



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS**

**DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA Y FISIOLÓGIA/QUÍMICA**

**TESIS**

**“EFECTO DE ANTIOXIDANTES EN LA NEFROTOXICIDAD AGUDA POR  
NANOPARTÍCULAS EN RATAS MACHO ADULTAS”**

**PRESENTA:**

**Carlos Enrique Escárcega González**

**PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**COMITÉ TUTORAL:**

**Cotutor: Dr. Francisco Aníbal Posadas del Río**

**Cotutor: Dra. Haydée Martínez Ruvalcaba**

**Asesor externo: Dr. Bruno Alfonso Escalante Acosta**

**Aguascalientes, Ags., 21 de octubre del 2015**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

CARLOS ENRIQUE ESCARCEGA GONZALEZ  
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
P R E S E N T E.

Estimado alumno:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: "Efecto de antioxidantes en la nefrotoxicidad aguda por nanoparticulas en las ratas macho adultas", hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

**ATENTAMENTE**

Aguascalientes, Ags., 26 de noviembre de 2015

*"Se lumen proferre"*

**EL DECANO**

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES  
FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUÍZ GALLEGOS  
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS

PRESENTE

Por medio del presente como cotutores designados del estudiante CARLOS ENRIQUE ESCÁRCEGA GONZÁLEZ con ID 23590 quien realizó la tesis titulada: "EFECTO DE ANTIOXIDANTES EN LA NEFROTOXICIDAD AGUDA POR NANOPARTÍCULAS EN RATAS MACHO ADULTAS" y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que él pueda proceder a imprimirla y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

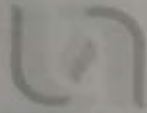
ATE NTAMENTE  
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 13 de octubre de 2015

Dr. Francisco Aníbal Posadas del Río  
Cotutor de tesis

Dra. Haydee Martínez Ruvalcaba  
Cotutor de tesis

c.c.p. - Interesado  
c.c.p. - Secretaría de Investigación y Posgrado  
c.c.p. - Jefatura del Depto. de \_\_\_\_\_  
c.c.p. - Consejero Académico  
c.c.p. - Secretario Técnico



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES  
FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS  
DECANO(A) DEL CENTRO DE CIENCIAS

PRESENTE

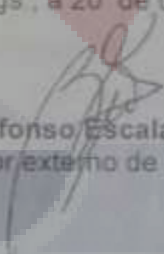
Por medio del presente como asesor externo designado del estudiante CARLOS ENRIQUE ESCARCEGA GONZÁLEZ con ID 23590 quien realizó la tesis titulada: "EFECTO DE ANTIOXIDANTES EN LA NEFROTOXICIDAD AGUDA POR NANOPARTÍCULAS EN RATAS MACHO ADULTAS" y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el VOTO APROBATORIO, para que él pueda proceder a imprimirla y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

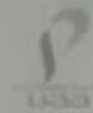
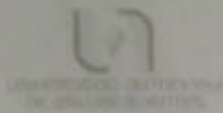
ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 20 de octubre de 2015

  
Dr. Bruno Alfonso Escalante Acosta  
Asesor externo de tesis

c.c.p. - Interesado  
c.c.p. - Secretaria de Investigación y Posgrado  
c.c.p. - Jefatura del Depto. de \_\_\_\_\_  
c.c.p. - Consejero Académico  
c.c.p. - Secretario Técnico



DICTAMEN DE REVISIÓN DE LA TESIS / TRABAJO PRÁCTICO

DATOS DEL ESTUDIANTE	
NOMBRE: CARLOS ENRIQUE ESCARCEGA GONZÁLEZ	ID (No. de Registro): 23590
PROGRAMA: DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS	ÁREA: TOXICOLOGÍA Y FISIOLÓGIA
TUTOR/TUTORES: COTUTOR: DR. FRANCISCO ANÍBAL POSADAS DEL RÍO COTUTOR: DRA. HAYDÉE MARTÍNEZ RIVALCABA ASESOR EXTERNO: DR. BRUNO ALFONSO ESCALANTE ACOSTA	
TESIS ( X )	TRABAJO PRÁCTICO ( )
OBJETIVO: ANALIZAR EL EFECTO PROTECTOR DE ANTIOXIDANTES EN LA TOXICIDAD RENAL GENERADA POR NPS DE TIO <sub>2</sub> EN RATAS WISTAR MACHOS.	
DICTAMEN	
CUMPLE CON CRÉDITOS ACADÉMICOS:	( X )
CONGRUENCIAS CON LAS LGAC DEL PROGRAMA:	( X )
CONGRUENCIA CON LOS CUERPOS ACADÉMICOS:	( X )
CUMPLE CON LAS NORMAS OPERATIVAS:	( X )
COINCIDENCIA DEL OBJETIVO CON EL REGISTRO:	( X )

Aguascalientes, Ags. a 11 de diciembre de 2015

FIRMAS

*Rosa María Chávez Morales*  
DRA. ROSA MARÍA CHÁVEZ MORALES  
CONSEJERO ACADÉMICO DEL ÁREA

*Consolación Martínez Saldaña*  
DRA MA. CONSOLACIÓN MARTÍNEZ SALDAÑA  
SECRETARIO TECNICO DEL POSGRADO

*Juan Carlos Regui Rincón*  
DR. JUAN CARLOS REGUI RINCÓN  
SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN  
Y POSGRADO

Código: FO-040200-23  
Revisión: 00  
Emisión: 21/02/11

## AGRADECIMIENTOS

Para comenzar, quiero agradecer la realización de mi Doctorado en Ciencias Biológicas a DIOS nuestro Señor, a la Santísima Virgen María, Santos y Ángeles, por haberme permitido el tener la vitalidad y la salud necesaria para poder cumplir con la meta de obtener el grado de doctor que acabo de mencionar.

Ahora bien, en mención a las personas físicas que han sido parte importante en este proyecto quiero agradecer principalmente al Dr. Francisco Aníbal Posadas del Río quien me ha apoyado día con día y ha estado al pendiente de todas mis dudas y necesidades durante estos últimos 3 años. En este sentido quiero agradecer a la Dra. Haydée Martínez Ruvalcaba, Al Dr. Fernando Jaramillo Juárez, La Dra. María Consolación Martínez Saldaña, la L.C. O. Magdalena Plancarte Hernández y al Dr. Bruno Alfonso Escalante Acosta por haber estado al pendiente de mis necesidades durante el doctorado, así como a los técnicos de laboratorio que siempre han mostrado su disposición y actitud de servicio.

También quiero profundamente agradecer a mi familia, es decir, a mi padre el M.S.O. Carlos Enrique Escárcega Rangel y mi madre Ma. Guadalupe González Jiménez que siempre han estado a mi lado apoyándome en todo momento para seguir en el camino del bien y la superación personal en todos los aspectos. Por supuesto también agradezco a mis hermanos Carolina, Ana Lorena y Ricardo Escárcega González por estar siempre a mi lado y brindarme su apoyo incondicional, y además a a mi futura esposa, la Srita. Adriana Marisol Romo Romo quien ha estado a mi lado apoyándome en toda situación hasta ahora y en todo momento.

Por último, quiero hacer mención de mis agradecimientos a la U.A.A, sus demás profesores y administrativos quienes siempre me ha brindado lo necesario para mi preparación, por supuesto al CONACYT por haberme apoyando con la beca que sin ella no hubiera podido ser posible este proyecto, a mis compañeros, y amigos especialmente los de la Tuna de la U.A.A. y amigos extranjeros quienes me han sido parte de mi vida durante estos 3 últimos años.

GRACIAS A TODOS”

## INDICE GENERAL

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>14</b>
<b>II.</b>	<b>ANTECEDENTES</b>	<b>21</b>
<b>II.1</b>	<b>Los riñones y su anatomía funcional</b>	<b>21</b>
<b>II.2</b>	<b>Los antioxidantes como agentes benéficos para las células</b>	<b>30</b>
<b>II.3</b>	<b>Las Nanopartículas como tratamiento para el cáncer y su toxicidad</b>	<b>36</b>
<b>III.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>42</b>
<b>IV.</b>	<b>HIPOTESIS DE TRABAJO</b>	<b>45</b>
<b>V.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>46</b>
<b>V.1</b>	<b>General</b>	<b>46</b>
<b>V.2</b>	<b>Particulares</b>	<b>46</b>
<b>VI.</b>	<b>METODOLOGÍA</b>	<b>47</b>
<b>VI.1</b>	<b>Diseño experimental</b>	<b>47</b>
<b>VI.2</b>	<b>Procedencia de las NPs de TiO<sub>2</sub> y antioxidantes utilizados en el presente estudio</b>	<b>50</b>
<b>VII.</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>51</b>
<b>VII.1</b>	<b>Resultados de parámetros control vs tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub></b>	<b>51</b>
<b>VII.2</b>	<b>Resultados de parámetros control vs el tratamiento con extracto estandarizado de ginko biloba</b>	<b>65</b>
<b>VII.3</b>	<b>Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> vs el tratamiento con extracto estandarizado de Ginko biloba (Gb)</b>	<b>79</b>
<b>VII.4</b>	<b>Resultados de parámetros control vs el tratamiento con el preparado estadarizado de Vitamina E</b>	<b>93</b>
<b>VII.5</b>	<b>Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Vitamina E (Vit. E)</b>	<b>107</b>
<b>VII.6</b>	<b>Resultados de parámetros control vs el tratamiento con el preparado estadarizado de Ácidos Grasos ω (AG ω)</b>	<b>121</b>

VII.7	Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de TiO <sub>2</sub> vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Ácidos Grasos ω (AG ω)	135
VIII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	149
VIII.1	Nefrotoxicidad aguda de NPs de TiO <sub>2</sub>	149
VIII.2	Efectos protectores del Gb contra los efectos producidos por NPs de TiO <sub>2</sub>	153
VIII.3	Efectos protectores de la Vit. E contra los efectos producidos por NPs de TiO <sub>2</sub>	155
VIII.4	Efectos protectores de los ácidos grasos ω-3 contra los efectos producidos por NPs de TiO <sub>2</sub>	158
VIII.5	Comparación entre los antioxidantes utilizados en presente estudio	162
IX.	CONCLUSIONES	165
IX.1	Nefrotoxicidad aguda de NPs de TiO <sub>2</sub>	165
IX.2	El EGb como agente protector contra la toxicidad de NPs de TiO <sub>2</sub>	165
IX.3	La vitamina E como agente protector contra la toxicidad de NPs de TiO <sub>2</sub>	166
IX.4	Los ácidos grasos ω-3 como agente protector contra la toxicidad de NPs de TiO <sub>2</sub>	167
IX.5	Conclusión final	167
X.	GLOSARIO	168
XI.	REFERENCIAS	182

**ANEXOS**

- ANEXO A. imagen sobre la interacción de NPs de TiO<sub>2</sub> y membranas
- ANEXO B. Imagen sobre la interacción GbE y NPs TiO<sub>2</sub> en membranas
- ANEXO C. Imagen sobre la interacción Vit.E y NPs de TiO<sub>2</sub> en membranas
- ANEXO D. Imagen sobre la interacción AG ω-3 y NPs de TiO<sub>2</sub> en membranas
- ANEXO E. Carta de aceptación y artículo científico publicado



## INDICE DE TABLAS

### II. ANTECEDENTES

- Tabla II.1-1 Tasas de Filtración, Reabsorción y Excreción de diferentes sustancias por los Riñones. 27
- Tabla II.1-2 Ejemplos de sustancias nefrotóxicas (SNC = sistema nervioso central, CHCl<sub>3</sub> = cloroformo, CCl<sub>4</sub> = tetracloruro de carbono). 28

### VI. METODOLOGÍA

- Tabla VI.1-1 Procedimiento del tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> 46
- Tabla VI.1-2 Procedimiento del tratamiento con los antioxidantes 47
- Tabla VI.1-3 Parámetros evaluados durante la experimentación 48

### VII. RESULTADOS (tablas)

#### VII.1 Resultados de parámetros control vs tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub>

- Tabla VII.1-1 En el consumo de agua 50
- Tabla VII.1-2 En el consumo de alimento 52
- Tabla VII.1-3 En el peso corporal 53
- Tabla VII.1-4 En el volumen urinario 54
- Tabla V II.1-5 En el pH urinario 55
- Tabla VII.1-6 En los valores de creatinina urinaria 56
- Tabla VII.1-7 En la concentración urinaria de sodio 57
- Tabla VII.1-8 En la concentración urinaria de glucosa 58
- Tabla VII.1-9 En la osmolaridad urinaria 59
- Tabla VII.1-10 En la concentración urinaria de proteínas 60
- Tabla VII.1-11 Sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP 61
- Tabla VII.1-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV 62
- Tabla VII.1-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA 63

**VII.2 Resultados de parámetros control vs el tratamiento con extracto estandarizado de Gb**

- Tabla VII.2-1 En el consumo de agua 64
- Tabla VII.2-2 En el consumo de alimento 66
- Tabla VII.2-3 En el peso corporal 67
- Tabla VII.2-4 En el volumen urinario 68
- Tabla VII.2-5 En el pH urinario 69
- Tabla VII.2-6 En los valores de creatinina urinaria 70
- Tabla VII.2-7 En la concentración urinaria de sodio 71
- Tabla VII.2-8 En la concentración urinaria de glucosa 72
- Tabla VII.2-9 En la osmolaridad urinaria 73
- Tabla VII.2-10 En la concentración urinaria de proteínas 74
- Tabla VII.2-11 Sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP 75
- Tabla VII.2-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV 76
- Tabla VII.2-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA 77

**VII.3 Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de  $TiO_2$  vs el tratamiento con extracto estandarizado de Gb**

- Tabla VII.3-1 En el consumo de agua 78
- Tabla VII.3-2 En el consumo de alimento 80
- Tabla VII.3-3 En el peso corporal 81
- Tabla VII.3-4 En el volumen urinario 82
- Tabla VII.3-5 En el pH urinario 83
- Tabla VII.3-6 En los valores de creatinina urinaria 84
- Tabla VII.3-7 En la concentración urinaria de sodio 85
- Tabla VII.3-8 En la concentración urinaria de glucosa 86
- Tabla VII.3-9 En la osmolaridad urinaria 87
- Tabla VII.3-10 En la concentración urinaria de proteínas 88
- Tabla VII.3-11 Sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP 89
- Tabla VII.3-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV 90
- Tabla VII.3-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA 91

**VII.4 Resultados de parámetros control vs el tratamiento con el preparado estandarizado de vitamina E**

• Tabla VII.4-1 En el consumo de agua	92
• Tabla VII.4-2 En el consumo de alimento	94
• Tabla VII.4-3 En el peso corporal	95
• Tabla VII.4-4 En el volumen urinario	96
• Tabla VII.4-5 En el pH urinario	97
• Tabla VII.4-6 En los valores de creatinina urinaria	98
• Tabla VII.4-7 En la concentración urinaria de sodio	99
• Tabla VII.4-8 En la concentración urinaria de glucosa	100
• Tabla VII.4-9 En la osmolaridad urinaria	101
• Tabla VII.4-10 En la concentración urinaria de proteínas	102
• Tabla VII.4-11 Sobre la actividad específica urinaria de $\gamma$ -GTP	103
• Tabla VII.4-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV	104
• Tabla VII.4-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA	105

**VII.5 Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de  $TiO_2$  vs el tratamiento con el preparado estandarizado de vitamina E**

• Tabla VII.5-1 En el consumo de agua	106
• Tabla VII.5-2 En el consumo de alimento	108
• Tabla VII.5-3 En el peso corporal	109
• Tabla VII.5-4 En el volumen urinario	110
• Tabla VII.5-5 En el pH urinario	111
• Tabla VII.5-6 En los valores de creatinina urinaria	112
• Tabla VII.5-7 En la concentración urinaria de sodio	113
• Tabla VII.5-8 En la concentración urinaria de glucosa	114
• Tabla VII.5-9 En la osmolaridad urinaria	115
• Tabla VII.5-10 En la concentración urinaria de proteínas	116
• Tabla VII.5-11 Sobre la actividad específica urinaria de $\gamma$ -GTP	117
• Tabla VII.5-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV	118
• Tabla VII.5-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA	119

**VII.6 Resultados de parámetros control vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Ácidos Grasos  $\omega$ -3**

- Tabla VII.6-1 En el consumo de agua 120
- Tabla VII.6-2 En el consumo de alimento 122
- Tabla VII.6-3 En el peso corporal 123
- Tabla VII.6-4 En el volumen urinario 124
- Tabla VII.6-5 En el pH urinario 125
- Tabla VII.6-6 En los valores de creatinina urinaria 126
- Tabla VII.6-7 En la concentración urinaria de sodio 127
- Tabla VII.6-8 En la concentración urinaria de glucosa 128
- Tabla VII.6-9 En la osmolaridad urinaria 129
- Tabla VII.6-10 En la concentración urinaria de proteínas 130
- Tabla VII.6-11 Sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP 131
- Tabla VII.6-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV 132
- Tabla VII.6-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA 133

**VII.7 Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de  $\text{TiO}_2$  vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Ácidos Grasos  $\omega$ -3**

- Tabla VII.7-1 En el consumo de agua 134
- Tabla VII.7-2 En el consumo de alimento 136
- Tabla VII.7-3 En el peso corporal 137
- Tabla VII.7-4 En el volumen urinario 138
- Tabla VII.7-5 En el pH urinario 139
- Tabla VII.7-6 En los valores de creatinina urinaria 140
- Tabla VII.7-7 En la concentración urinaria de sodio 141
- Tabla VII.7-8 En la concentración urinaria de glucosa 142
- Tabla VII.7-9 En la osmolaridad urinaria 143
- Tabla VII.7-10 En la concentración urinaria de proteínas 144
- Tabla VII.7-11 Sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP 145
- Tabla VII.7-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV 146
- Tabla VII.7-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA 147

## INDICE DE FIGURAS

### II. ANTECEDENTES

#### II.1 Los riñones y su anatomía funcional

- Figura II.1-1 Esquema del riñón humano que muestra los principales vasos sanguíneos, así como la microcirculación y componentes tubulares de la nefrona. 21
- Figura II.1-2 Esquema de la estructura de los capilares glomerulares. B: sección transversal de la membrana de un capilar glomerular mostrando el endotelio capilar, la membrana basal y los podocitos del epitelio. 23
- Figura II.1-3 Diagrama de una nefrona yuxtglomerular. Se muestran también las principales características histológicas de las células que constituyen cada porción del túbulo. 26

#### II.2 Los antioxidantes como agentes benéficos para las células

- Figura II.2-1 Estructura de algunos flavonoides 31
- Figura II.2-2 Estructura de la quercetina 32
- Figura II.2-3 Estructura de tocoferoles y tocotrienoles 33
- Figura II.2-4 Estructura del  $\alpha$ -tocoferol 34
- Figura II.2-5 Ejemplos de ácidos grasos  $\omega$ -3 35

#### II.3 Las Nanopartículas como tratamiento para el cáncer y su toxicidad

- Figura II.3-1 Imagen de las nanopartículas utilizada en el presente estudio 37

### VII. RESULTADOS (Figuras)

#### VII.1 Resultados de parámetros control vs tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub>

- Figura VII.1-1 En el consumo de agua 51
- Figura VII.1-2 En el consumo de alimento 52
- Figura VII.1-3 En el peso corporal 53
- Figura VII.1-4 En el volumen urinario 54

•	Figura V II.1-5 En el pH urinario	55
•	Figura VII.1-6 En los valores de creatinina urinaria	56
•	Figura VII.1-7 En la concentración urinaria de sodio	57
•	Figura VII.1-8 En la concentración urinaria de glucosa	58
•	Figura VII.1-9 En la osmolaridad urinaria	59
•	Figura VII.1-10 En la concentración urinaria de proteínas	60
•	Figura VII.1-11 Sobre la actividad específica urinaria de $\gamma$ -GTP	61
•	Figura VII.1-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV	62
•	Figura VII.1-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA	63
<b>VII.2</b>	<b>Resultados de parámetros control vs el tratamiento con extracto estandarizado de Gb</b>	
•	Figura VII.2-1 En el consumo de agua	65
•	Figura VII.2-2 En el consumo de alimento	66
•	Figura VII.2-3 En el peso corporal	67
•	Figura VII.2-4 En el volumen urinario	68
•	Figura V II.2-5 En el pH urinario	69
•	Figura VII.2-6 En los valores de creatinina urinaria	70
•	Figura VII.2-7 En la concentración urinaria de sodio	71
•	Figura VII.2-8 En la concentración urinaria de glucosa	72
•	Figura VII.2-9 En la osmolaridad urinaria	73
•	Figura VII.2-10 En la concentración urinaria de proteínas	74
•	Figura VII.2-11 Sobre la actividad específica urinaria de $\gamma$ -GTP	75
•	Figura VII.2-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV	76
•	Figura VII.2-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA	77
<b>VII.3</b>	<b>Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> vs el tratamiento con extracto estandarizado de Gb</b>	
•	Figura VII.3-1 En el consumo de agua	79
•	Figura VII.3-2 En el consumo de alimento	80
•	Figura VII.3-3 En el peso corporal	81
•	Figura VII.3-4 En el volumen urinario	82
•	Figura V II.3-5 En el pH urinario	83

•	Figura VII.3-6 En los valores de creatinina urinaria	84
•	Figura VII.3-7 En la concentración urinaria de sodio	85
•	Figura VII.3-8 En la concentración urinaria de glucosa	86
•	Figura VII.3-9 En la osmolaridad urinaria	87
•	Figura VII.3-10 En la concentración urinaria de proteínas	88
•	Figura VII.3-11 Sobre la actividad específica urinaria de $\gamma$ -GTP	69
•	Figura VII.3-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV	90
•	Figura VII.3-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA	91
<b>VII.4</b>	<b>Resultados de parámetros control vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Vitamina E</b>	
•	Figura VII.4-1 En el consumo de agua	93
•	Figura VII.4-2 En el consumo de alimento	94
•	Figura VII.4-3 En el peso corporal	95
•	Figura VII.4-4 En el volumen urinario	96
•	Figura VII.4-5 En el pH urinario	97
•	Figura VII.4-6 En los valores de creatinina urinaria	98
•	Figura VII.4-7 En la concentración urinaria de sodio	99
•	Figura VII.4-8 En la concentración urinaria de glucosa	100
•	Figura VII.4-9 En la osmolaridad urinaria	101
•	Figura VII.4-10 En la concentración urinaria de proteínas	102
•	Figura VII.4-11 Sobre la actividad específica urinaria de $\gamma$ -GTP	103
•	Figura VII.4-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV	104
•	Figura VII.4-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA	105
<b>VII.5</b>	<b>Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de <math>\text{TiO}_2</math> vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Vitamina E</b>	
•	Figura VII.5-1 En el consumo de agua	107
•	Figura VII.5-2 En el consumo de alimento	108
•	Figura VII.5-3 En el peso corporal	109
•	Figura VII.5-4 En el volumen urinario	110
•	Figura VII.5-5 En el pH urinario	111
•	Figura VII.5-6 En los valores de creatinina urinaria	112
•	Figura VII.5-7 En la concentración urinaria de sodio	113

• Figura VII.5-8 En la concentración urinaria de glucosa	114
• Figura VII.5-9 En la osmolaridad urinaria	115
• Figura VII.5-10 En la concentración urinaria de proteínas	116
• Figura VII.5-11 Sobre la actividad específica urinaria de $\gamma$ -GTP	117
• Figura VII.5-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV	118
• Figura VII.5-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA	119

**VII.6 Resultados de parámetros control vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Ácidos Grasos  $\omega$ -3**

• Figura VII.6-1 En el consumo de agua	121
• Figura VII.6-2 En el consumo de alimento	122
• Figura VII.6-3 En el peso corporal	123
• Figura VII.6-4 En el volumen urinario	124
• Figura V II.6-5 En el pH urinario	125
• Figura VII.6-6 En los valores de creatinina urinaria	126
• Figura VII.6-7 En la concentración urinaria de sodio	127
• Figura VII.6-8 En la concentración urinaria de glucosa	128
• Figura VII.6-9 En la osmolaridad urinaria	129
• Figura VII.6-10 En la concentración urinaria de proteínas	130
• Figura VII.6-11 Sobre la actividad específica urinaria de $\gamma$ -GTP	131
• Figura VII.6-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV	132
• Figura VII.6-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA	133

**VII.7 Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de  $\text{TiO}_2$  vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Ácidos Grasos  $\omega$ -3**

• Figura VII.7-1 En el consumo de agua	135
• Figura VII.7-2 En el consumo de alimento	136
• Figura VII.7-3 En el peso corporal	137
• Figura VII.7-4 En el volumen urinario	138
• Figura V II.7-5 En el pH urinario	139
• Figura VII.7-6 En los valores de creatinina urinaria	140
• Figura VII.7-7 En la concentración urinaria de sodio	141
• Figura VII.7-8 En la concentración urinaria de glucosa	142
• Figura VII.7-9 En la osmolaridad urinaria	143



- Figura VII.7-10 En la concentración urinaria de proteínas 144
- Figura VII.7-11 Sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP 145
- Figura VII.7-12 Sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV 146
- Figura VII.7-13 Sobre la actividad específica urinaria de APA 147



## RESUMEN

Muchos organismos vivos como los seres humanos están expuestos a nanomateriales como las NPs de  $\text{TiO}_2$  que pueden encontrarse en alimentos, productos de consumo, fármacos, entre otros. Al respecto, los riñones son 2 órganos fundamentales en el mantenimiento de la homeostasis corporal, por lo que es importante evaluar los efectos producidos por diversos xenobióticos como las nanopartículas mencionadas. También, por su parte, los antioxidantes son sustancias capaces de proteger las células ante las acciones adversas de distintos agentes tóxicos. Por lo tanto, en el presente estudio se evaluaron los efectos protectores de los antioxidantes extracto de Gink biloba, vitamina E y ácidos grasos  $\omega$ -3, contra los efectos adversos renales producidos por NPs de  $\text{TiO}_2$ .

