internet Copiado el 13-Nov-2020 <a href="http://doku.pub">doku.pub</a>	139	<1%

PÁGINA 1 DE 141 Versión solo texto del

## **Carta de aceptación del artículo**

Dear Dr Chávez-Hernández,

Please read this email in full as it contains important information related to the publication of your article.

I am pleased to inform you that your manuscript "Physiological evaluation of PVP-coated AgNP in rat small intestine. An ex vivo approach" has been approved for production and accepted for publication in *Frontiers in Nanotechnology*, section Biomedical Nanotechnology.

Proofs are being prepared for you to verify before publication. We will also perform final checks to ensure your manuscript meets our criteria for publication

(<https://www.frontiersin.org/about/review-system#ManuscriptQualityStandards>).

The title, abstract and author(s) list you provided during submission is currently online and will be replaced with the final version when your article is published. Please do not communicate any changes until you receive your proofs.

Any questions? Please visit our Production Help Center page for more information: <https://helpcenter.frontiersin.org>

For issues concerning invoices and payments, please contact our Accounting team at [accounting@frontiersin.org](mailto:accounting@frontiersin.org)

You can click here to access the final review reports and manuscript: <https://review.frontiersin.org/review/bootstrap/ad81f4ac-b3dc-480c-ab24-8a594d07e2bc>

As an author, it is important that you keep your Frontiers research network (Loop) profile up to date, so that you and your publications are more discoverable. You can update your profile pages (profile picture, short bio, list of publications) using this link: <https://loop.frontiersin.org/people/>

With best regards,

Frontiers in Nanotechnology Editorial Office  
Editorial Office, Frontiers in Nanotechnology  
<https://www.frontiersin.org/>

← → ↻ 🔍 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnano.2024.1386312/abstract>

**frontiers** About us ▾ All journals All articles [Submit your research](#)

Frontiers in Nanotechnology Sections ▾ Articles Research Topics Editorial Board About journal ▾

ORIGINAL RESEARCH article

Front. Nanotechnol.  
Sec. Biomedical Nanotechnology  
Volume 6 - 2024 | doi: 10.3389/fnano.2024.1386312

This article is part of the Research Topic  
Spotlight on Nanotechnology: Latin America  
[View all 4 Articles >](#)

## Physiological evaluation of PVP-coated AgNP in rat small intestine. An ex vivo approach Provisionally Accepted

Jorge A. Chávez-Hernández<sup>1</sup>  [Beatriz L. España-Sánchez](#)<sup>2</sup> Patricia Aguirre-Bañuelos<sup>1</sup> Aida J. Velarde-Salcedo<sup>1</sup>  
Lucero Granados-López<sup>3</sup> Gabriel Luna-Bárceñas<sup>4</sup>  Carmen Gonzalez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Mexico  
<sup>2</sup> Center of Research and Technologic Development in Electrochemistry, Mexico  
<sup>3</sup> Hospital Joya Momentum, Mexico  
<sup>4</sup> Institute of Advanced Materials for Sustainable Manufacturing, Monterrey Institute of Technology and Higher Education (ITESM), Mexico

 The final, formatted version of the article will be published soon. [Notify me](#) 



Silver nanoparticles (AgNP) are widely used globally due to their numerous properties, mainly because of their antimicrobial activity. However, the need for further regulations and legislation regarding their presence in products has led to concerns about their biosecurity, making relevant biological studies at different levels. The present work aimed to evaluate the effect of the PVP-coated AgNP upon the small intestine muscle tone or continuous partial contraction state, and the mediators involved (nitric oxide and serotonin) in an ex vivo model. Intestinal segments (duodenum, jejunum, and ileum) were treated in the presence and absence of five cumulative increasing concentrations of AgNP (0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/ml) and three individual concentrations of PVP coated-AgNP (0.01, 1 & 100 µg/ml), showing a transient decrement on the contractile effect in the small intestine segments treated with cumulative increasing concentrations. This effect did not allow the isolated small intestine rings to return to their contractile basal level, and it was associated with an increment of nitric oxide (NO) production and variations in the amount of serotonin. Similar effect was observed at individual AgNP administrations but with a lesser influence on NO production. These results show that AgNP, in the function of the administration (cumulative or individual) and the segment type, can modify the muscle tone of the small intestine mediated in part by NO and exerting a differential pattern in the amount of serotonin. Histological analysis revealed specific morphological alterations induced by AgNP, like necrosis and villi detachment, were more evident in the ileum segment. Furthermore, the accumulation of silver was observed in the small intestine villi, which could determine the physiological effects exerted upon the muscle tone associated with the release of specific mediators like NO production and the presence of serotonin. These findings suggest that the small intestine is an essential target of the actions induced by AgNP, which could be ingested and reach this conduit because of the consumption of products containing these materials, modifying the intestinal motility that influences the efficiency in nutrient absorption, aspects that need to be explored and investigate in the short, medium, and long term.

**Keywords:** silver nanoparticles, Nitric Oxide, Serotonin, motility, nanomaterial, PVP

**Received:** 15 Feb 2024; **Accepted:** 13 May 2024.

**Copyright:** © 2024 Chávez-Hernández, España-Sánchez, Aguirre-Bañuelos, Velarde-Salcedo, Granados-López, Luna-Bárceñas and Gonzalez. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

\* **Correspondence:** Dr. Carmen Gonzalez, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, San Luis Potosí, Mexico

**Disclaimer:** All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article or claim that may be made by its manufacturer is not guaranteed or endorsed by the publisher.