En relación con lo anterior, los efectos renales de una dosis única intravenosa (5mg/kg) de dióxido de titanio en ratas Wistar macho adultas fueron obtenidos analizando muestras de orina de 0-5 h, 5-24 h, 24-48 h y 48-72 h, dando efectos tempranos significativos ( $p < 0.05$ ): a) Incremento de la actividad enzimática de  $\gamma$ -glutamiltanspeptidasa y dipeptidilaminopeptidasa en todos los tiempos evaluados. b) incremento de la concentración urinaria de sodio en todos los tiempos evaluados. c) Incremento en la concentración de glucosa y osmolaridad urinaria a las 5-24 h, 24-48 h y 48-72 h. Estos efectos mencionados, fueron revertidos a valores controles por los 3 antioxidantes utilizando una dosis intraperitoneal (10m/Kg) en cada uno de ellos, administrándola de manera profiláctica (1 día anterior). Lo anterior comprueba la protección de las membranas tubulares renales por los antioxidantes posiblemente por un efecto mecánico y por la neutralización de radicales libres que pueden generarse en el proceso.

Por lo tanto, el consumir de manera adecuada antioxidantes como los utilizados en este estudio, puede ser de ayuda en el organismo para proteger órganos como los riñones ante la exposición a diversos xenobióticos.

## ABSTRACT

Most living organisms including human beings are exposed to nanomaterials like TiO<sub>2</sub> nanoparticles that can be found in food, consume products, drugs, etc. In this context, the kidneys are 2 very important organs in the maintaining body homeostasis. Therefore, it is important to evaluate the effects produced by various xenobiotics as mentioned nanoparticles. Also, meanwhile, the antioxidants are substances capable to protect the cells against the adverse actions of different toxic agents. Thus, in this study we evaluate the protective effects of Ginko biloba extract, vitamin E and fatty acid  $\omega$ -3 antioxidants, against the adverse effects produce by TiO<sub>2</sub> nanoparticles.

Related with the above, the renal effects of a single and intravenous dose (5 mg/kg) of titanium dioxide nanoparticles to male adult Wistar rats were obtained analyzing urine samples at 0-5 h, 5-24 h, 24-48 h and 48-72 h, giving as the earliest and significant ( $p < 0.05$ ) effects: a) increase of the enzymatic activity of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase, and dipeptidylaminopeptidase at all times tested b) increase the concentration of urinary sodium at all times tested c) Increase the concentration of urinary glucose and the urine osmolarity at 5-24 h, 24-48 h, and 48-72 h. Those mencioned effects, were reverse to control values by the 3 antioxidants used a single dose and intraperitoneal dose (10mg/kg) in each of them, by administering prophylactically (1 day before the administration of nanoparticles). This shows the protection of renal tubular membranes by the antioxidants possibly due to a mechanical effect and neutralizing free radicals that can be generated in the process.

Thus, consuming appropriately antioxidant as them we used in this study may help in the body to protect organs such as kidneys when exposed to various xenobiotics.

## I. INTRODUCCIÓN

Durante el transcurso del tiempo, la vida del hombre ha sido afectada por diversos tipos de enfermedades que son problema mundial, ya que se encuentran en prácticamente todo el planeta, afectan a un gran número de personas y son causa de un alto índice de mortalidad en nuestros días. En relación con lo anterior, algunas de ellas han ido desapareciendo, otras han permanecido e incluso algunas han surgido como consecuencia de diversos factores entre los que se encuentra el estilo de vida que el hombre viene llevando hoy en día.

Debido a lo anterior, muchos diferentes tipos de tratamientos han sido diseñados para enfrentar los diversos padecimientos y enfermedades que aquejan con mayor frecuencia al hombre e incluso otras especies de seres vivos. Dentro de estas enfermedades se encuentra el Cáncer, y debido a los efectos que produce este padecimiento, se han estado realizando grandes investigaciones sobre la obtención de tratamientos y medios curativos para personas con esta enfermedad.

Sin embargo, todos estos tratamientos en su mayoría son de origen sintético totalmente extraño con el organismo, por lo que la toxicidad referente a estos tipos de tratamientos ha sido poco estudiada y por lo tanto no se tienen información suficiente que permita el llevar a cabo el uso despreocupado de estos tratamientos en lo pacientes. En este sentido, actualmente se ha estado aplicando la nanotecnología para el diseño de nuevos tratamientos más eficaces, más costeables y que cuenten con menor nivel de efectos secundarios posibles.

En relación con lo anterior, la nanotecnología es una rama de la ciencia de aparición reciente que estudia distintos materiales a escala nanométrica (un nanómetro es una unidad de medida equivalente a  $1 \times 10^{-9} \text{m}$ ). Es decir, participa en el diseño, producción y uso de estructuras químicas con dimensiones extremadamente pequeñas. Los conocimientos actuales sobre la nanotecnología provienen de avances en los campos de la química, física, ciencias de la vida, medicina e ingeniería (<http://www.axxon.com.ar/rev/110/c>).

En este contexto, las nanopartículas (NPs) o nanomateriales, son una nueva clase de materiales (sean cerámicos, metales, semiconductores, polímeros, o bien, una combinación de éstos), en donde por lo menos una de sus dimensiones se encuentra entre 1 y 100nm. Debido a este pequeño tamaño en los nanomateriales se modifican sus propiedades que finalmente difieren del mismo material con dimensiones de sólido volumétrico, de las moléculas y los átomos (<http://www.inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/39%20NANOPARTICULAS.pdf>).

Las nanopartículas específicamente, han existido en el planeta por siglos, algunos ejemplos son las partículas de humo y las nanopartículas dentro de bacterias. Más adelante, en algunas civilizaciones antiguas ya se utilizaban aprovechando sus propiedades ópticas y medicinales. En este sentido, es preciso señalar que las nanopartículas metálicas en particular, poseen propiedades interesantes con aplicaciones en diversas áreas tecnológicas.

Existen diversas áreas en las que la nanotecnología está en proceso de desarrollo o en fase de aplicación práctica: 1) en biología y medicina, los nanomateriales se emplean en la mejora del diseño de fármacos y en el desarrollo de nuevos instrumentos y equipos analíticos; 2) en el estudio de los materiales, las nanopartículas permiten la fabricación de productos con propiedades mecánicas nuevas, de mayor resistencia al desgaste y de mejoras en la superficie de rozamiento y de adherencia; 3) en el campo de la ingeniería en electrónica, las nanotecnologías tienen diversas aplicaciones, entre ellas, el diseño y construcción de dispositivos de almacenamiento de datos de menor tamaño, más rápidos y con menor consumo de energía; 4) algunos productos de consumo como los cosméticos, protectores solares, fibras, textiles y pinturas ya incorporan nanopartículas; 5) finalmente, instrumentos ópticos como los microscopios también se han beneficiado de los avances de la nanotecnología (<http://www.campus-oei.org/revistactsi/numero6/articulo04.htm#3a>).

Con relación a la medicina, la nanotecnología ofrece aplicaciones en diversos campos. La base de estas aplicaciones radica en utilizar nanopartículas que funcionan como vectores para introducir en el organismo fármacos, agentes de contraste u otras sustancias. Esto permite dirigir de manera efectiva y específica al fármaco administrado a

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

un órgano o tejido específico del paciente. En apariencia esto no es nuevo ya que, desde hace años, muchos fármacos puede ser transportados en vectores para alcanzar una determinada parte del organismo, en la que ejercen su acción. Sin embargo, la nanotecnología ofrece herramientas para trabajar, como ya se señaló, a una escala extremadamente pequeña. Esto ha permitido que diversas sustancias crucen el endotelio vascular, difundan en el organismo y se introduzcan en las células, alcanzando sus orgánulos con facilidad. En este contexto, además de los avances que se pueden alcanzar en el diagnóstico de enfermedades (*in vivo* o *in vitro*) es posible que la rama de la nanotecnología con más futuro sea la terapéutica (enfermedades infecciosas y neurodegenerativas, neoplasias, diabetes mellitus, etc.). Este tipo de tratamientos promete ser una excelente opción para aquellas personas que padecen estas enfermedades, sin embargo, estudios toxicológicos sobre la administración de estos tratamientos son necesarios para proteger lo más posible la salud de estas personas. En efecto, los nanofármacos paulatinamente se están abriendo paso en el mercado y, generalmente, su uso supera los beneficios de tratamientos convencionales debido a su mayor efectividad, especificidad y menor incidencia de efectos secundarios (González et al. 2009).

Ejemplo de lo antes descrito es el paclitaxel, fármaco quimioterápico del grupo de los taxanos o fijadores de tubulina que actúa durante la fase M del ciclo celular, uniéndose a la subunidad  $\beta$  de la tubulina, con lo que evita el crecimiento del tumor ya que estabiliza los microtúbulos e impide su despolimerización. Sin embargo, al igual que la mayoría de los fármacos quimioterápicos, el paclitaxel tiene efectos secundarios indeseables derivados de su mecanismo de acción. En este contexto, se han reportado buenos resultados clínicos en el tratamiento del cáncer de mama multirresistente y de otros tumores (carcinoma de ovario o de pulmón y sarcoma de Kaposi) al usar una formulación nanoparticulada de paclitaxel (Abraxane®). Así, al comparar la eficacia terapéutica de esta formulación nanotecnológica contra la formulación convencional del paclitaxel en grupos de pacientes cancerosos, la respuesta siempre fue mejor con el nanofármaco (Hawkins et al. 2008; Riehemann et al, 2009). Sin embargo, es pertinente señalar que la toxicidad asociada a los nanosistemas es un área poco estudiada a pesar de su gran importancia en el futuro de esta nueva rama de la farmacología moderna.

Sin embargo, es importante el tomar en cuenta la posible la toxicidad aguda o crónica que pudieran estos nuevos tipos de tratamiento y en este caso, el evaluar la toxicidad alrededor de los tratamientos que están elaborados utilizando la nanotecnología. De esta manera se pretende el evitar la aparición de otros padecimientos como consecuencia de la exposición a estos xenobióticos por los pacientes. En este sentido, se importante señalar que la exposición a nanopartículas metálicas también se puede encontrar en los alimentos, productos varios de consumo e implantes para el cuerpo.

En el cuerpo humano, el funcionamiento de sus órganos es de vital importancia para mantener el equilibrio saludable de cualquier persona manteniendo constante la composición de su medio interno. Esta constancia se debe en gran parte al funcionamiento correcto de órganos como los pulmones el hígado y los riñones. Las funciones de estos órganos hacen posible que la composición del medio extracelular se mantenga dentro de los límites adecuados para la vida de las células. Además, estos órganos evitan la acumulación tisular de los fármacos por mecanismos que incluyen la alteración enzimática de sus estructuras químicas y su excreción. Por ello, se debe señalar que la unidad básica estructural y funcional de los riñones es la nefrona, la cual está formada por un aparato de filtración o glomérulo conectado a una porción tubular larga que reabsorbe o secreta sustancias endógenas y xenobióticos. Las nefronas realizan su trabajo a través de tres procesos fundamentales: filtración glomerular, reabsorción tubular y secreción tubular. Estos procesos determinan la presencia de los xenobióticos en la orina, de tal manera que su concentración final en este fluido es el resultado de la suma de la filtración y la secreción menos la reabsorción tubular. Por lo tanto, una falla renal favorece la acumulación de los xenobióticos en el organismo (Le Blanc 1994; Armijo 2003), y además, estos órganos son blanco fácil de muchas sustancias químicas que pueden producir toxicidad y daños en sus tejidos alterando las funciones vitales que llevan a cabo con el consecuente daño general y producción de enfermedades. En este sentido, en la medida en que se afecta la homeostasis del medio interno se limitan las posibilidades del individuo para tener una vida normal (Jaramillo et al. 2006).

Relacionado con lo anterior, el desequilibrio saludable en una persona, se confirma con una disminución severa del funcionamiento renal; en ella, la insuficiencia renal

ocasiona modificaciones profundas del medio extracelular, y se presentan diversas alteraciones funcionales con repercusiones negativas para la salud, muchas de las cuales se corrigen sólo de manera parcial cuando se recurre a la diálisis. Por ello, la integridad funcional de los riñones es esencial para el mantenimiento de la homeostasis corporal de los seres humanos.

En este sentido, existen muchas sustancias que pueden dañar la estructura y las funciones de los riñones como las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  con lo cual, el daño producido por ellas puede ser reversible o irreversible. Cuando esto último sucede, un gran número de personas muere.

Las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , como su nombre lo indica están formadas por el metal Titanio (Ti), el cual es un metal no fisiológico. Dentro de este tipo de metales se encuentran también otros como el Plomo (Pb), el Cromo (Cr), el Arsénico (Ar), que producen toxicidad en células renales mediante varios mecanismos. Además, el hecho de tener las NPs de  $\text{TiO}_2$  a escala nanométrica puede producir alteraciones en las membranas celulares debido al pequeñísimo tamaño que tienen y además se puede generar la acumulación de éstas en los riñones por un largo tiempo, con lo que puede aparecer un proceso inflamatorio durante el cual destaca la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) que desencadena una serie de eventos que pueden terminar en un estado Estrés Oxidativo para las células causando daños y muerte de tejido de dichos órganos.

Por tal razón, es de suma importancia el poder evaluar los efectos toxicológicos producidos por el tratamiento con nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  ya que son muy utilizadas en diversos productos como alimentos o de consumo de varios tipos por lo que existe una exposición a ellas, o bien con el fin de llegar a una conclusión que permita discernir si estos tratamientos a largo plazo que si bien, pudieran curar algún tipo de cáncer, llegaran en un momento dado causar enfermedades como Insuficiencia Renal Aguda o Crónica (IRA o IRC), o bien otros padecimientos relacionados con lo anterior, en el caso de uso como vehículo de fármacos o como material de implantes para el cuerpo.



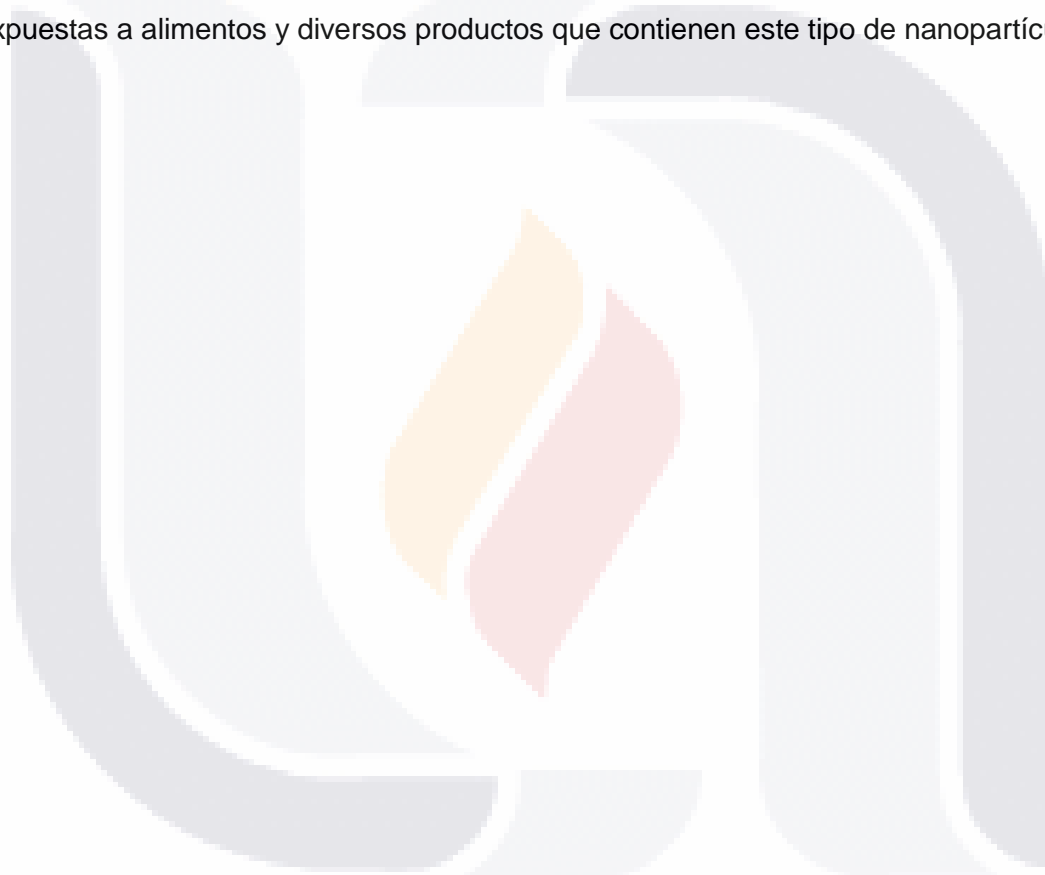
En este contexto, uno de los tratamientos alternativos ampliamente usados en la actualidad para lograr la salud del ser humano, se basa en el uso de antioxidantes los cuales son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias principalmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades. Además, debido a la estructura y grupos funcionales de algunos antioxidantes, éstos pueden interactuar con las membranas celulares protegiéndola de algunos xenobióticos. Otra de las funciones de los antioxidantes es facilitar el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, ayudando a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, formando complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales oxidantes también conocidos como radicales libres (moléculas inestables de alta energía con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, que tienden a reaccionar con otros compuestos) y por consiguiente desempeñando una función fundamental en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. (Zamora 2009).

Las sustancias antioxidantes se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y el sistema no enzimático; también conocidos como endógenos y exógenos respectivamente, los cuales pueden actuar tanto en el espacio intracelular como en el extracelular. El sistema no enzimático está integrado principalmente por sustancias como las vitaminas A, E, C, carotenoides y los minerales selenio y zinc. Se ha documentado científicamente en muchos casos que los antioxidantes son potenciadores de la salud y que su utilización supone entre otras cosas la prevención de enfermedades crónicas y no transmisibles como algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares entre otras, de ahí la importancia del consumo de alimentos con un alto contenido de sustancias antioxidantes como las frutas y vegetales.

En relación con lo anterior, extractos de Ginko biloba (Gb) han mostrado tener varios compuestos antioxidantes entre los que destaca la Quercetina, la cual se encuentra en grandes cantidades en dichos extractos (Li et al. 2004) y tiene una poderosa actividad antioxidantes. Además, la vitamina E y los Ácidos Grasos omega (A.G. omega) son muy benéficos para la salud y ayudan a mantener y reparar las membranas celulares dañadas

por diversos factores entre los que se encuentra la exposición a algunos xenobióticos como las NPs de  $\text{TiO}_2$ .

Por lo tanto, en el presente trabajo, se evalúa el efecto protector de varios antioxidantes como el Ginko Biloba, la Vitamina E y los A.G. omega en la nefrotoxicidad producida por NPs de  $\text{TiO}_2$ , y de esta manera poder tener una herramienta para proteger los riñones de personas que pudieran someterse a tratamientos de enfermedades basados en nanopartículas como en este caso NPs de  $\text{TiO}_2$ , o bien pudieran estar expuestas a alimentos y diversos productos que contienen este tipo de nanopartículas.



## II. ANTECEDENTES

### II.1 Los riñones y su anatomía funcional

En los mamíferos, la integridad funcional de los riñones, es vital para mantener la homeostasis total del cuerpo, debido a que los riñones, juegan el papel principal en la excreción de los desechos del metabolismo y la regulación del volumen del fluido extracelular, su composición electrolítica y el balance ácido-base. Además, los riñones sintetizan y liberan hormonas tales como la renina y eritropoyetina, y transforman la Vitamina D3 a la forma activa 1,25 dihidroxivitamina D3.

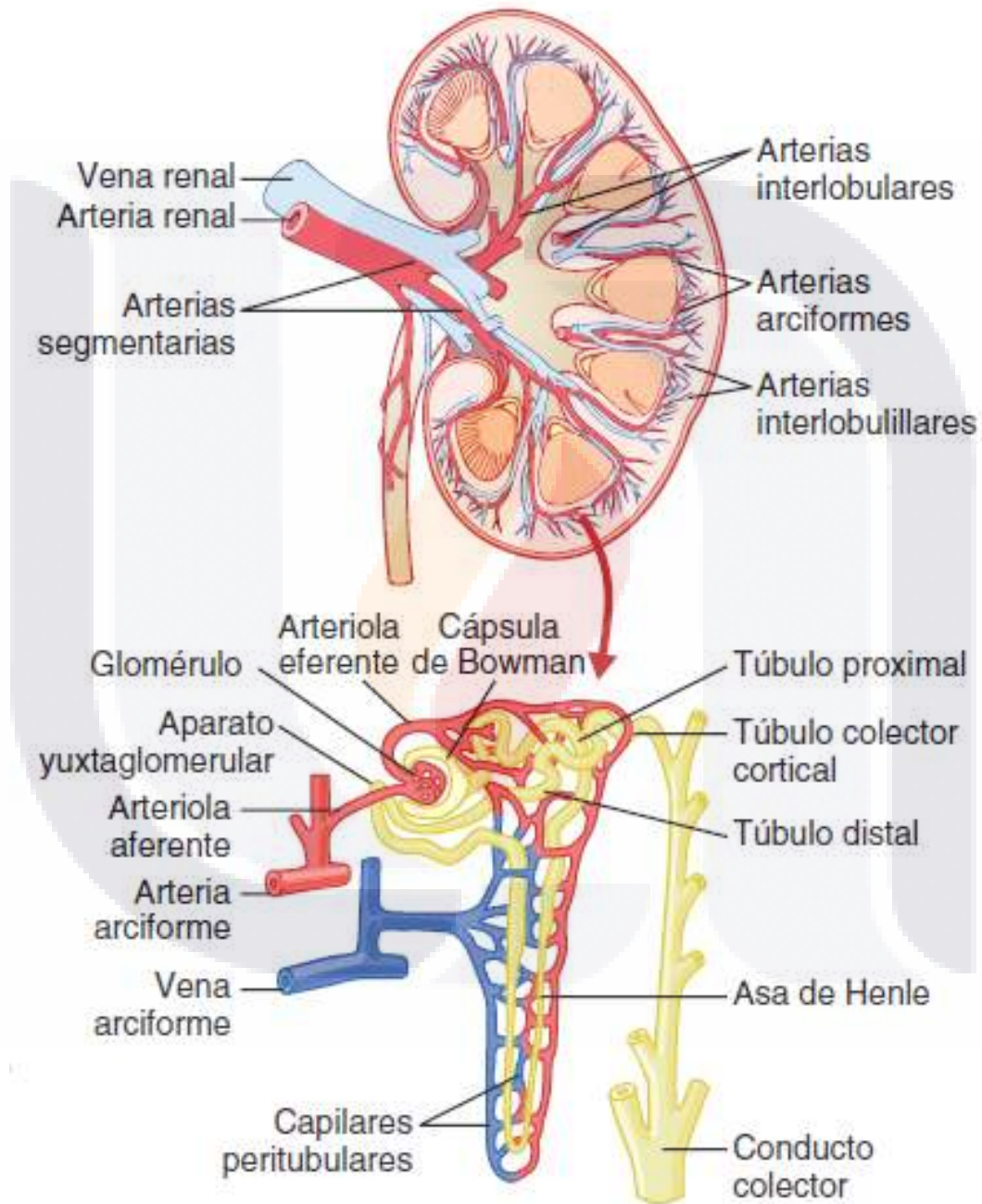
En el riñón, se distinguen claramente 3 regiones anatómicas: la corteza, médula y las papilas renales. La corteza constituye la mayor porción del riñón y recibe la mayor parte del flujo sanguíneo (90%), mientras que la médula (aprox. 6-10%) y las papilas (1-2%).

La unidad funcional del riñón es la nefrona la cual puede ser considerada en 3 partes: los elementos vasculares, el glomérulo y el elemento tubular (Túbulo proximal, asa de Henle, Tubulo distal y Túbulo colector). Al respecto conviene mencionar el aparato yuxtglomerular que se encarga de regular las funciones que realiza cada nefrona. (Casarett & Doulls 2008).

#### **Sistema vascular**

El principal vaso que irriga cada uno de los riñones es la arteria renal, la cual conforme penetra en dichos órganos, se va ramificando sucesivamente en arterias interlobares, arqueadas e interlobulares (Figura II.1-1) Lo último de esta ramificación, da lugar a las arteriolas aferentes que suministra sangre al glomérulo, la cual recorre los capilares glomerulares y sale por medio de la arteriola eferente. Tanto las arteriolas aferentes como las eferentes, se encargan de controlar la presión de los capilares glomerulares y la tasa de flujo sanguíneo glomerular. En efecto, estas arteriolas son innervadas por el sistema nervioso simpático y se contraen en respuesta a dicha

estimulación nerviosa. Además, la angiotensina II, vasopresina, endotelina, adenosina y norepinefrina afectan la presión glomerular y el flujo sanguíneo. (Casarett & Doulls 2008).



**Figura II.1-1** Esquema del riñón humano que muestra los principales vasos sanguíneos, así como la microcirculación y componentes tubulares de la nefrona. (Guyton & Hall 2011).

En relación con lo anterior, las arteriolas eferentes salen del glomérulo y forman una red de capilares peritubulares que rodean los túbulos de las nefronas; estos capilares entregan eficientemente desechos hacia los túbulos renales para ser excretados, y a su vez reabsorben electrolitos, nutrientes y agua de los túbulos renales hacia la circulación sistémica. (Casarett & Doulls 2008).

### **El glomérulo Renal**

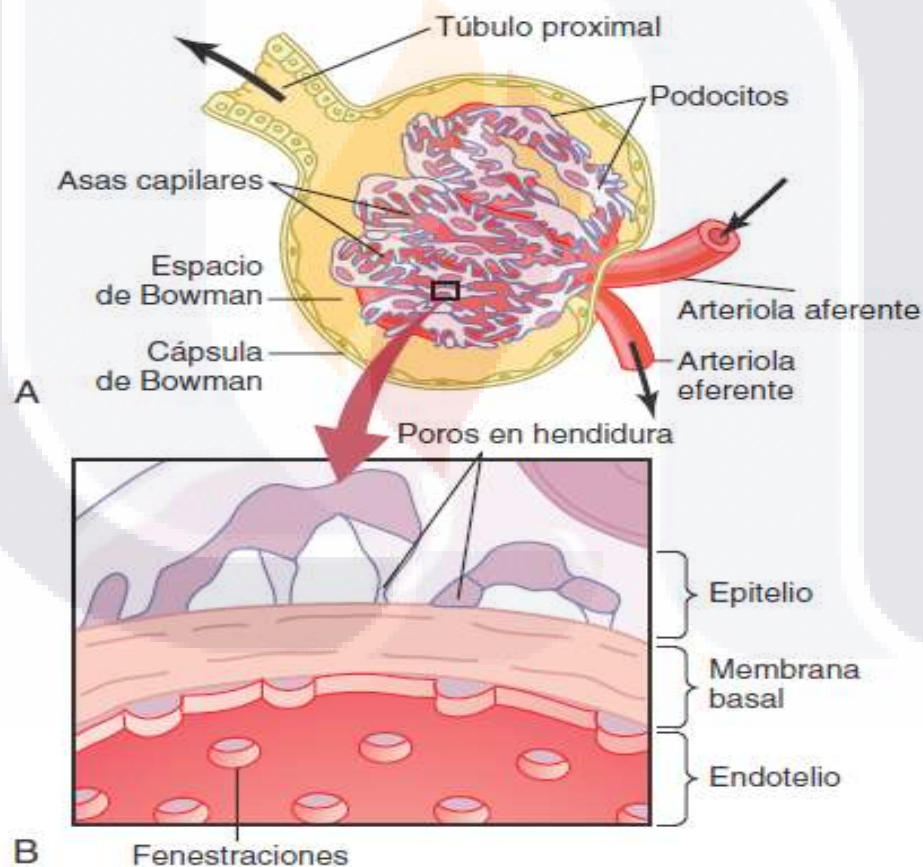
El glomérulo es la parte de la nefrona en donde se lleva a cabo la función de filtración o aclaramiento del plasma sanguíneo. Está formado por una red de vasos capilares (capilares glomerulares), rodeados por una envoltura externa llamada cápsula de Bowman. Se constituye principalmente por células endoteliales con citoplasma fenestrado, la membrana basal glomerular y células llamadas podocitos que recubren el otro lado de la membrana basal (Figura II.1-2).

El flujo sanguíneo renal (FSR) es de aproximadamente 1/5 parte del gasto cardiaco total, y dicha cantidad de sangre es filtrada en los capilares glomerulares no permitiendo el paso de proteínas y células con el filtrado; éste al final pasa a la cápsula de Bowman y luego hacia los túbulos renales. (Casarett & Doulls 2008). La formación de dicho filtrado es resultado de la acción de las fuerzas de Starling que determinan el balance entre la presión hidrostática transcapilar y la presión oncótica coloidal (Maddox & Brenner 1991).

### **Túbulo proximal**

Los túbulos proximales de las nefronas son la porción tubular que esta enseguida del glomérulo en las nefronas (figura II.1-3) y se dividen en 3 segmentos: S1 (segmento contorneado), S2 (segmento que esta entre el segmento contorneado y el recto) y S3 (segmento recto)

El segmento S1, es la porción inicial contorneada del túbulo proximal y se caracteriza por tener borde en cepillo (microvellosidades en el lado luminal del túbulo) y un sistema vacuolar lisosomal bien desarrollado. La membrana basolateral es ampliamente interdigitada y sus células están llenas de grandes mitocondrias, característica de epitelios que transportan iones  $\text{Na}^+$ . En el Segmento S2, las células poseen un borde en cepillo más corto y menos desarrollado, una menor cantidad de vacuolas y mitocondrias en la membrana apical, y menos interdigitaciones basolaterales que las células del segmento S1. Por su parte, las células segmento S3 la última porción del túbulo proximal, tienen un borde en cepillo bien desarrollado pero más pequeños y menor cantidad de lisosomas y mitocondrias que el segmento S2 y S1. (Casarett & Doulls, 2008).



**Figura II.1-2** Esquema de la estructura de los capilares glomerulares. B: sección transversal de la membrana de un capilar glomerular mostrando el endotelio capilar, la membrana basal y los podocitos del epitelio. (Guyton & Hall 2011).

El túbulo proximal es el caballo de batalla de la nefrona, en él se reabsorbe aproximadamente de 60-80% del agua y solutos filtrados en el glomérulo. La reabsorción de agua se lleva a cabo a través de procesos iso-osmóticos pasivos dirigidos mediante la reabsorción de iones  $\text{Na}^+$  por medio de bombas  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  - ATPasa localizadas en la membrana plasmática basolateral. Además de lo anteriormente mencionado, el túbulo proximal reabsorbe otros electrolitos como iones  $\text{K}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ .

En adición a lo anterior, el túbulo proximal contiene numerosos sistemas de transporte que regulan la concentración de sustratos metabólicos como aminoácidos, glucosa, e intermediarias del ciclo del ácido cítrico. También, el túbulo proximal reabsorbe casi por completo todas las proteínas de bajo peso molecular filtradas en el glomérulo mediante endocitosis. Además, pequeños péptidos lineales pueden ser hidrolizados por peptidasas asociadas al borde en cepillo del túbulo proximal. En este contexto, conviene señalar que la secreción de aniones y cationes orgánicos débiles de la sangre hacia los túbulos proximales se lleva a cabo mediante transportadores especializados, y es una importante función excretora de dicha porción de la nefrona.

En el túbulo proximal, sus funciones se llevan a cabo de manera heterogénea tomando en cuenta los 3 segmentos mencionados. Por ejemplo, en el segmento S1 principalmente se lleva a cabo la reabsorción del ión  $\text{HCO}_3^-$ , proteínas de bajo peso molecular, aminoácidos y glucosa. La capacidad de los transportadores de las sustancias mencionadas es menor tanto en el segmento S2 como en el segmento S3. En contraste, la función de secreción de aniones y cationes orgánicos se lleva a cabo principalmente en el segmento S2. Por su parte, el catabolismo y transporte apical del Glutati6n (GSH) se realiza mucho más en el segmento S3 donde la enzima  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa se encuentra en mayor cantidad en el borde en cepillo de dicho segmento. (Casarett & Doulls, 2008).

### **Asa de Henle**

El asa de Henle es la porci6n en forma de horquilla que continua al túbulo proximal en la nefrona (Figura II .1-3). En ella, aproximadamente el 25% del i6n  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , y el 20%

del agua filtrada son reabsorbidos. En la rama descendente delgada, el agua es libremente permeable, y solutos como electrolitos y la urea pueden entrar a partir del intersticio. En contraste, la rama ascendente delgada es relativamente impermeable al agua y a la urea y los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  son reabsorbidos por medio de difusión pasiva. Por su parte, la rama ascendente gruesa del asa de Henle es impermeable al agua y lleva a cabo el transporte activo de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  mediante el mecanismo de contranporte  $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  utilizando energía proporcionada por enzimas  $\text{Na}^+ / \text{K}^+ - \text{ATPasa}$ . (Casarett & Doulls, 2008).

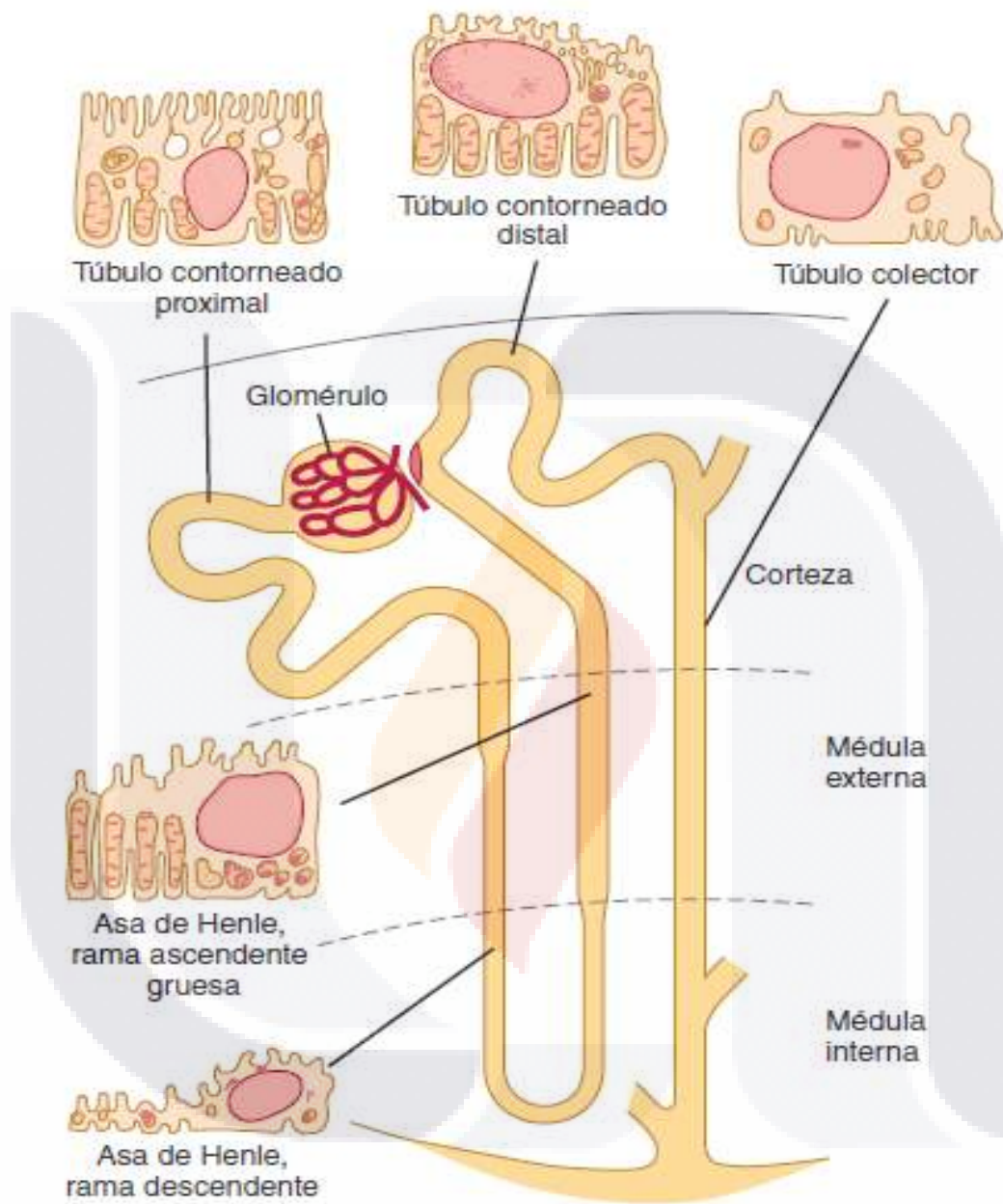
### **Túbulo distal**

A partir de la rama ascendente gruesa del asa de Henle se continúa con el túbulo contorneado distal (Figura II.1-3). En esta porción de la nefrona, las células contienen abundantes mitocondrias, sin embargo, el borde en cepillo y su función de endocitosis esta poco desarrollada. En este contexto, al principio del túbulo distal, se reabsorbe la mayoría de los iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  restantes pero es relativamente impermeable al agua. En cuanto a la parte final del túbulo distal, esta se continúa con el túbulo colector y realiza funciones similares a él.

### **Túbulo colector**

El túbulo colector tanto cortical como medular, realiza la regulación y el punto final del volumen y composición urinaria (Figura II.1-3). El  $\text{Na}^+$  restante es reabsorbido en conjunción con  $\text{K}^+$  y la secreción del ión  $\text{H}^+$  se realiza en la parte final del túbulo distal y el túbulo colector cortical. Al respecto, es importante señalar que la hormona antidiurética (ADH), provoca la permeabilidad al agua en el túbulo colector medular.





**Figura II.1-3** Diagrama de una nefrona yuxtaglomerular. Se muestran también las principales características histológicas de las células que constituyen cada porción del túbulo. (Ganong 2010).

Ahora bien, para observar de una manera más precisa lo anteriormente expuesto, a continuación se muestran los datos sobre los procesos de filtración, reabsorción y excreción de diferentes sustancias que realizan los riñones (Tabla II.1-1). Al respecto, es importante mencionar que la tasa de filtración glomerular (TFG) es de 125ml/min = 180L/día.

**Tabla II.1-1** Tasas de Filtración, Reabsorción y Excreción de diferentes sustancias por los Riñones (Casarett & Doulls, 2008).

Sustancia	Filtración	Reabsorción	Excreción	Reabsorción (%)
Glucosa (g/día)	180	180	0	100
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (meq/día)	4320	4318	2	> 99.9
Na <sup>+</sup> (meq/día)	25,560	25,410	150	99.4
Cl <sup>-</sup> (meq/día)	19,440	19,260	180	99.1
Agua (L/día)	169	167.5	1.5	99.1
Urea (g/día)	48	24	24	50
Creatinina (g/día)	1.8	0	1.0	0

Con todo lo anterior, se comprende como los riñones, llevan a cabo sus funciones en cada una de las diferentes porciones de sus numerosas nefronas para mantener el estado de homeostasis corporal que le corresponde a estos dos órganos y por lo tanto, el daño que pudieran sufrir por exposición a diversos xenobióticos como las nanopartículas, es de suma importancia el amplio conocimiento al respecto, por la importancia que tienen los riñones en el mantenimiento de la salud de los seres humanos y otros seres vivos.

En este sentido, existen muchas sustancias que afectan de manera adversa a los riñones. Entre ella se encuentran los metales pesados, los hidrocarburos halogenados, los destilados de petróleo, las micotoxinas, y diversos medicamentos. Es importante señalar que muchos de estos compuestos, además de dañar a los riñones, ejercen acciones nocivas en otros órganos y tejidos corporales. (Jaramillo et al. 2012). A continuación, se presentan algunos ejemplos de estos xenobióticos (Tabla II.1-2).

**Tabla II.1-2** Ejemplos de sustancias nefrotóxicas (SNC = sistema nervioso central,  $\text{CHCl}_3$  = cloroformo,  $\text{CCl}_4$  = tetracloruro de carbono). (Jaramillo et al. 2012).

<b>Fármacos</b>	<b>Contaminantes ambientales</b>
1) Analgésicos y antiinflamatorios: AINES (acetaminofeno).	1) Metales: cadmio, cromo, mercurio, níquel, plomo.
2) Antibióticos: aminoglucósidos, compuestos $\beta$ -lactámicos, vancomicina, sulfonamidas, polimixinas.	2) Hidrocarburos alifáticos halogenados: $\text{CHCl}_3$ , $\text{CCl}_4$ , 1,2-dibromoetano, tetracloroetileno.
3) Antineoplásicos: adriamicina, cisplatino, nitrosoureas, mitomicina C, metotrexato.	3) Solventes orgánicos: tolueno, etilenglicol, dietilenglicol.
4) Inmunosupresores: D-penicilamina, ciclosporina	4) Micotoxinas: aflatoxinas.
5) Medios de contraste radiográfico: diatrizoatos, yodohipuratos, yodotalamatos.	5) Plaguicidas: lindano, paraquat, diquat.
6) SNC: enflorano, metoxifluorano, litio.	6) Otros: p-aminofenol, bencidina.

Es importante señalar que muchos de estos compuestos, además de dañar a los riñones, ejercen acciones nocivas en otros órganos y tejidos corporales.

En adición a lo anterior, otro tipo de compuestos que son potencialmente tóxicos, son los nanomateriales principalmente de naturaleza metálica (NPs de  $\text{TiO}_2$  que son objeto del presente estudio, de oro, de hierro, de plata, de zinc, entre otros). De ellos, no se tiene mucha información sobre sus posibles peligros a la salud y efectos en órganos como los riñones, por lo que es importante el tener en cuenta lo anterior al momento de decidir hacer uso de este tipo de xenobióticos.

## II.2 Los antioxidantes como agentes benéficos para las células

La oxidación es un proceso químico en el cual una sustancia pierde electrones y otra los gana y se reduce. Este proceso es fundamental para la vida ya que participa en la generación de la energía celular. Sin embargo, cuando la oxidación es alta o prolongada puede aparecer el estrés oxidativo, el daño celular y el deterioro funcional del organismo. Conviene señalar que un radical es una especie química que contiene uno o más electrones desapareados. Los radicales normalmente se generan en diversas rutas metabólicas de las células; algunos de ellos existen en forma libre y, por ello, interactúan con estructuras celulares, lo que puede conducir a su disfunción. Al respecto, existen enfermedades que se han relacionado con la generación de radicales libres (RL) y el estrés oxidativo. Las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS) son ejemplos de estos radicales e incluyen al radical hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) y al radical superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ).

La exposición al estrés oxidativo generado por los radicales libres (RL) ha estimulado en los organismos vivos el desarrollo de varios mecanismos de defensa, entre ellos, preventivos, antioxidantes y de reparación. Los antioxidantes son sustancias que protegen a las células, de manera directa o indirecta, contra la toxicidad de los RL que se generan en el metabolismo celular y durante la exposición a diversos xenobióticos. Estas sustancias neutralizan a los ROS o activan mecanismos de detoxificación de las células, lo que ayuda a prevenir la aparición de procesos patológicos. (Jaramillo et al. 2012).

Dentro de los mecanismos antioxidantes existen algunos que son sistemas enzimáticos (endógenos), que protegen a las células del estrés oxidativo, y además existen fármacos también antioxidantes (exógenos), que se pueden obtener de la dieta y son no enzimáticos. Dichos mecanismos y fármacos se describen a continuación:

### A) Mecanismos antioxidantes endógenos (Enzimáticos):

- 1) Superóxido Dismutasa (SOD). Cataliza la reacción:  $\cdot\text{O}_2^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ .
- 2) Glutación peroxidasa (GPx). Reducen hidroperóxidos a alcoholes.
- 3) Glutación Transferasa (GST). Reducen hidroperóxidos a alcoholes.
- 4) Catalasa (CAT). Reduce  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ .

B) Fármacos antioxidantes exógenos (No enzimáticos).

- 1)  $\alpha$ -Tocoferol (Vitamina E).
- 2) Ácido ascórbico (Vitamina C)
- 3)  $\beta$ -caroteno o Provitamina A.
- 4) Captadores de Radicales Libres (Polifenoles como los flavonoides, N-acetilcisteína, resveratrol, ácidos grasos  $\omega$ , entre otros).

Al respecto, las células cuentan con un tripéptido llamada glutatión (GSH), que es el mayor antioxidante y regulador redox en la células, siendo su forma oxidada el glutatión disulfuro GSSG. Este compuesto es abundante en el citosol y en la mitocondria, siendo el cociente GSH/GSSG, un buen indicador sobre el grado de estrés oxidativo de un organismo (Valko et al. 2006).

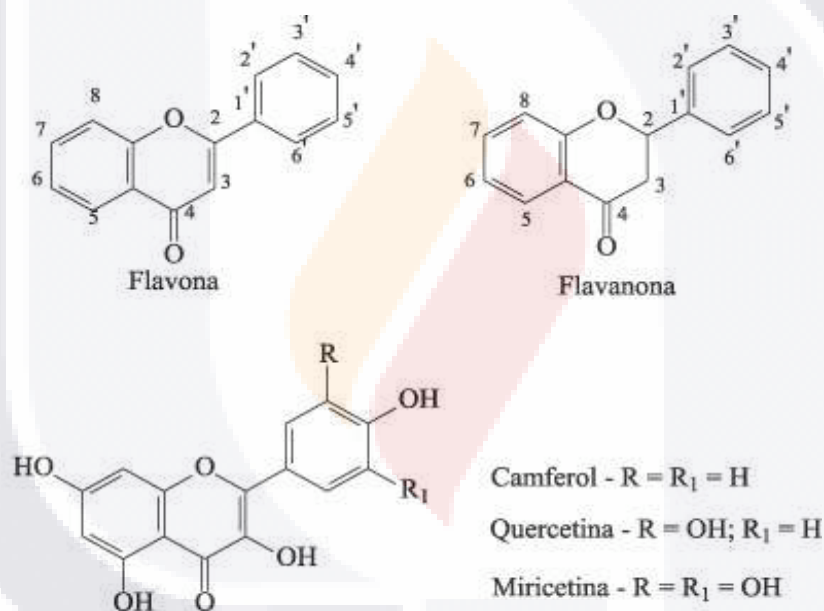
A continuación se muestra una breve descripción sobre los aspectos más importantes sobre el extracto de Ginko biloba que contiene varios flavonoides como la quercetina, Vitamina E y ácidos grasos  $\omega$ -3, los cuales son los antioxidantes objetos de estudio del presente trabajo utilizados de manera profiláctica para evaluar el efecto protector de ellos contra la nefrotoxicidad producida por NPs de  $\text{TiO}_2$ .

**Extracto de Ginko biloba (GbE)**

El extracto de Ginko biloba ha sido usado alrededor del mundo como hierba medicinal. Dentro de los componentes de dicho extracto, se encuentran principalmente glucósidos flavonoides como quercetina y rutina, además de terpenoides como bilobalida y ginkgolidos A, B y C. En este sentido, extractos estandarizados alemanes de Gb, se ha informado que contienen 22-27% de glucósidos flavonoides y 6% de terpenoides (Chen et al. 2007). Cabe señalar, que aparte de la quercetina, en el extracto de Ginko biloba, existen otros flavonoides importantes con función antioxidante como el canferol e isoramnetina.

### Flavonoides

Se le llama flavonoides a un grupo de metabolitos secundarios de las plantas que son sintetizados a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina, así como del malonato. Todos ellos son polifenólicos y solubles en agua (Figura II.2-1). De acuerdo con su estructura básica se clasifican en 1) chalconas, 2) flavonas, 3) flavonoles, 4) flavandioles, 5) antiocianinas y 6) taninos. Dichos compuestos se pueden encontrar en alimentos como la cebolla, manzana, té verde, té negro, vino rosado, chocolate, uva, arándano, semillas, nueces, granos, diferentes plantas medicinales vino tinto, té y cerveza (a concentraciones bajas). (Jaramillo et al. 2012).



**Figura II.2-1** Estructura de algunos flavonoides  
 ([http://www.lookfordiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=Ficoeritrina&lang=2](http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Ficoeritrina&lang=2))

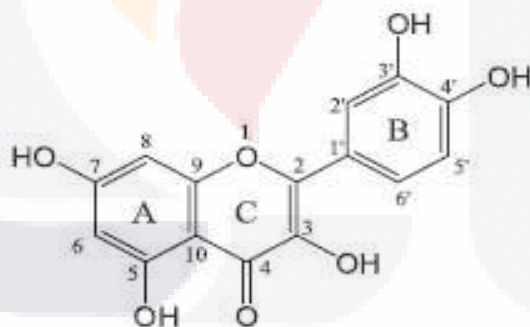
La acción antioxidante de los flavonoides incluye mecanismos como: a) suprimir la formación de ROS por inhibición de enzimas que las generan o por quelación de elementos traza involucrados en su producción. b) Atrapar a las ROS y c) Regular la expresión de genes y aumentar la protección de las defensas antioxidantes. Además se ha reportado que los flavonoides tienen otras acciones, entre ellas: antiinflamatorias, anticarcinógenas y vasodilatadoras (Jaramillo et al. 2012).

Al respecto, es importante mencionar que los grupos funcionales hidroxilo y fenólicos de los flavonoides son los que actúan como antioxidantes ya que pueden donar electrones a los radicales libres o ROS inactivándolos para evitar daño en componentes celulares.

Por último, los compuestos polifenólicos como los flavonoides, también pueden actuar como prooxidantes, dependiendo de la dosis, el tiempo de administración y el potencial redox. Por lo tanto, es importante el tomar en cuenta estas características al momento de consumir este tipo de sustancias en preparados estandarizados comerciales.

### Quercetina

Es un flavonoide que abunda en las frutas y los vegetales. Se encuentra en las cebollas, cerezas, las grosellas negras y rojas, así como en las uvas. (Jaramillo et al. 2012). Por supuesto también se encuentra en las hojas de Ginkgo biloba, razón por la cual el consumo del extracto de esta planta es altamente consumido alrededor del mundo (Figura II.2-2).



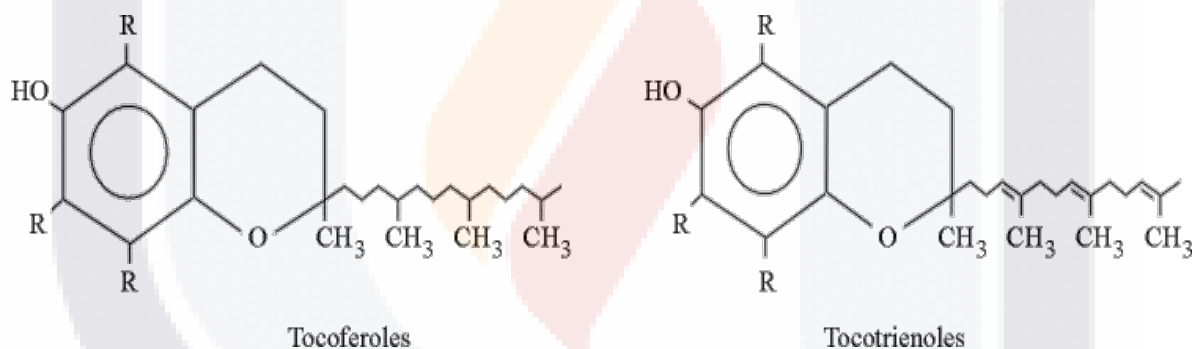
**Figura II.2-2** Estructura de la quercetina (Do Nascimento et al. 2013)

La quercetina, tiene un alto poder antioxidante debido a sus grupos hidroxilo que contiene en su estructura y por lo tanto, es eficaz para neutralizar RL y ROS, además inhibir enzimas oxidadas que pueden producir ROS. Sin embargo, es importante señalar que es más eficaz consumir el extracto completo que consumir solo la quercetina debido a

que sus otros componentes como el canferol e isoramnetina, actúan juntos en esta función. Además, el efecto protector celular es mucho más notorio cuando el extracto se utiliza de manera profiláctica y no terapéutica.

### Vitamina E

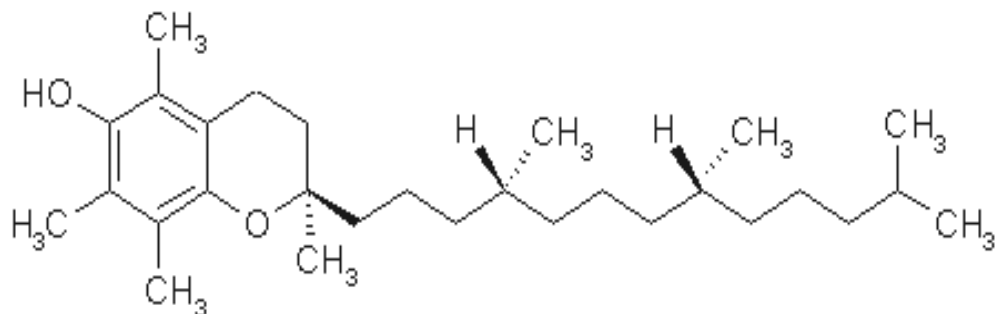
En la naturaleza, son 8 compuestos los que tiene actividad de Vitamina E los cuales son un conjunto de 4 compuestos tocoferoles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) y 4 trienoles ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), siendo el  $\alpha$ -tocoferol el que tiene la mayor actividad biológica. (Sen et al. 2006) (Figura II.2-3). Esta vitamina, se encuentra principalmente de manera natural en los aceites de soya, cacahuate, algodón y girasol; las lentejas, el trigo, la avena y el arroz integral, así como la mantequilla y el huevo.



**Figura II.2-3** Estructura de tocoferoles y tocotrienoles (Vitaminas E) (Pita 1997)

La vitamina E, actúa como antioxidante, ya que protege a los lípidos de las membranas celulares contra la oxidación generada por los RL; por lo tanto, participan de manera importante en el mantenimiento de la integridad de estas estructuras. La molécula de  $\alpha$ -tocoferol, tiene una parte polar y otra apolar; la región polar la constituye el anillo cromano y su grupo fenólico (-OH) es el responsable de la actividad antioxidante; la región apolar está formada por la cadena lateral alifática ( $-C_{16}H_{33}$ ) de la molécula, la cual favorece su inserción en la bicapa lipídica de las membranas de las células (Jaramillo et al. 2012) (Figura II.2-4).



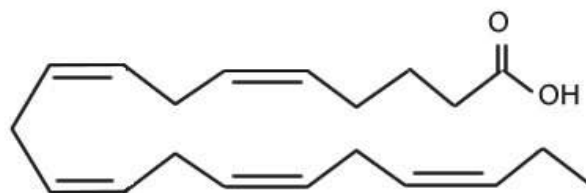


**Figura II.2-4** Estructura del  $\alpha$ -tocoferol  
 ([https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/RRR\\_alpha-tocopherol.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/RRR_alpha-tocopherol.png))

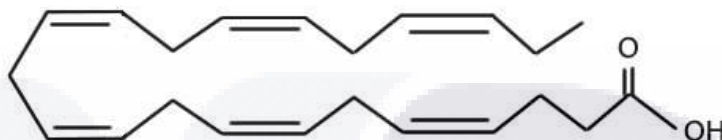
En adición a lo anterior, debido a su capacidad para neutralizar radicales libres que atacan el ADN de las células, la vitamina E ayuda a prevenir y retrasar el desarrollo de cáncer y otras enfermedades crónicas. (Zhou et al. 2004). Por lo tanto este compuesto es muy útil para poder prevenir efectos adversos producidos por la exposición a diversos xenobióticos como en este caso lo es las NPs de  $\text{TiO}_2$ . Por último, es importante mencionar que en su actividad antioxidante, la Vitamina E se regenera mediante la colaboración la con la Vitamina C que juntas protegen los lípidos de membrana evitando la propagación del daño en dicha estructura, y por ende, preservando las funciones celulares.

### Ácidos Grasos $\omega$ -3

Los ácidos grasos omega-3 (ácidos grasos  $\omega$ -3 o AG  $\omega$ -3), son un conjunto de lípidos, los cuales tienen un doble enlace 3 carbonos antes del final de la cadena de ácido graso que es lado omega (Tribole 2007). (Figura II.2-5). Se encuentran principalmente en aceites de pescados como el atún, salmón, arenque, sardinas, entre otros (Surette 2008; Kris-Etherton et al. 2003; Bradberry 2013), y además de a partir de plantas como el aceite de nueces, linaza y canola (Tur et al. 2012).



Ácido Eicosapentanoico (EPA)



Acido docosahexanoico (DHA)

**Figura II.2-5** Ejemplos de ácidos grasos  $\omega$ -3  
 ([http://www.lookfordiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=%C3%81cido+Eicosapentaenoico&lang=2](http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=%C3%81cido+Eicosapentaenoico&lang=2))

Los ácidos grasos  $\omega$ -3, son nutrientes funcionales considerados como potentes antioxidantes y su rol como agente anticancerígeno ha sido ampliamente confirmado en muchos estudios relacionados. Además se ha encontrado que tienen función protectora en el hígado, sistema cardiovascular y riñones, siendo ampliamente usado en nutrición parenteral en clínica preoperatoria (Abdou & Hasan 2014).

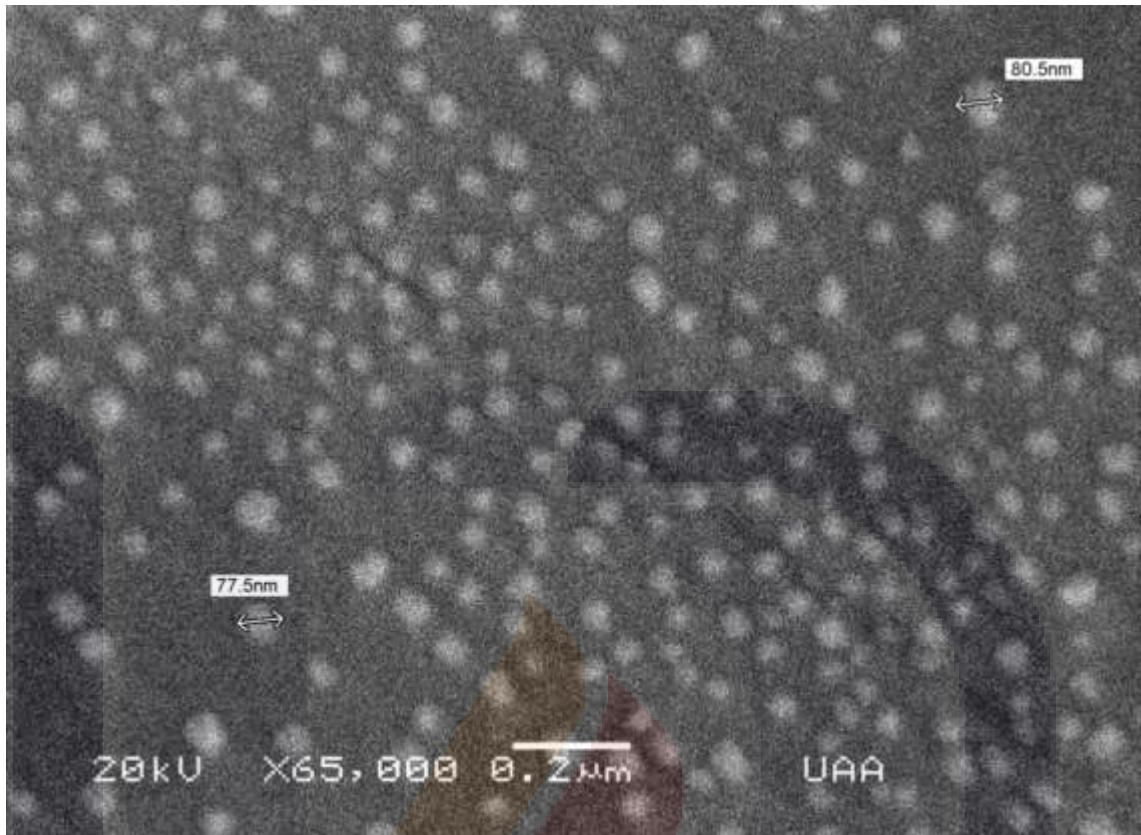
Debido a lo anterior descrito, en el presente estudio se utilizan ácidos grasos  $\omega$ -3 para proteger los riñones contra los efectos adversos producidos por NPs de  $\text{TiO}_2$ .

### II.3 Las Nanopartículas como tratamiento para el cáncer y su toxicidad

En la actualidad, se han estado realizando investigaciones sobre el uso de nanopartículas en distintos campos de aplicación ya que la nanotecnología, promete ser muy importante en un futuro. Sin embargo existen muchos vacíos de información sobre todo en los efectos tóxicos que pudieran tener sobre los organismos que se expongan a ellas.

La nanotecnología, es un campo de estudio emergente que se ocupa de las interacciones de las moléculas y sustancias tales como fragmentos moleculares, átomos y moléculas. (Bharali et al. 2009). Según la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (NNI), las nanopartículas se definen en dimensiones de aproximadamente 1 a 100 nanómetros (nm), con un rango que se puede extender hasta 100nm. (Bharali et al. 2009). Dicho tamaño, permite que los materiales posean diferentes propiedades fisicoquímicas en comparación con partículas del mismo material a escala macrométrica. Entre las propiedades y características que varían se encuentra su mayor superficie área/volumen, lo que permite mayor reactividad e interacción con otras moléculas (catálisis, unión, reacciones), mayor dureza y resistencia al calor químico, presencia de transparencia y un paso sencillo a través de membranas celulares por su tamaño nanométrico. (Holister et al. 2003).

Actualmente, el cáncer es una enfermedad que afecta a millones de personas en el mundo, y los agentes terapéuticos que se han venido utilizando, generan un alto grado de toxicidad ya que afectan no solo células cancerígenas y sino también otros grupos de células que están completamente sanas, dando lugar a efectos secundarios graves no deseados como supresión de la médula ósea, pérdida de cabello (alopecia), y descamación del epitelio intestinal. (Bharali et al. 2009). Por lo tanto existe un gran interés en desarrollo de nuevos tratamientos basados en la utilización de nanopartículas de Dióxido de Titanio ( $\text{TiO}_2$ ) (Figura II.3-1), en las cuales se aprovechan sus propiedades de escala nanométrica, para administrar el fármaco al tejido objetivo, liberar el fármaco a una velocidad controlada y minimizar lo más posible los efectos adversos como los mencionados anteriormente. Además, diversos tipos de nanopartículas se encuentran en alimentos y diversos productos de consumo en los cuales se pudiera estar expuesto.



**Figura II.3-1** Imagen de las nanopartículas utilizada en el presente estudio (Universidad Autónoma de Aguascalientes)

### **Toxicidad de Nanopartículas de $\text{TiO}_2$ .**

Las nanopartículas de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ), tienen muchas aplicaciones beneficiosas aprovechando su propiedad fotocatalizadora. (Hamilton et al. 2009). Con estudios anteriores, se ha demostrado que esta propiedad ha mostrado tener eficacia en la eliminación de células cancerígenas. (Thevenot et al. 2008). Por tal razón, el uso de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  presenta una opción para el tratamiento contra esta enfermedad que no ocasiona los efectos secundarios como los fármacos empleados hasta el momento.

Sin embargo, debido a la naturaleza metálica de estas nanopartículas, se debe tener bien claro el grado de toxicidad que pudieran tener estos nanomateriales principalmente sobre órganos blanco como el hígado y riñones, debido a la manera en la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

cual se distribuyen por administración intravenosa que es la utilizada para los tratamientos contra el cáncer. En este contexto, las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  se acumulan principalmente en el hígado, luego a manera decreciente en bazo, pulmón y riñones, encontrándose la mayor retención en el hígado. (Fabian et al. 2008; Johnson et al. 2009).

En el caso del riñón, un efecto observado es la producción de ERO en células del túbulo proximal, lo que contribuye al principal efecto toxicológico que afecta el funcionamiento celular. (Pujalte 2011).

En este contexto, en estudio se ha reportado que en general las nanopartículas al estar en contacto con membranas biológicas, pueden interaccionar de manera directa y de esta forma, estos nanomateriales pueden alterar la estructura de las membranas celulares mediante la formación de poros, rompimiento por la entrada de las nanopartículas o extracción de lípidos de membrana al interaccionar con ellas. (Moghadam et al. 2012; Chen & Bothum 2013) Por lo tanto, es de esperarse que las NPs de  $\text{TiO}_2$  pudieran tener este mecanismo de toxicidad antes que cualquier otro ya estudiado como lo es el caso de la producción de estrés oxidativo como se explica en el apartado siguiente.

### **Nanopartículas de $\text{TiO}_2$ y la producción de estrés oxidativo**

Uno de los principales efectos de la exposición a las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , es la producción de la respuesta inflamatoria con la infiltración de neutrófilos y macrófagos activados por mediadores de inflamación como IL-8 y TNF, en distintos órganos blanco, es decir, no existe un órgano específico de acción por estos nanomateriales (Johnson et al. 2009). Los neutrófilos tienen 2 mecanismos con los cuales llevan a cabo la eliminación de agentes extraños en los tejidos: 1) la producción de una explosión oxidativa en la cual los neutrófilos liberan gran cantidad de ERO que tienen la finalidad de atacar los agentes extraños y 2) la producción de varios compuestos proinflamatorios como citocinas y quimiocinas entre las cuales se encuentran la IL-8, IL-12 TNF- $\alpha$  TGF- $\beta$ , por mencionar algunos, los cuales a su vez conllevan a la activación de otras células del sistema inmune como los macrófagos que forman parte del proceso inflamatorio crónico (Goncalves et al.

2011). En este sentido, el estrés oxidativo es uno de los principales efectos tóxicos que promueven las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ . Esto incluye la producción de ERO, el agotamiento de las defensas antioxidantes, aumento de los productos de la oxidación (lipoperoxidación), y pruebas en las que un pretratamiento con antioxidantes disminuye el estrés oxidativo. (Johnson et al. 2009). Por lo tanto, el estrés oxidativo conduce a la respuesta inflamatoria y citotóxica, tomando en cuenta la concentración de partículas administradas y la duración del tratamiento. (Johnson et al. 2009).

En relación con lo anterior, (Hedenborg 1998), publicó que las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  inducen la producción de ERO por neutrófilos humanos, además, en estudios anteriores realizados en ratas se ha observado la generación del proceso inflamatorio en pulmón con la infiltración de neutrófilos durante el tratamiento con nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  por vía inhalatoria (Ferin et al. 1992; Johnson et al. 2009). Asimismo, también se ha observado respuesta inflamatoria con la infiltración de neutrófilos y macrófagos en pulmón de ratas, ratones y hamster (Bermudez et al. 2004; Johnson et al. 2009).

En estudios de exposición a nanopartículas por vía dérmica en humanos se ha observado poco o nada de penetración hacia la dermis de las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , debido a que son retenidas por el estrato córneo de la piel. (Mavon et al. 2007; Kiss et al. 2008; Johnson et al. 2009).

En el caso de administración de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  vía intravenosa, como ya se ha mencionado, se ha observado que este compuesto se distribuye en la sangre y a partir de ella se almacena en órganos como hígado, bazo, pulmones y riñones (Fabian, et al. 2008; Johnson et al. 2009). En este contexto, se ha encontrado la producción de ERO en exceso y reducción en la organización miofibrilar de miocitos cardiacos por la exposición nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  (Helfenstein et al. 2008), así como el mismo fenómeno en células de microglía del SNC expuestas a las nanopartículas mencionadas (Long et al. 2006).

En el caso de administración de nanopartículas por vía oral e intraperitoneal, no se tienen aún estudios suficientes que aporten datos comprobados al respecto.

Por otra parte, debido a el mecanismo en el cual las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  al almacenarse en órganos blanco sobre todo durante la exposición por vía intravenosa provocan la infiltración de neutrófilos y la actividad de macrófagos, éstos inician la explosión oxidativa mediante una producción en exceso de ERO hacia el tejido circundante, dañando de esta manera las células parenquimatosas generando la aparición de toxicidad por parte de dichas nanopartículas.

Por lo tanto, es factible que se produzca una alteración de las membranas celulares por interacción y efecto directo, y que se promueva la producción de estrés oxidativo y procesos inflamatorios en células de los túbulos renales expuestas a las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  por exposición a alimentos o productos de consumo, o bien cuando son utilizadas en los tratamientos contra el cáncer, ya que durante la distribución de estos nanomateriales, existe una acumulación y contacto directo con estos órganos. Por esta razón es importante obtener que efectos tóxicos pudieran producirse con estas nanopartículas, objetivo del presente estudio.

### III. JUSTIFICACIÓN

En los humanos, órganos como los riñones, participan de manera importante en el mantenimiento de la homeostasis corporal, pero cuando son afectados por algunos xenobióticos aparecen alteraciones patológicas que generan una calidad de vida muy baja o pueden conducir a la muerte.

En este sentido, la nanotecnología está produciendo diversos tipos de nanopartículas o nanomateriales, los cuales son xenobióticos poco estudiados y que pueden tener efectos nocivos sobre el funcionamiento de órganos vitales como los riñones, los cuales debido a sus funciones de filtración, reabsorción y secreción son blanco fácil de este y otros tipos de xenobióticos.

Al respecto, la nanotecnología es una disciplina que estudia materiales a escala nanométrica y su posible aplicación en distintas áreas científicas. En medicina, la nanotecnología ofrece aplicaciones en diversos campos. La base de estas aplicaciones radica en usar nanosistemas vectores que permitan introducir fármacos para dirigirlos a un órgano o tejido específico que tengan un bajo volumen farmacocinético de distribución y se tengan los menores efectos secundarios posibles. Esta es una ventaja de los nanomateriales en comparación con los agentes quimioterapéuticos actuales que son de bajo peso molecular, con un alto volumen farmacocinético de distribución, lo que contribuye a la citotoxicidad (Bharali et al. 2009), además de que carecen de especificaciones. Este bajo peso molecular hace que estos agentes terapéuticos sean fácilmente excretables, lo que hace que se necesiten concentraciones altas para su acción, lo que contribuye a su toxicidad. (Bharali et al. 2009). Por otro lado estos nanomateriales también son utilizados en diversos productos y alimentos comunes en la vida diaria.

Sin embargo, los posibles riesgos para la salud derivados del uso de los nanomateriales son aspectos poco conocidos. Al respecto, mientras que en los Estados Unidos de América se invierten aproximadamente 4500 millones de dólares por año en la investigación de nanomateriales, sólo el 5 % de esos fondos se destinan a evaluar sus riesgos. En Europa, la inversión anual para realizar estudios de nanomateriales alcanza



los 600 millones de euros, pero la investigación sobre sus posibles efectos nocivos apenas alcanza los 24 millones de euros.

Dentro de todos los materiales que actualmente se están utilizando en diversas aplicaciones, se encuentra las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  sobre las cuales se han estado realizando investigaciones debido a su amplio uso comercial en la actualidad (Thevenot et al., 2008) y por ello, es importante conocer su toxicidad.

Estas nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  son utilizadas como aditivo alimenticio, en pinturas, cosméticos, bloqueadores solares, entre otro, y también son recubiertas con agentes terapéuticos o su superficie es modificada con compuestos como glicol éter, vinil éter, alanina, vinil ácido acético, los cuales proporcionan grupos funcionales de superficie  $\text{OH}^-$ ,  $\text{NH}_2$  y  $\text{COOH}$ . (Thevenot et al., 2008). Esta modificación a las nanopartículas se ha observado que ejercen un efecto citotóxico sobre las células cancerosas, especialmente tumores de próstata y carcinoma de pulmón de Lewis. (Thevenot et al., 2008). Al respecto el cáncer, es una de las enfermedades que actualmente causan un gran número de muertes en todo el mundo. Acorde con la Sociedad Americana del Cáncer la probabilidad de desarrollar cáncer durante la vida de una persona es de 1 por cada 2 hombres y de 1 por cada 3 mujeres. (Bharali et al. 2009).

Sin embargo, las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ , se ha observado que pueden llegar a ser tóxicas en el organismo. Por ejemplo, se ha demostrado que pueden alterar la membranas celulares (Moghadam et al. 2012), y activar ERO en la interacción con dichas estructuras. En estudios in vivo mediante una administración oral, se ha demostrado que al entrar a la circulación sanguínea llegan a dañar el hígado y riñón. (Thevenot et al., 2008). También en administración peritoneal al diseminarse las nanopartículas en el cuerpo, éstas se depositan en órganos vitales como pulmón, bazo, hígado y riñón y pueden inducir inflamación severa pulmonar y enfisema. (Thevenot et al., 2008).

Por otra parte, los antioxidantes son sustancias capaces de mitigar los efectos oxidantes producidos por diversos tipos de xenobióticos como las NPs de  $\text{TiO}_2$ . Estas sustancias ejercen un efecto protector en componentes celulares principalmente las membranas. En este sentido, debido a este efecto protector, el uso de varios tipos de

antioxidantes es una buena alternativa en el tratamiento de diversas enfermedades y padecimientos de la actualidad.

En relación con lo anterior, el Ginkgo biloba es una buena fuente de sustancias antioxidantes ya que contiene grandes cantidades de quercetina, un poderoso antioxidante. Además la conocida vitamina E y los ácidos grasos  $\omega$ -3, debido a su estructura, ayudan a proteger y reparar las membranas dañadas por efecto directo con las nanopartículas, o bien protegerlas contra radicales libres que a su vez pueden conllevar a un estrés oxidativo celular.

Partiendo del hecho de que las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  generan toxicidad renal, es importante el evaluar los efectos protectores de antioxidantes (G.b, Vit. E, A.G. omega), en los riñones, ya que estos órganos son fundamentales en el mantenimiento de la homeostasis y salud corporal, sobre todo tomando en cuenta las personas que pudieran estar expuestas o bien, utilizar tratamientos contra enfermedades utilizando este tipo de nanopartículas.

De lo anterior, radica la finalidad y contribución principal del presente trabajo de investigación elaborado.

#### IV. HIPOTESIS DE TRABAJO

El uso de antioxidantes (Gb., Vit. E. y A. G. omega), ejercen efecto protector en la toxicidad renal generada por nanopartículas de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) en ratas wistar macho adultas.



## V. OBJETIVOS

### V.1 General

Analizar el efecto protector de antioxidantes en la toxicidad renal generada por NPs de  $\text{TiO}_2$  en ratas Wistar machos.

### V.2 Particulares

- ✓ Determinar la toxicidad renal aguda producida por NPs de  $\text{TiO}_2$ .
- ✓ Analizar el efecto protector del Ginkgo biloba en la toxicidad renal generada por NPs de  $\text{TiO}_2$ .
- ✓ Evaluar el efecto protector de la vitamina E en la toxicidad renal generada por NPs de  $\text{TiO}_2$ .
- ✓ Examinar el efecto protector de ácidos grasos tipo omega-3 en la toxicidad renal generada por NPs de  $\text{TiO}_2$ .

## VI. METODOLOGÍA

### VI.1 Diseño experimental

El estudio se realizó en ratas Wistar machos de 200-250gr de peso. Los animales fueron divididos en lotes de 6 ratas y tratados mediante el procedimiento mostrado a continuación (ver Tablas VI.1-1), VI.1-2 y VI.1-3).

**Tabla VI.1-1** Procedimiento del tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub>

TESTIGOS	TRATADOS CON LAS NPs DE TiO <sub>2</sub>
<p>Administrar solución salina (5mg/kg i.v.)</p> <p>↓</p> <p>Colocar a las ratas en jaulas metabólicas</p> <p>↓</p> <p>Colectar muestras de orina de 0-5hrs, 5-24hrs, 24-48 hrs. y 48-72 hrs. Realizar las pruebas programadas en orina</p> <p>↓</p> <p>Obtención e interpretación de los resultados</p>	<p>Administrar las NPs (5 mg/Kg, i.v.)</p> <p>↓</p> <p>Colocar a las ratas en jaulas metabólicas</p> <p>↓</p> <p>Colectar muestras de orina de 0-5hrs, 5-24hrs, 24-48 hrs. y 48-72 hrs. Realizar las pruebas programadas en orina</p> <p>↓</p> <p>Obtención e interpretación de los resultados</p>

**Tabla VI.1-2** Procedimiento del tratamiento con los antioxidantes

TESTIGOS	TRATADOS CON LAS NPs DE TiO <sub>2</sub>
<p>Administración de antioxidantes (Gb., Vit E ó ácidos grasos ω-3)  (10mg/kg i.p)</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Colocar a las ratas en jaulas metabólicas</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Colectar muestras de orina de 0-5hrs, 5-24hrs, 24-48 hrs. y 48-72 hrs. Realizar las pruebas programadas en orina</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Obtención e interpretación de los resultados</p>	<p>Administración de antioxidantes (Gb, Vit. E o ácidos grasos ω-3)  (10mg/kg i.p.)</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Administrar las NPs (5 mg/Kg, i.v.)</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Colocar a las ratas en jaulas metabólicas</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Colectar muestras de orina de 0-5hrs, 5-24hrs, 24-48 hrs. y 48-72 hrs. Realizar las pruebas programadas en orina</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Obtención e interpretación de los resultados</p>

**Tabla VI.1-3** Parámetros evaluados durante la experimentación

<b>PARÁMETRO</b>	<b>MÉTODO</b>	<b>CARACTERÍSTICA</b>
Peso Corporal	Gravimétrico	Útil en relación con otros parámetros
Consumo de agua	Volumétrico	Aplicable en relación con otros parámetros
Consumo de alimento	Gravimétrico	Aplicable en relación con otros parámetros
Volumen urinario	Volumétrico	Marcador de función renal
Concentración de proteínas en la orina	Peterson (1977)	Identifica alteraciones generales de la nefrona
Concentración de creatinina en orina	Bauer, (1982)	Prueba útil para valorar la filtración glomerular
Actividades enzimáticas urinarias de TPγG, APA y DAP-IV	Orlowski y Meister (1963) Yoshimoto et al. (1978) Jung y Scholtz (1980)	Valora efectos en enzimas del “borde en cepillo” de los túbulos renales
Concentración urinaria de sodio en la orina	Flamométrico	Valora el manejo renal de electrolitos
Concentración de glucosa en la orina	Espectrofotométrico (Trinder, 1969)	Identifica la función de células tubulares proximales
pH	Gasométrico	Determinan el equilibrio ácido-base de los líquidos corporales
Osmolaridad	Osmométrico	Prueba útil para valorar la capacidad de reabsorción tubular

Los resultados obtenidos, fueron analizados estadísticamente con las pruebas de ANOVA y de Tukey-Kramer mediante el paquete estadístico GraphPadPrisma 5.

## VI.2 Procedencia de las NPs de $\text{TiO}_2$ y antioxidantes utilizados en el presente estudio

Al respecto, es importante señalar que las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  utilizadas durante el experimento, fueron de un tamaño de menos de 100nm obtenido de la marca **Sigma-Aldrich®**. Por su parte, el extracto de ginko biloba fue un producto estandarizado de la marca **Vasodil®**. En el caso de la vitamina E, se utilizó un preparado estandarizado también de la marca **Sigma-Adrich®**. Y por último, para los ácidos grasos  $\omega$ -3 se usó también un suplemento alimenticio de aceite de salmón de la marca **PRIME®**.





**VII. RESULTADOS**

**VII.1 Resultados de parámetros control vs tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub>**

Los resultados mostrados a continuación muestran la nefrotoxicidad aguda producida por las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) a los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.). (Tablas VII.1-1 a VII.1-13 y figuras VII.1-1 a VII.1-13)

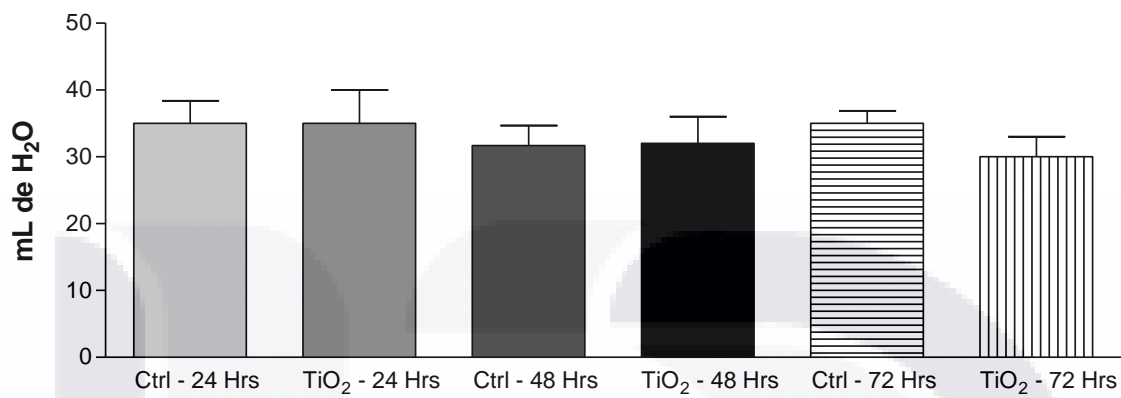
**Consumo de agua**

La cantidad de agua consumida por los animales de experimentación tratados con las NPs de TiO<sub>2</sub> no presentó diferencias significativas con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24,24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con las nanopartículas.

**Tabla VII.1-1** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre el consumo de agua de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Consumo de agua (ml de H<sub>2</sub>O)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Control negativo (n = 6)	35 ± 3.4	32 ± 3	35 ± 3
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	35 ± 5	32 ± 4	30 ± 3

**CONSUMO DE AGUA**



**Figura VII.1-1 Consumo de agua de ratas Wistar machosm tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios(±eem).**

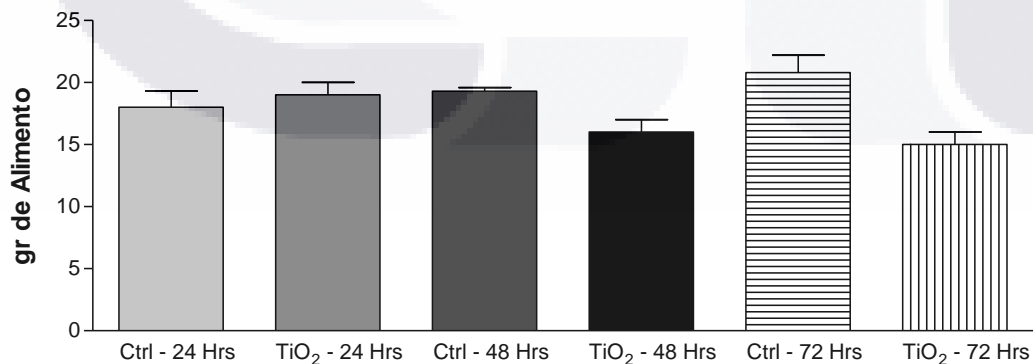
**Consumo de alimento**

La cantidad de alimento consumido por los animales de experimentación tratados con las NPs de TiO<sub>2</sub> no presentó diferencias significativas con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con las nanopartículas.

**Tabla VII.1-2** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre el consumo de alimento de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Consumo de alimento (gr)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Control negativo (n = 6)	19 $\pm$ 1	19 $\pm$ 0	21 $\pm$ 1
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	19 $\pm$ 1	16 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1

**CONSUMO DE ALIMENTO**



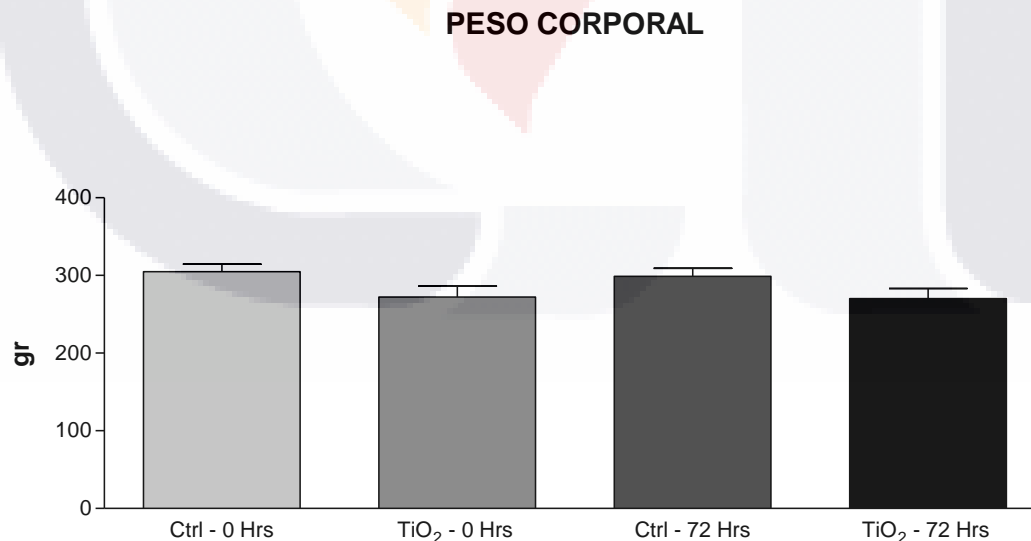
**Figura VII.1-2** Consumo de alimento de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios( $\pm$ eem).

**Peso corporal**

El peso corporal de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub> con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue medido al inicio del experimento (0 hrs.) y al final (72 hrs.).

**Tabla VII.1-3** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre el peso corporal de los animales de experimentación obtenido a las 0 y 72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Peso corporal (gr)		
Grupo	0 hrs	72 hrs
Control negativo (n = 6)	305 ± 10	299 ± 11
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	272 ± 11	272 ± 13



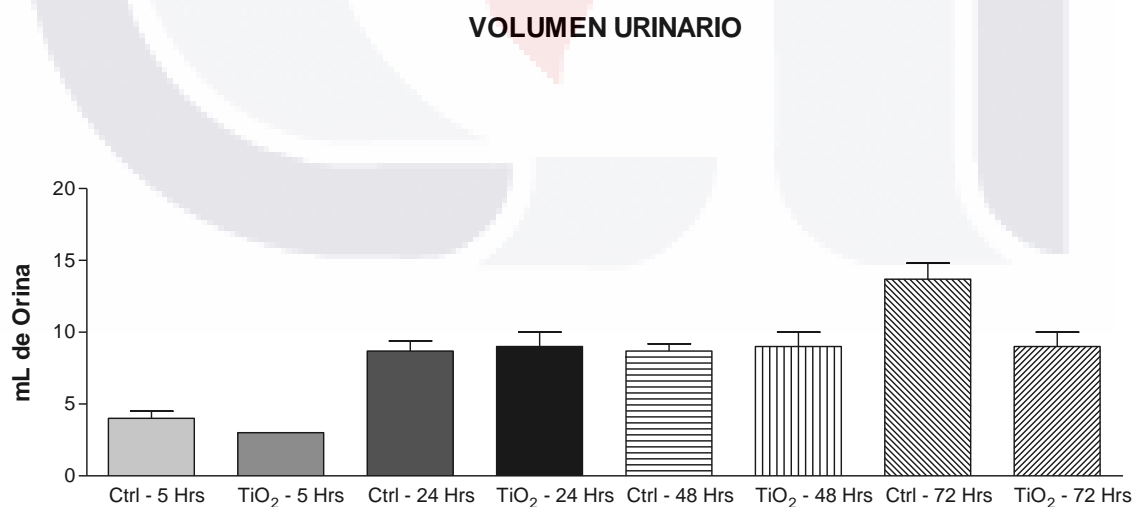
**Figura VII.1-3** Peso corporal de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

**Volumen urinario**

El volumen urinario de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub> con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que los valores de este parámetro en el tiempo de 0-5 hrs, fueron menores que en los demás, debido al corto tiempo que representa dicho periodo de muestreo, en comparación con los otros tiempos (5-24, 24-48 y 48-72 hrs.).

**Tabla VII.1-4** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre el volumen urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Volumen urinario (ml)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	4 ± 0.5	9 ± 1	9 ± 0.5	14 ± 1
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	3 ± 0	9 ± 1	9 ± 1	9 ± 1



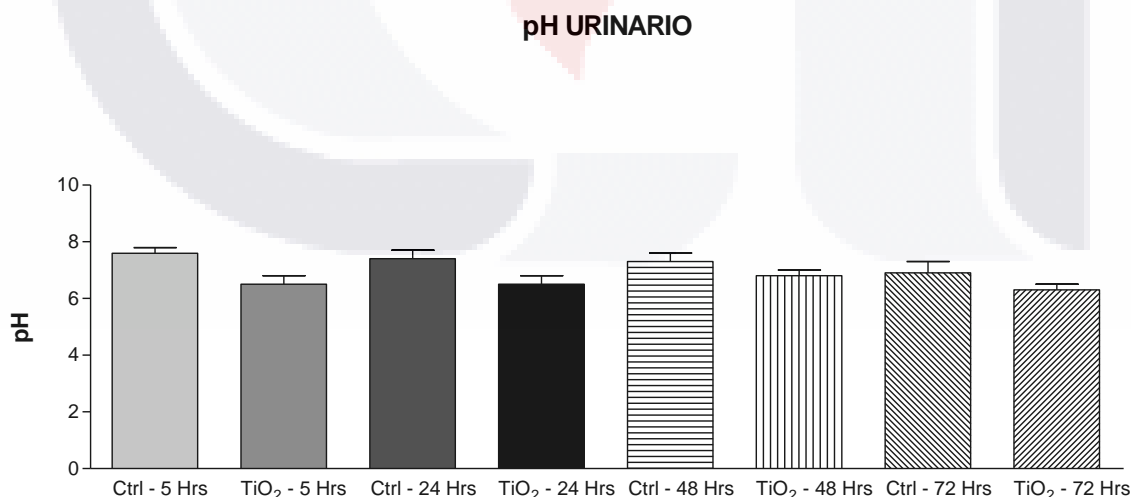
**Figura VII.1-4** Volumen urinario de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

**PH urinario**

El pH urinario de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub> con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con las nanopartículas.

**Tabla VII.1-5** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre el pH urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

pH urinario				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	7.6 $\pm$ 0.2	7.4 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.4
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	6.5 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 0.2	6.3 $\pm$ 0.2



**Figura VII.1-5** pH urinario de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

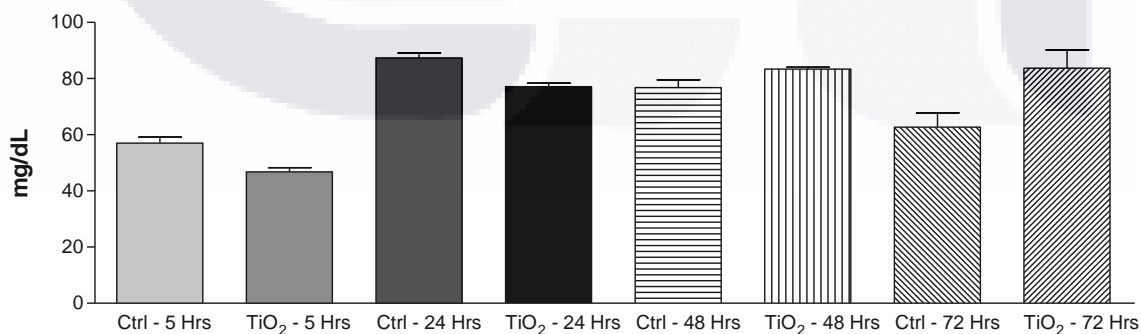
**Creatinina urinaria**

Los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub> con respecto al grupo control al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con las nanopartículas.

**Tabla VII.1-6** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Creatinina urinaria (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	57 $\pm$ 2	87 $\pm$ 2	77 $\pm$ 3	63 $\pm$ 5
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	47 $\pm$ 2	77 $\pm$ 1	83 $\pm$ 1	84 $\pm$ 7

**CREATININA EN ORINA**



**Figura VII.1-6** Concentración de creatinina en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ em).

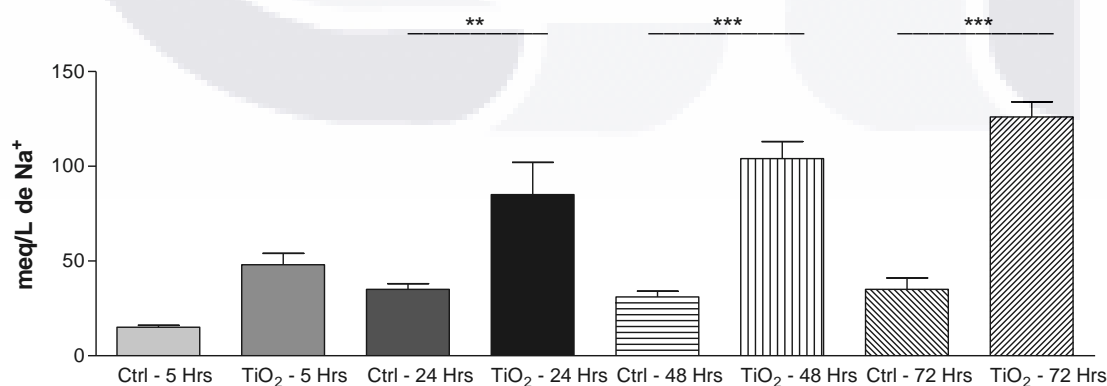
**Concentración urinaria de sodio**

La concentración de sodio en orina de los animales de experimentación, si mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, en los tiempos de 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, el valor de este parámetro fue 2.4 (p<0.01), 3.4 (p<0.001) y 3.6 (p<0.001) veces respectivamente, los valores obtenidos del grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados. Por su parte, en el tiempo de 0-5 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar el grupo tratado con el grupo control.

**Tabla VII.1-7** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la concentración urinaria de sodio de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Concentración urinaria de sodio (meq/L)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	15 ± 1	35 ± 3	31 ± 3	35 ± 6
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	48 ± 6	85 ± 17	104 ± 9	126 ± 8

**SODIO EN ORINA**



**Figura VII.1-7** Concentración de Na<sup>+</sup> en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\*\* = p<0.01, \*\*\* = p<0.001).

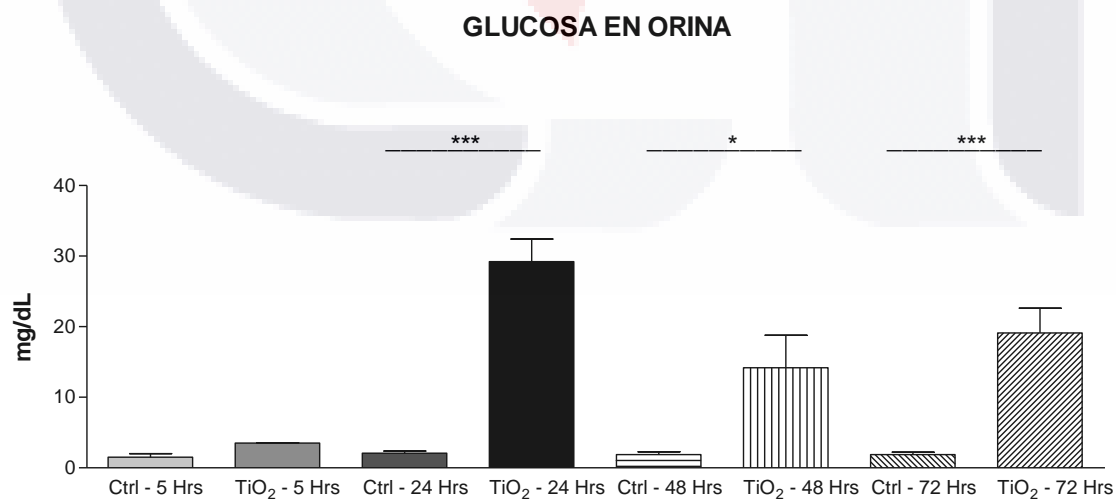


### Concentración urinaria de glucosa

La concentración de glucosa en orina de los animales de experimentación, si mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, en los tiempos de 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, el valor de este parámetro fue 13.9 (p<0.001), 7.5 (p<0.05) y 10.1 (p<001) veces respectivamente, los valores obtenidos del grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados. Por su parte, en el tiempo de 0-5 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar el grupo tratado con el grupo control.

**Tabla VII.1-8** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la concentración urinaria de glucosa de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Concentración urinaria de glucosa (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	1.5 ± 0.5	2.1 ± 0.3	1.9 ± 0.4	1.9 ± 0.3
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	3.5 ± 0.1	29.2 ± 3.2	14.2 ± 4.6	19.1 ± 3.5



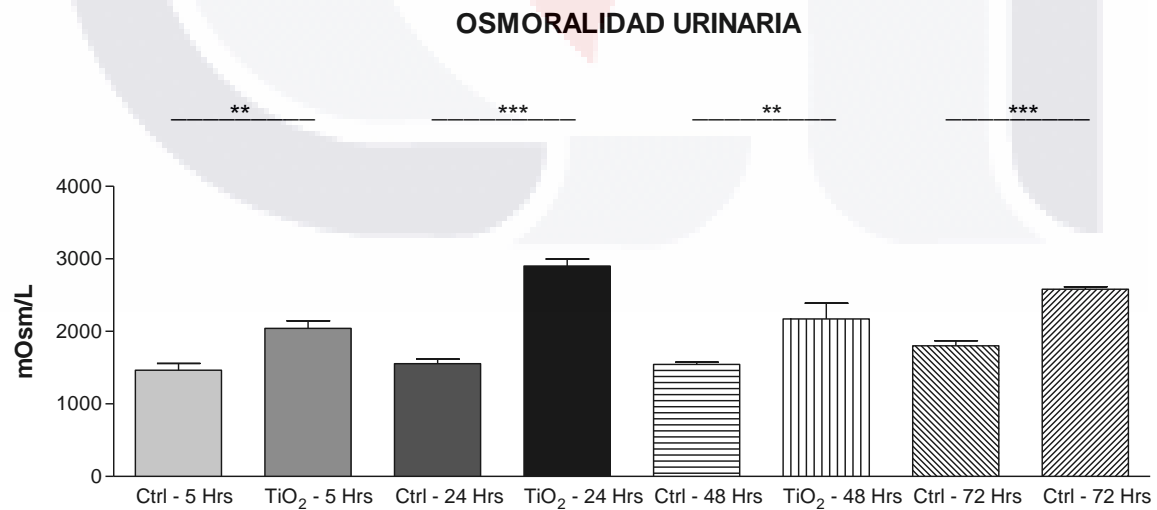
**Figura VII.1-8** Concentración de glucosa en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem). (\* = p<0.05, \*\*\* = p<0.001).

**Osmolaridad urinaria**

Los valores de osmolaridad urinaria de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.), el valor de este parámetro fue 39% (p<0.01), 88% (p<0.001), 41% (p<0.01) y 43% (p<0.001) mayor respectivamente, en relación a los valores obtenidos del grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados.

**Tabla VII.1-9** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la osmolaridad urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Osmolaridad urinaria (mOsm/L)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	1465 ± 94	1554 ± 63	1544 ± 31	1803 ± 70
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	2042 ± 102	2902 ± 97	2170 ± 218	2580 ± 34



**Figura VII.1-9** Osmolaridad en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\*\* = p<0.01, \*\*\* = p<0.001).

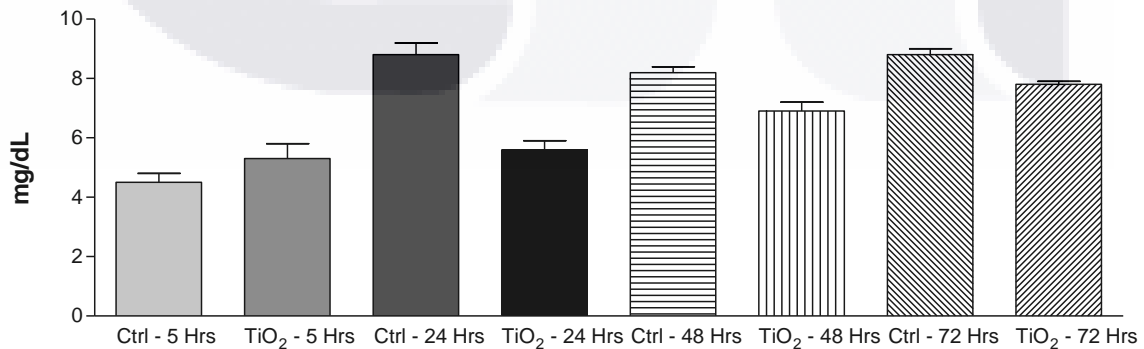
**Concentración urinaria de proteínas**

La concentración de proteínas en orina de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub> con respecto al grupo control al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con las nanopartículas.

**Tabla VI.1-10** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la concentración urinaria de proteínas en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Concentración urinaria de proteínas (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4.5 ± 0.3	8.8 ± 0.4	8.2 ± 0.2	8.8 ± 0.2
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	5.3 ± 0.5	5.6 ± 0.3	6.9 ± 0.3	7.8 ± 0.1

**PROTEINAS EN ORINA**



**Figura VII.1-10** Concentración de proteínas en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

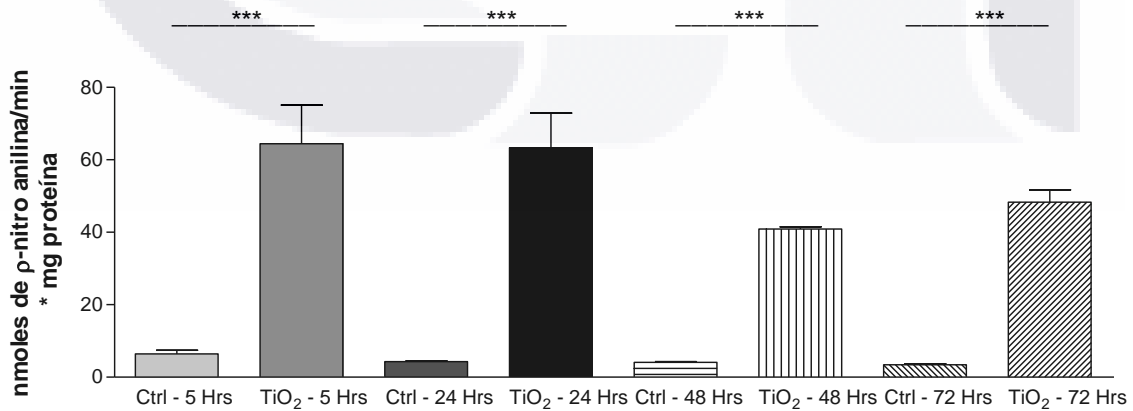
**Actividad específica urinaria de  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa ( $\gamma$ -GTP)**

La valores de la actividad específica de la enzima  $\gamma$ -GTP en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de  $\text{TiO}_2$ , ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.), el valor de este parámetro fue 10 ( $p < 0.001$ ), 14.7 ( $p < 0.001$ ), 10 ( $p < 0.001$ ) y 14.2 ( $p < 0.001$ ) veces respectivamente, los valores obtenidos del grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados.

**Tabla VII.1-11** Efecto de NPs de  $\text{TiO}_2$  sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de <math>\gamma</math>-GTP (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	6.4 $\pm$ 1	4.3 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.3
Tratamiento con $\text{TiO}_2$ (n = 6)	64.4 $\pm$ 10.4	63.3 $\pm$ 9.6	40.9 $\pm$ 0.6	48.3 $\pm$ 3.4

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE  $\text{TP}\gamma\text{G}$  en orina**



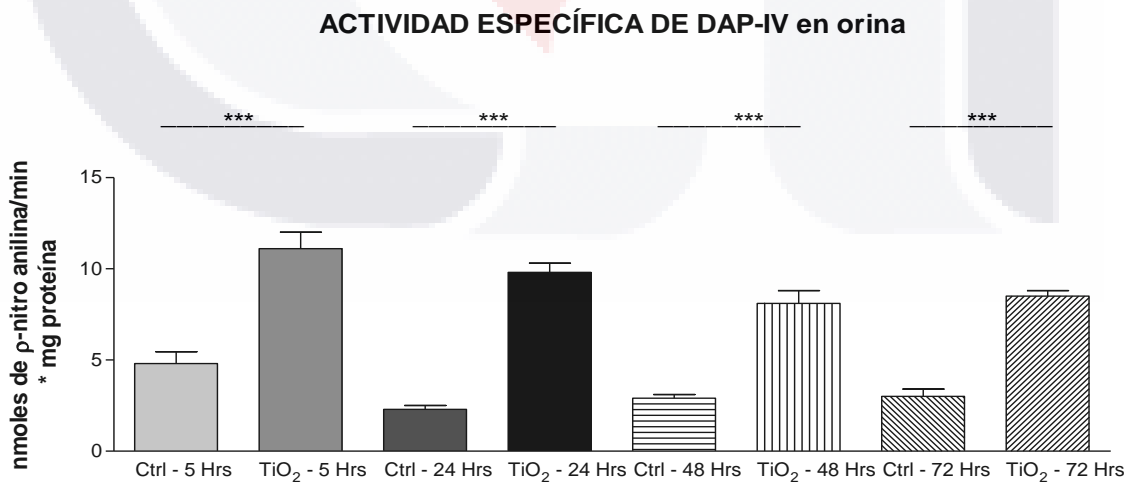
**Figura VII.1-11** Actividad específica de la enzima  $\text{TP}\gamma\text{G}$  en orina de ratas Wistar machos tratadas con  $\text{TiO}_2$  (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem). (\*\*\*) =  $p < 0.001$ .

**Actividad específica urinaria de dipeptidil aminopeptidasa-IV (DAP-IV)**

Los valores de la actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.), el valor de este parámetro fue 2.3 (p<0.001), 4.3 (p<0.001), 2.8 (p<0.001) y 2.4 (p<0.001) veces respectivamente, los valores obtenidos del grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados.

**Tabla VII.1-12** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de DAP-IV (nmol de p-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4.8 ± 0.7	2.3 ± 0.2	2.9 ± 0.2	3.0 ± 0.4
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	11.1 ± 0.9	9.8 ± 0.5	8.1 ± 0.7	8.5 ± 0.3



**Figura VII.1-12** Actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem). (\*\*\*) = p<0.001).

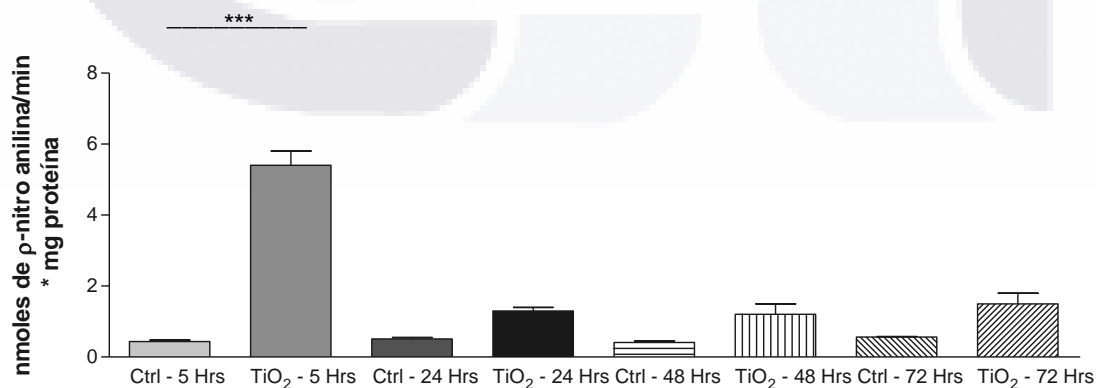
**Actividad específica urinaria de alanino aminopeptidasa (APA)**

Los valores de la actividad específica de la enzima APA en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub>, ya que en el tiempo de 0-5 hrs, el valor de este parámetro fue 13.5 (p<0.001) veces, el valor del grupo control al comparar el mismo tiempo antes mencionado. Cabe señalar que no se observaron diferencias significativas en los tiempos de 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, al comparar el grupo tratado con el grupo control.

**Tabla VII.1-13** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la actividad específica urinaria de APA en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de APA (nmol de p-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	0.4 ± 0.04	0.5 ± 0.04	0.4 ± 0.4	0.6 ± 0.02
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	5.4 ± 0.4	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.3	1.5 ± 0.3

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE APA en orina**



**Figura VII.1-13** Actividad específica de la enzima APA en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem). (\*\*\*) p<0.001).

**VII.2 Resultados de parámetros control vs el tratamiento con extracto estandarizado de Ginko biloba (Gb).**

Los resultados mostrados a continuación muestran una comparación de los datos recabados a partir de ratas control, con los obtenidos de ratas tratadas con el extracto estandarizado de Ginko biloba (10mg/kg i.p.), para corroborar la ausencia de nefrotoxicidad por el Gb en los animales de experimentación y de ésta forma hacer uso seguro de este extracto como agente protector contra la nefrotoxicidad producida por las NPs de TiO<sub>2</sub>. (Tablas VII.2-1 a VII.2-13 y Figuras VII.2-1 a VII.2-13).

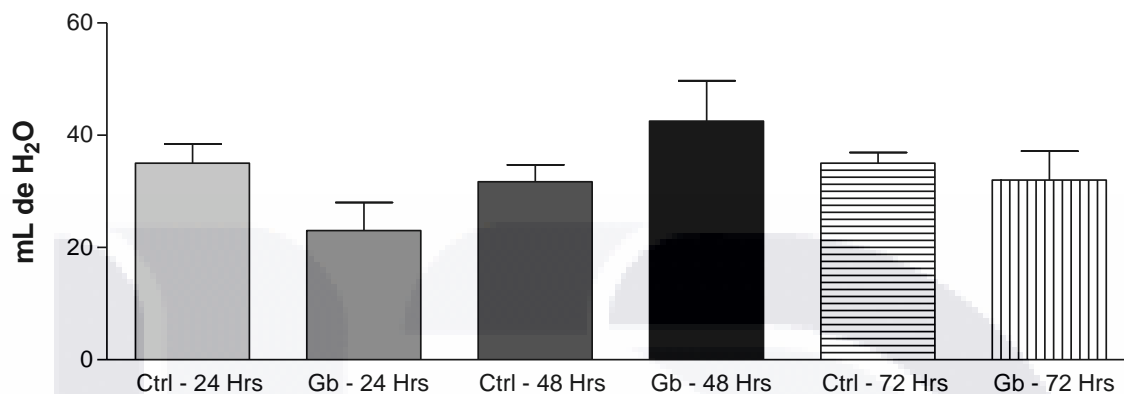
**Consumo de agua**

La cantidad de agua consumida por los animales de experimentación tratadas con Gb no presentó diferencias significativas con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-1** Efecto del Gb sobre el consumo de agua de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Consumo de agua (ml de H<sub>2</sub>O)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Control negativo (n = 6)	35 $\pm$ 3.4	32 $\pm$ 3	35 $\pm$ 3
Tratamiento con Gb (n = 6)	23 $\pm$ 5	43 $\pm$ 7	32 $\pm$ 5

**CONSUMO DE AGUA**



**Figura VII.2-1 Consumo de agua de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).**



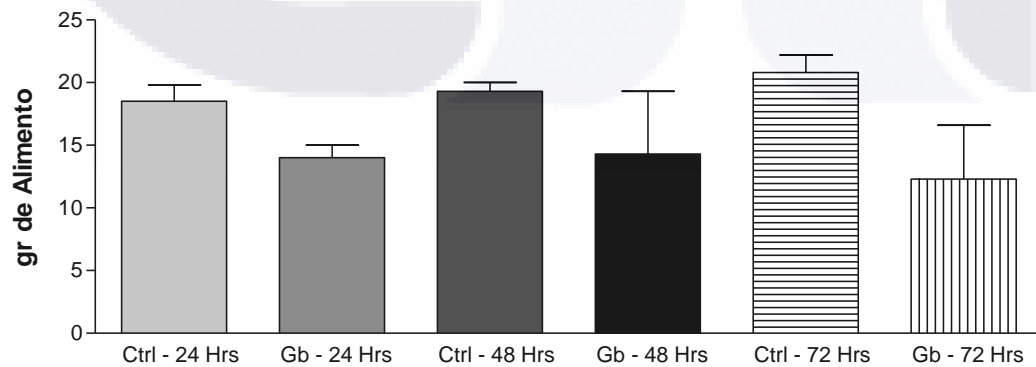
**Consumo de alimento**

La cantidad de alimento consumido por los animales de experimentación tratados con Gb no presentó diferencias significativas con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-2** Efecto del Gb de sobre el consumo de alimento de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Consumo de alimento (gr)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Control negativo (n = 6)	19 $\pm$ 1	19 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1
Tratamiento con Gb (n = 6)	14 $\pm$ 1	14 $\pm$ 5	12 $\pm$ 4

**CONSUMO DE ALIMENTO**



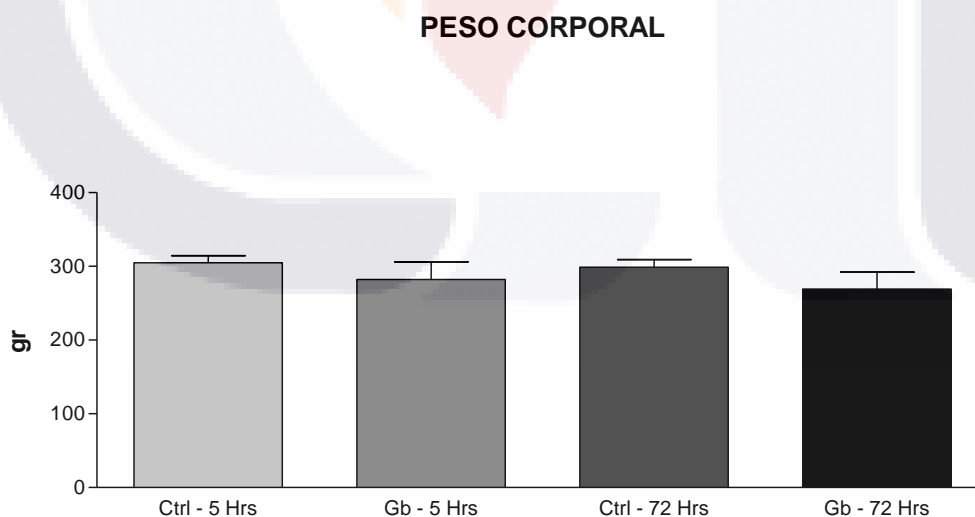
**Figura VII.2-2** Consumo de alimento de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem)

**Peso corporal**

El peso corporal de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue medido al inicio del experimento (0 hrs.) y al final (72 hrs.), después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-3** Efecto del Gb sobre el peso corporal de los animales de experimentación obtenido a las 0 y 72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Peso corporal (gr)		
Grupo	0 hrs	72 hrs
Control negativo (n = 6)	305 $\pm$ 10	299 $\pm$ 11
Tratamiento con Gb (n = 6)	282 $\pm$ 24	269 $\pm$ 23



**Figura VII.2-3** Peso corporal de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem)

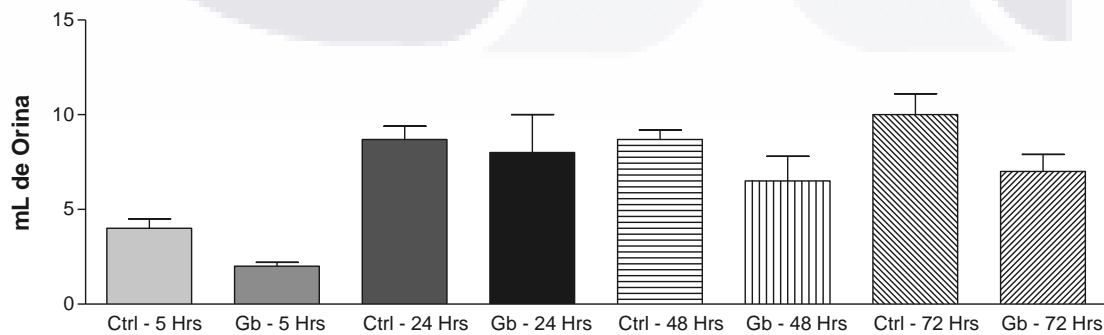
**Volumen urinario**

El volumen urinario de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que los valores de este parámetro en el tiempo de 0-5 hrs, fueron menores que en los demás debido al corto tiempo que representa dicho período de muestreo, en comparación con los otros tiempos (5-24, 24-48 y 48-72 hrs.).

**Tabla VII.2-4** Efecto del Gb sobre el volumen urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Volumen urinario (ml)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	4 $\pm$ 0.5	9 $\pm$ 1	9 $\pm$ 0.5	14 $\pm$ 1
Tratamiento con Gb (n = 6)	2 $\pm$ 0.2	8 $\pm$ 0.2	7 $\pm$ 1	7 $\pm$ 1

**VOLUMEN URINARIO**



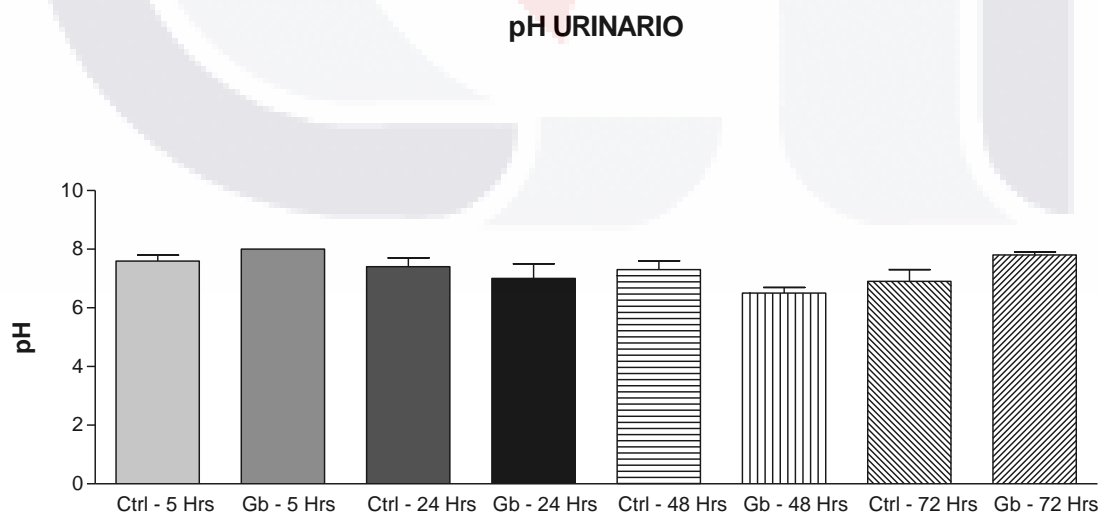
**Figura VII.2-4** Volumen urinario de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

**PH urinario**

El pH urinario de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-5** Efecto del Gb sobre el pH urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

pH urinario				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	7.6 $\pm$ 0.2	7.4 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.4
Tratamiento con Gb (n = 6)	8 $\pm$ 0.0	7 $\pm$ 0.5	6.5 $\pm$ 0.2	7.8 $\pm$ 0.1



**Figura VII.2-5** pH urinario de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

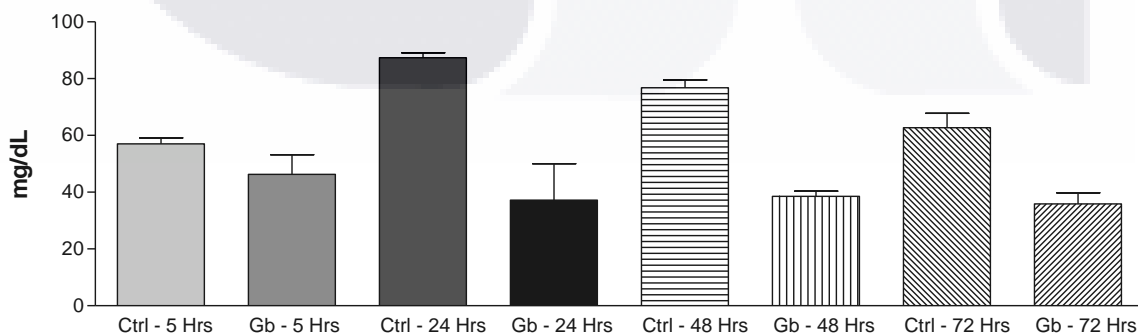
**Creatinina urinaria**

Los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-6** Efecto del Gb sobre los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Creatinina urinaria (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	57 $\pm$ 2	87 $\pm$ 2	77 $\pm$ 3	63 $\pm$ 5
Tratamiento con Gb (n = 6)	46 $\pm$ 7	37 $\pm$ 13	39 $\pm$ 2	36 $\pm$ 4

**CREATININA EN ORINA**



**Figura VII.2-6** Concentración de creatinina en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

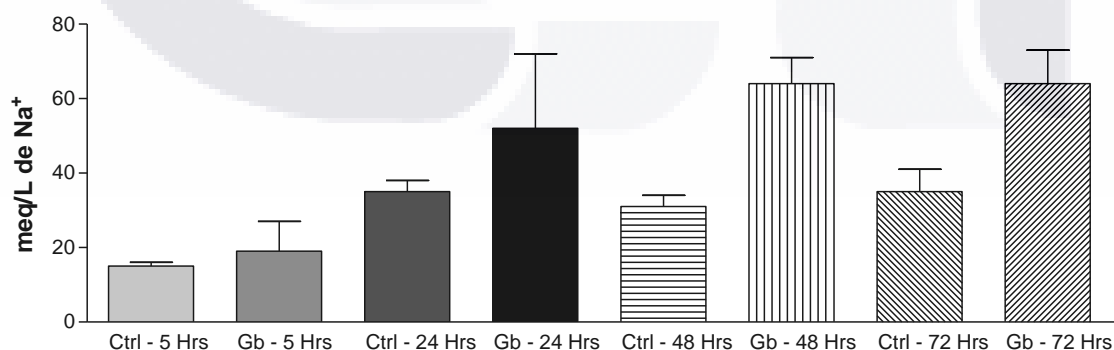
**Concentración urinaria de sodio**

La concentración de sodio en orina de los animales de experimentación, no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-7** Efecto del Gb sobre la concentración urinaria de sodio de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Concentración urinaria de sodio (meq/L)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	15 $\pm$ 1	35 $\pm$ 3	31 $\pm$ 3	35 $\pm$ 6
Tratamiento con Gb (n = 6)	19 $\pm$ 8	52 $\pm$ 20	64 $\pm$ 8	64 $\pm$ 9

**SODIO EN ORINA**



**Figura VII.2-7** Concentración de Na<sup>+</sup> en orina de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

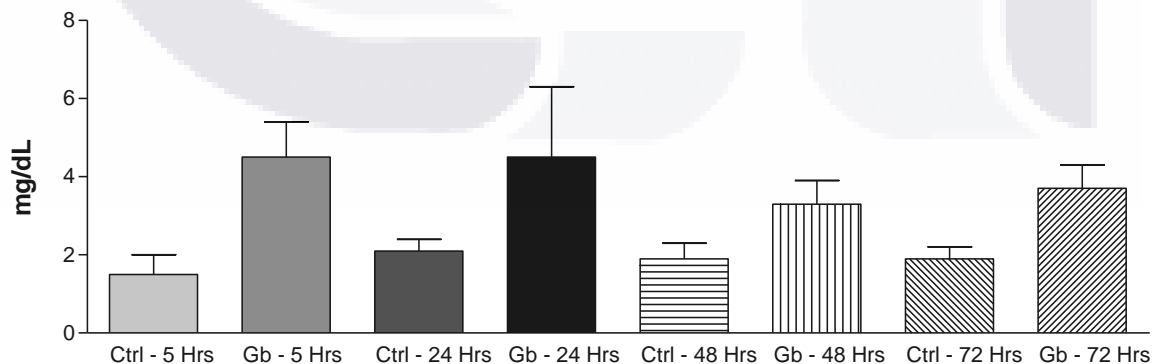
**Concentración urinaria de glucosa**

La concentración de glucosa en orina de los animales de experimentación, no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-8** Efecto del Gb sobre la concentración urinaria de glucosa de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Concentración urinaria de glucosa (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	1.5 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.4	1.9 $\pm$ 0.3
Tratamiento con Gb (n = 6)	4.5 $\pm$ 0.9	4.5 $\pm$ 1.8	3.3 $\pm$ 0.6	3.7 $\pm$ 0.6

**GLUCOSA EN ORINA**



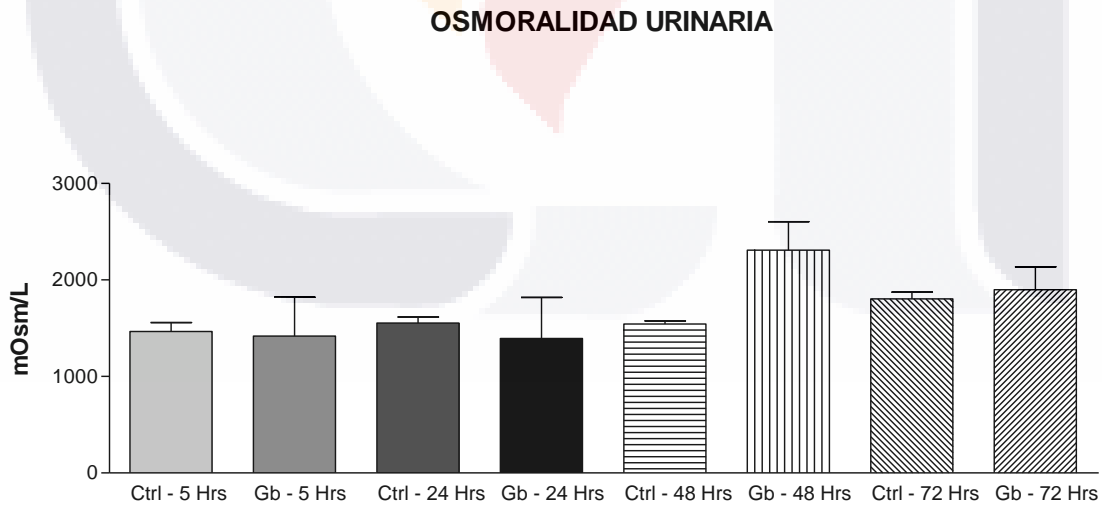
**Figura VII.2-8** Concentración de glucosa en orina de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem)

**Osmolaridad urinaria**

Los valores de osmolaridad urinaria de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-9** Efecto del Gb sobre la osmolaridad urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Osmolaridad urinaria (mOsm/L)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	1465 $\pm$ 94	1554 $\pm$ 63	1544 $\pm$ 31	1803 $\pm$ 70
Tratamiento con Gb (n = 6)	1419 $\pm$ 403	1393 $\pm$ 426	2308 $\pm$ 295	1899 $\pm$ 236



**Figura VII.2-9** Osmolaridad en orina de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).



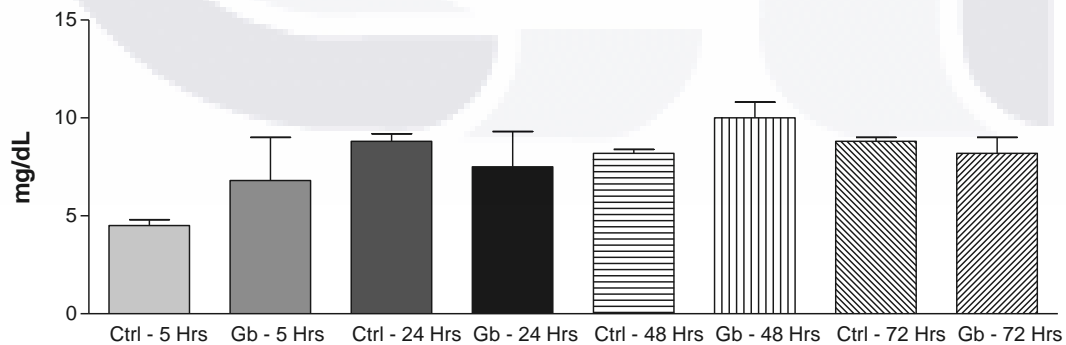
**Concentración urinaria de proteínas**

La concentración de proteínas en orina de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-10** Efecto del Gb sobre la concentración urinaria de proteínas en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Concentración urinaria de proteínas (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4.5 $\pm$ 0.3	8.8 $\pm$ 0.4	8.2 $\pm$ 0.2	8.8 $\pm$ 0.2
Tratamiento con Gb (n = 6)	6.8 $\pm$ 2.2	7.5 $\pm$ 1.8	10 $\pm$ 0.8	8.2 $\pm$ 0.8

**PROTEINAS EN ORINA**



**Figura VII.2-10** Concentración de proteínas en orina de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

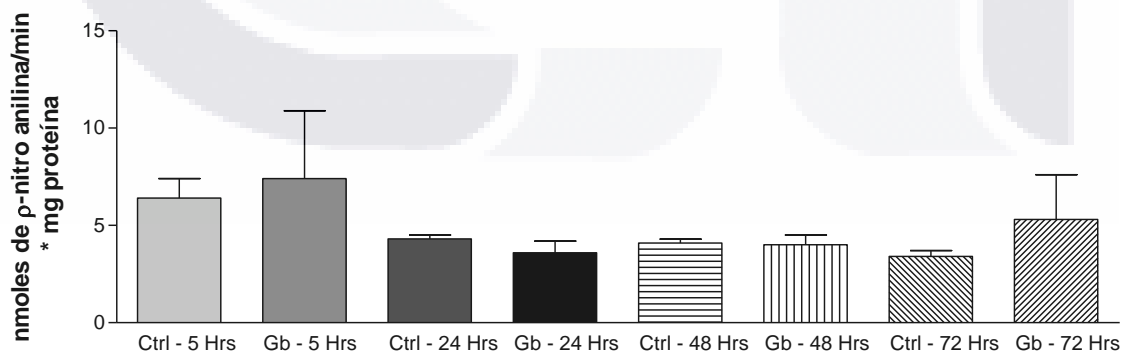
**Actividad específica urinaria de  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa ( $\gamma$ -GTP)**

La valores de la actividad específica de la enzima  $\gamma$ -GTP en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-11** Efecto del Gb sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de <math>\gamma</math>-GTP (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	6.4 $\pm$ 1	4.3 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.3
Tratamiento con Gb (n = 6)	7.4 $\pm$ 3.5	3.6 $\pm$ 0.6	4.0 $\pm$ 0.5	5.3 $\pm$ 2.3

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE TP $\gamma$ G en orina**



**Figura VII.2-11** Actividad específica de la enzima TP $\gamma$ G en orina de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem). ( e-f P<0.001, g-h P<0.001).

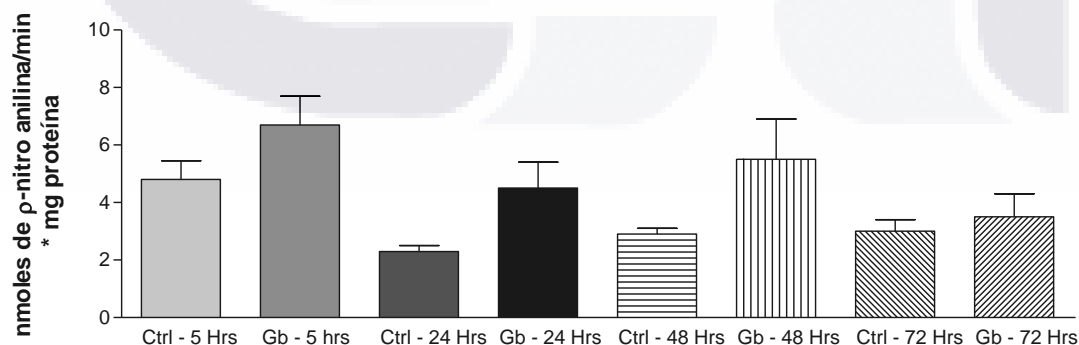
**Actividad específica urinaria de dipeptidil aminopeptidasa-IV (DAP-IV)**

Los valores de la actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-12** Efecto del Gb sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de DAP-IV (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4.8 $\pm$ 0.7	2.3 $\pm$ 0.2	2.9 $\pm$ 0.2	3.0 $\pm$ 0.4
Tratamiento con Gb (n = 6)	6.7 $\pm$ 1	4.5 $\pm$ 0.9	5.5 $\pm$ 1.4	3.5 $\pm$ 0.8

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE DAP-IV en orina**



**Figura VII.2-12** Actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

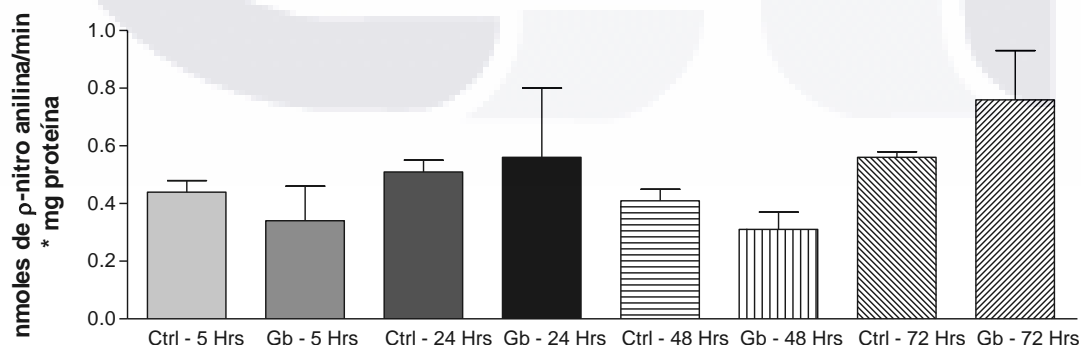
**Actividad específica urinaria de alanino aminopeptidasa (APA)**

Los valores de la actividad específica de la enzima APA en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.2-13** Efecto del Gb sobre la actividad específica urinaria de APA en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de APA (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	0.4 $\pm$ 0.04	0.5 $\pm$ 0.04	0.4 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.02
Tratamiento con Gb (n = 6)	0.3 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.2	0.3 $\pm$ 0.06	0.8 $\pm$ 0.2

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE APA en orina**



**Figura VII.2-13** Actividad específica de la enzima APA en orina de ratas Wistar machos tratadas con Gb (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

**VII.3 Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> vs el tratamiento con extracto estandarizado de Ginko biloba (Gb).**

Los resultados mostrados a continuación muestran una comparación de los datos recabados a partir de ratas tratadas con NPs de TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) mostrados anteriormente, con los obtenidos de ratas tratadas con el extracto estandarizado de Ginko biloba (10mg/kg i.p.), más el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.), administradas un día después del tratamiento con el extracto estadarizado mencionado. (Ver apartado “**Materiales y métodos**”). Lo anterior, con la finalidad de observar efecto protector del Ginko biloba sobre la nefrotoxicidad aguda producida por las nanopartículas de TiO<sub>2</sub>. (Tablas VII.3-1 a VII.3-13 y Figuras VII.3-1 a VII.3-13).

**Consumo de agua**

La cantidad de agua consumida por los animales de experimentación tratados con Gb +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre si. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24,24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3-1** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el consumo de agua de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Consumo de agua (ml de H<sub>2</sub>O)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	35 ± 5	32 ± 4	30 ± 4
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	25 ± 3	38 ± 2	33 ± 2

CONSUMO DE AGUA

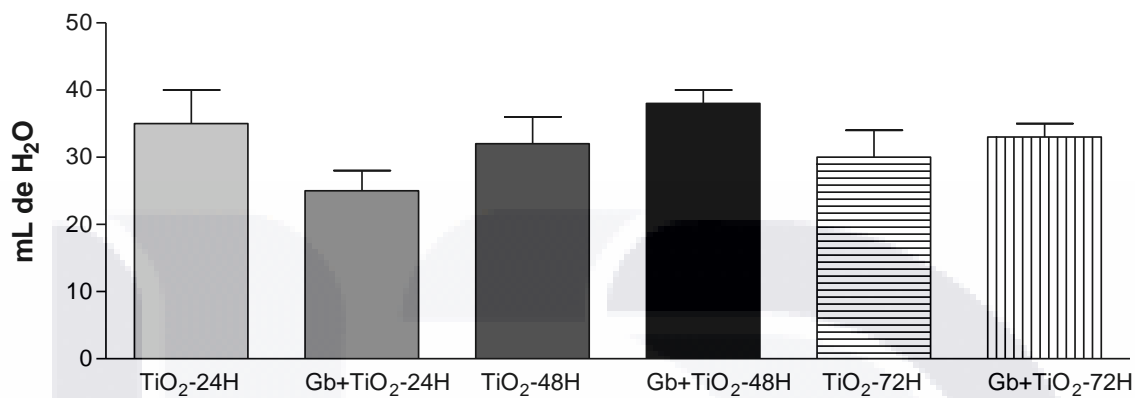


Figura VII.3-1 Consumo de agua de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

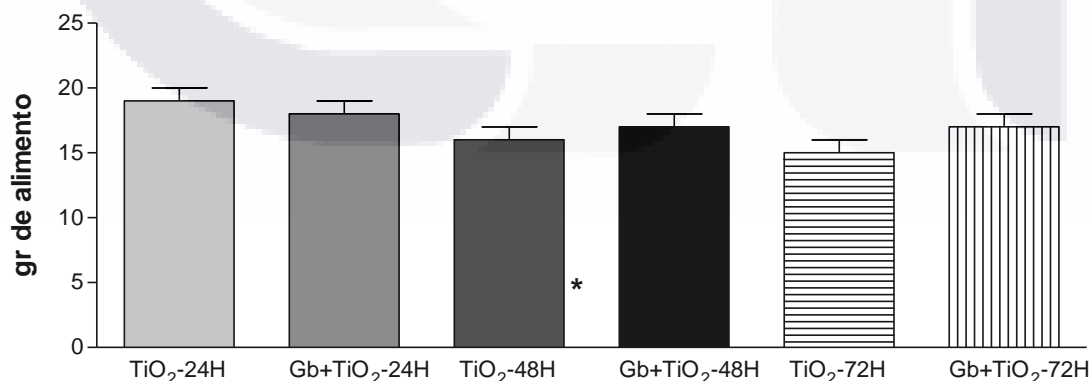
**Consumo de alimento**

La cantidad de alimento consumido por los animales de experimentación tratados con Gb +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre si. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24,24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3-2** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el consumo de alimento de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Consumo de alimento (gr)			
Grupo	0-24 hrs	24-48 hrs	48-72 hrs
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	19 ± 1	16 ± 1	15 ± 1
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	18 ± 1	17 ± 1	17 ± 1

**CONSUMO DE ALIMENTO**



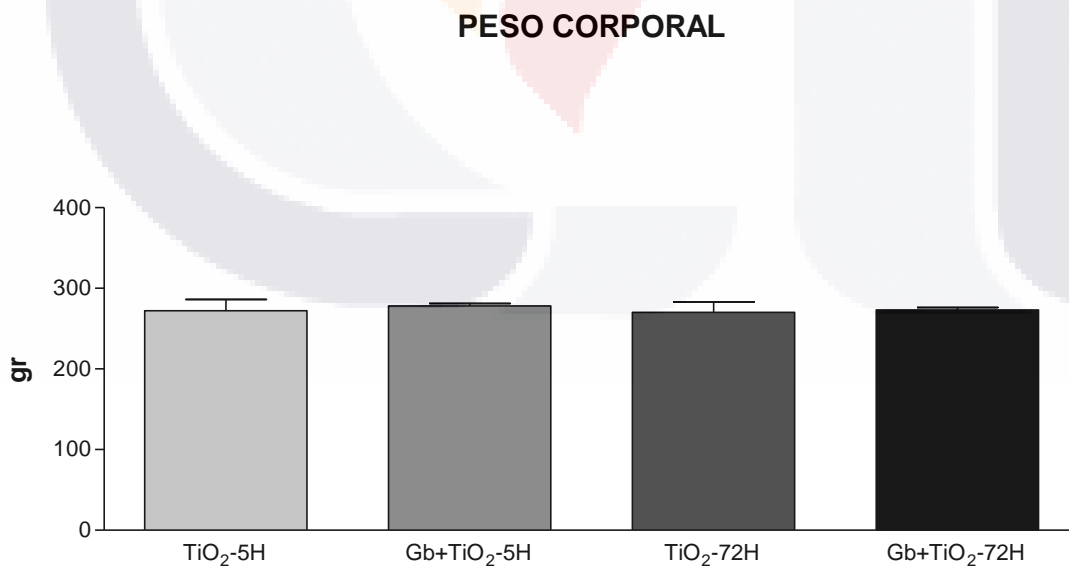
**Figura VII.3-2** Consumo de alimento de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

**Peso corporal**

El peso corporal de los animales de experimentación tratados con Gb +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre si. Cabe mencionar que este parámetro fue medido al inicio del experimento (0 hrs.) y al final (72 hrs.), después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3-3** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el peso corporal de los animales de experimentación obtenido a las 0 y 72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Peso corporal (gr)		
Grupo	0 hrs	72 hrs
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	272 ± 11	272 ± 13
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	278 ± 3	273 ± 3



**Figura VII.3-3** Peso corporal de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) Se expresan los valores medios (±eem)



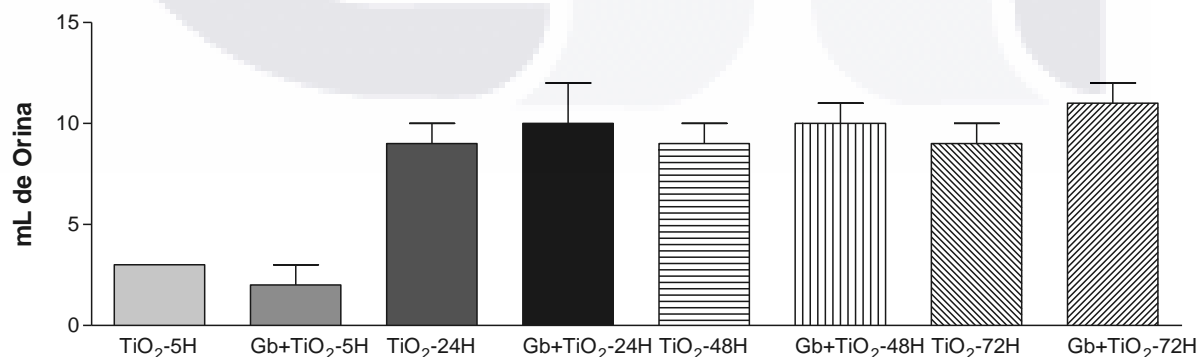
**Volumen urinario**

El volumen urinario de los animales de experimentación tratados con Gb +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre si. Cabe mencionar que los valores de este parámetro en el tiempo de 0-5 hrs, fueron menores que en los demás debido al corto tiempo que representa dicho período de muestreo, en comparación con los otros tiempos (5-24, 24-48 y 48-72 hrs.).

**Tabla VII.3-4** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el volumen urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Volumen urinario (ml)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	3 ± 0	9 ± 1	9 ± 1	9 ± 1
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	2 ± 0	10 ± 2	10 ± 1	11 ± 1

**VOLUMEN URINARIO**



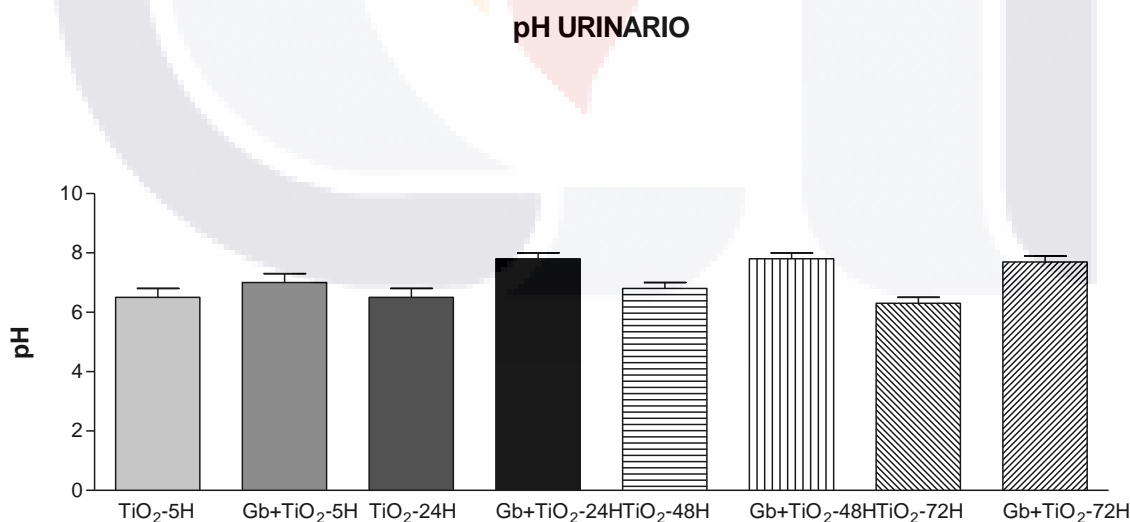
**Figura VII.3-4** Volumen urinario de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

**PH urinario**

El pH urinario de los animales de experimentación tratados con Gb +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre si. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-5** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por de NPs de TiO<sub>2</sub> en el pH urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

pH urinario				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	6.5 ± 0.3	6.5 ± 0.3	6.8 ± 0.2	6.3 ± 0.2
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	7 ± 0.3	7.8 ± 0.2	7.8 ± 0.2	7.7 ± 0.2



**Figura VII.3-5** pH urinario de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

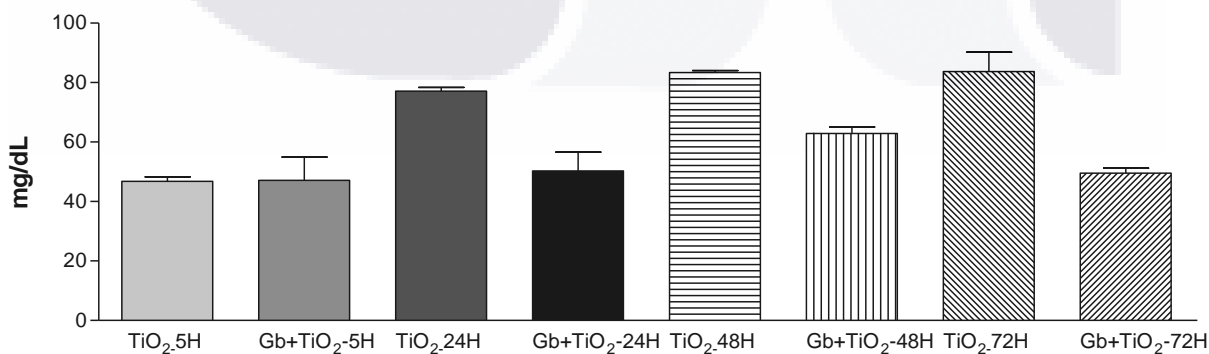
**Creatinina urinaria**

Los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación tratados con Gb +TiO<sub>2</sub>, no presentaron diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre si. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3-6** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Creatinina urinaria (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	47 ± 2	77 ± 1	83 ± 1	84 ± 7
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	47 ± 8	50 ± 6	63 ± 2	50 ± 1

**CREATININA EN ORINA**



**Figura VII.3-6** Concentración de creatinina en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

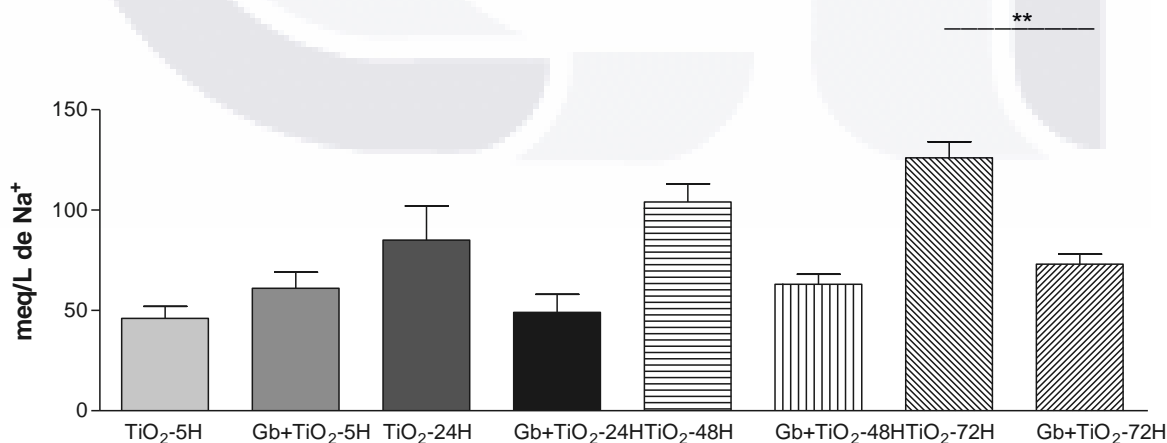
**Concentración urinaria de sodio**

La concentración de sodio en orina de los animales de experimentación, si mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, en el tiempo de 48-72 hrs, el valor de este parámetro fue 72.6% (p<0.01) menor, en relación al valor obtenido en el tratamiento con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, comparando el mismo tiempo evaluado. Por su parte, en los tiempos de 0-5, 5-24 y 24-48 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar los grupos tratados mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3-7** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la concentración urinaria de sodio de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Concentración urinaria de sodio (meq/L)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	48 ± 6	85 ± 17	104 ± 9	126 ± 8
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	61 ± 8	49 ± 9	63 ± 5	73 ± 5

**SODIO EN ORINA**



**Figura VII.3-7** Concentración de Na<sup>+</sup> en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\*\* = P<0.01).

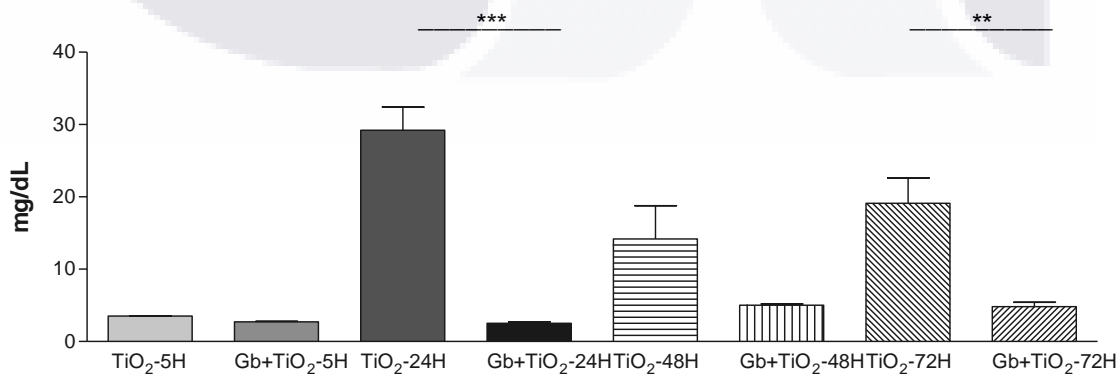
**Concentración urinaria de glucosa**

La concentración de glucosa en orina de los animales de experimentación, si mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, en los tiempos de 5-24 y 48-72 hrs, el valor de este parámetro disminuyó en 11.7 (p<0.001), 4 (p<0.01) veces respectivamente, en relación a los valores obtenidos en el tratamiento con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados. Por su parte, en el tiempo de 0-5 y 24-48 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar el grupo tratado con el grupo control, aunque en este último la tendencia fue la misma que los tiempos donde sí se mostraron diferencias significativas.

**Tabla VII.3-8** Efecto de Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la concentración urinaria de glucosa de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Concentración urinaria de glucosa (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	3.5 ± 0.1	29.2 ± 3.2	14.2 ± 4.6	19.1 ± 3.5
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	2.7 ± 0.1	2.5 ± 0.2	5.0 ± 0.2	4.8 ± 0.6

**GLUCOSA EN ORINA**



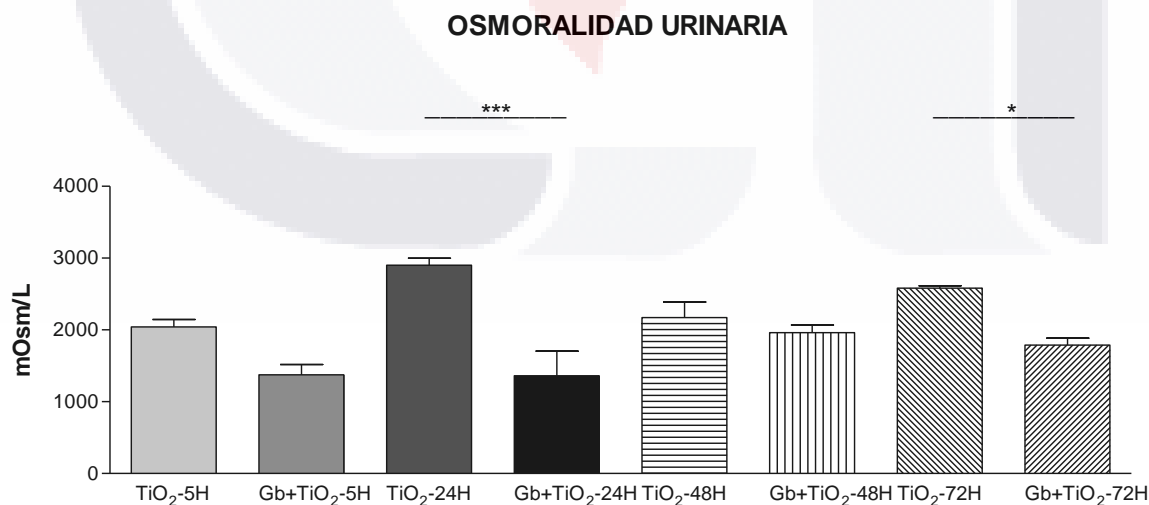
**Figura VII.3-8** Concentración de glucosa en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\*\* = p<0.01, \*\*\* = p<0.001).

**Osmolaridad urinaria**

Los valores de osmolaridad urinaria de los animales de experimentación si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a los tiempos de 5-24 y 48-72 hrs, el valor de este parámetro disminuyó en un 53.1% y 30.7% (p<0.05) respectivamente, en relación a los valores obtenidos en el tratamiento con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, comparando los mismo tiempos evaluados. Por su parte, en los tiempos de 0-5 y 24-48 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar los grupos tratados mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3-9** Efecto de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la osmolaridad urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Osmolaridad urinaria (mOsm/L)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	2042 ± 102	2902 ± 97	2170 ± 218	2580 ± 34
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	1374 ± 145	1361 ± 343	1963 ± 106	1787 ± 99



**Figura VII.3-9** Osmolaridad en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\* = p<0.05, \*\*\* = p<0.001).

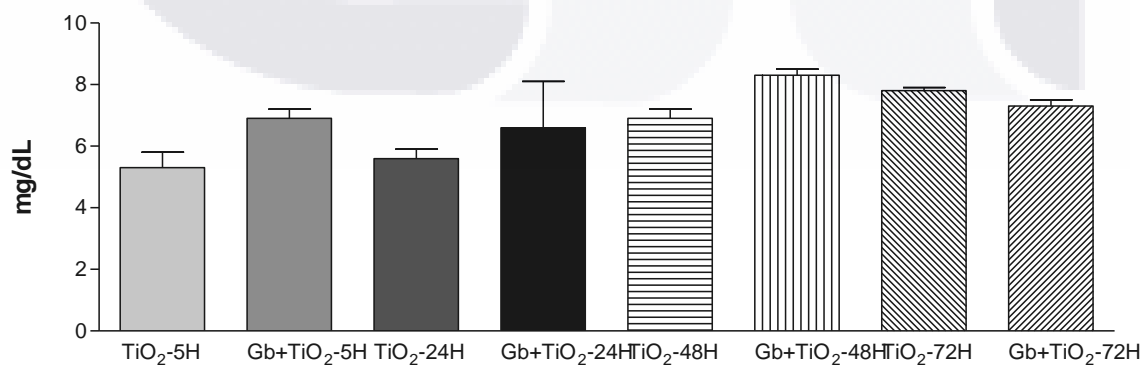
**Concentración urinaria de proteínas**

La concentración de proteínas en orina de los animales de experimentación, no presentó diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb + TiO<sub>2</sub>, con respecto al grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3.10** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la concentración urinaria de proteínas en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Concentración urinaria de proteínas (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	5.3 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.3	7.8 $\pm$ 0.1
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	6.9 $\pm$ 0.3	6.6 $\pm$ 1.5	8.3 $\pm$ 0.2	7.3 $\pm$ 0.2

**PROTEINAS EN ORINA**



**Figura VII.3-10** Concentración de proteínas en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

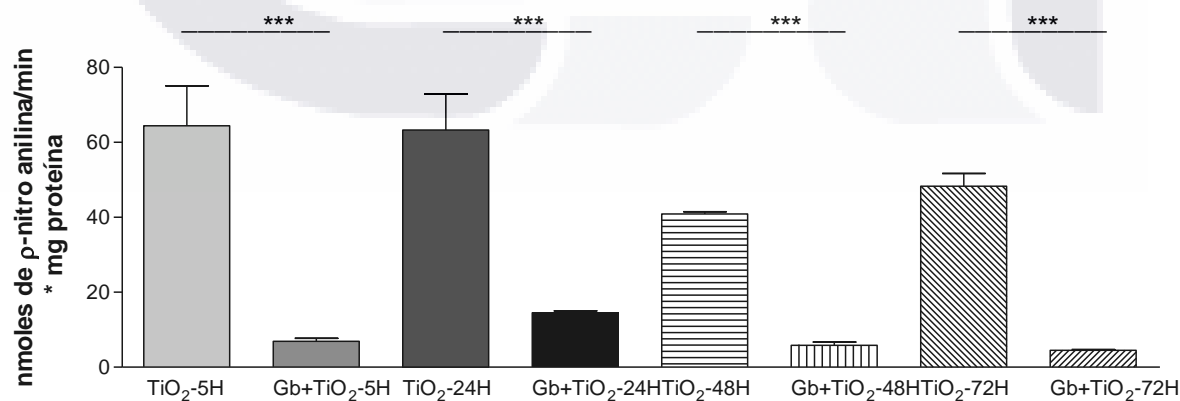
**Actividad específica urinaria de  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa ( $\gamma$ -GTP)**

La valores de la actividad específica de la enzima  $\gamma$ -GTP en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.), el valor de este parámetro disminuyó 9.3 (p<0.001), 4.4 (p<0.001), 7.0 (p<0.001) y 10.8 (p<0.001) veces respectivamente, los valores obtenidos con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3-11** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de <math>\gamma</math>-GTP (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	64.4 $\pm$ 10.4	63.3 $\pm$ 9.6	40.9 $\pm$ 0.6	48.3 $\pm$ 3.4
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	6.9 $\pm$ 0.8	14.5 $\pm$ 0.5	5.8 $\pm$ 0.9	4.5 $\pm$ 0.2

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE TP $\gamma$ G en orina**



**Figura VII.3-11** Actividad específica de la enzima TP $\gamma$ G en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem). (\*\*\*) = p<0.001).



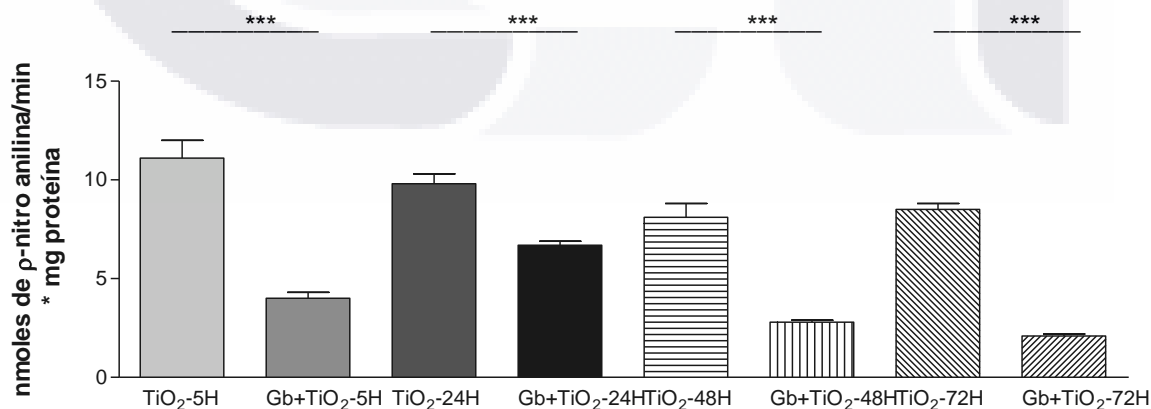
**Actividad específica urinaria de dipeptidil aminopeptidasa-IV (DAP-IV)**

La valores de la actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.), el valor de este parámetro disminuyó 2.8 (p<0.001), 1.5 (p<0.001), 2.9 (p<0.001) y 4.0 (p<0.001) veces respectivamente, los valores obtenidos con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3.12** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de DAP-IV en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de DAP-IV (nmol de p-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	11.1 ± 0.9	9.8 ± 0.5	8.1 ± 0.7	8.5 ± 0.3
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	4.0 ± 0.3	6.7 ± 0.2	2.8 ± 0.1	2.1 ± 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE DAP-IV en orina**



**Figura VII.3-12** Actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Gb (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem). (\*\*\*) = p<0.001).

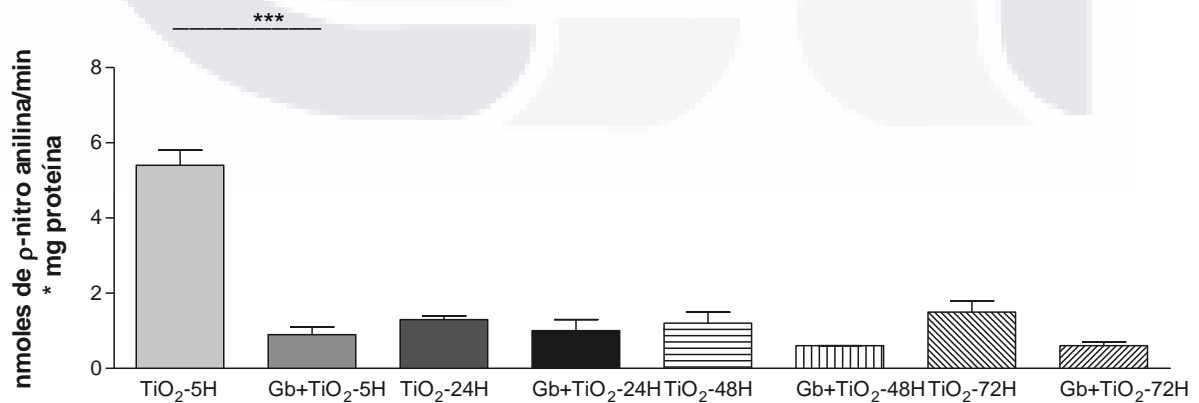
**Actividad específica urinaria de alanino aminopeptidasa (APA)**

La valores de la actividad específica de la enzima APA en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, en el tiempo de 0-5, el valor de este parámetro disminuyó 6 (p<0.001) veces, el valor obtenido con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que en los tiempos 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.3.13** Efecto del Gb sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de APA en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de APA (nmol de p-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	5.4 ± 0.4	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.3	1.5 ± 0.3
Tratamiento con Gb + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.6 ± 0.0	0.6 ± 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE APA en orina**



**Figura VII.3-13** Actividad específica de la enzima APA en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) y con Gb(10mg/kg i.p)+TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem). (\*\*\*) = P<0.001).

**VII.4 Resultados de parámetros control vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Vitamina E.**

Los resultados mostrados a continuación muestran una comparación de los datos recabados a partir de ratas control, con los obtenidos de ratas tratadas con el preparado estandarizado de Vitamina E (10mg/kg i.p.), para corroborar la ausencia de nefrotoxicidad por el la Vit. E en los animales de experimentación y de ésta forma hacer uso seguro de este preparado como agente protector contra la nefrotoxicidad producida por las NPs de TiO<sub>2</sub>. (Tablas VII.4-1 a VII.4-13 y Figuras VII.4-1 a VII.4-13).

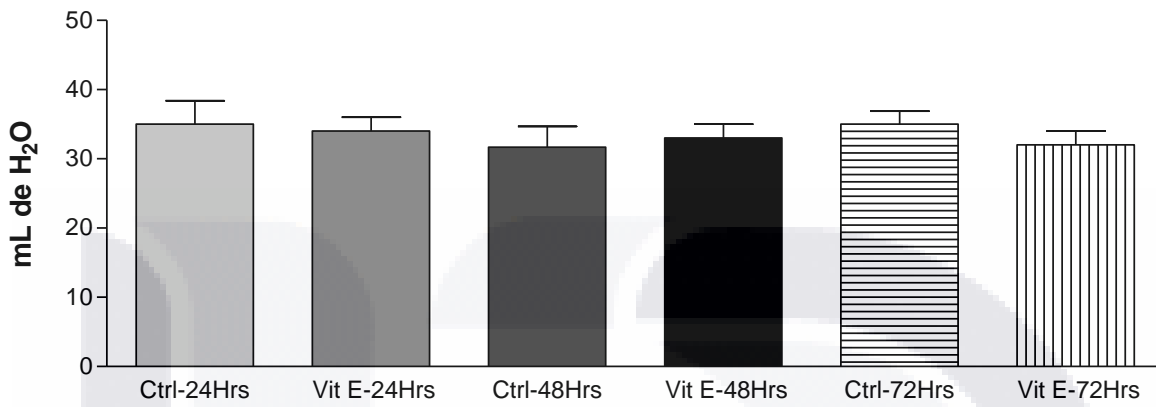
**Consumo de agua**

La cantidad de agua consumida por los animales de experimentación tratadas con Vit. E, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre si. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-1** Efecto de Vit. E sobre el consumo de agua de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Consumo de agua (ml de H<sub>2</sub>O)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Control negativo (n = 6)	35 $\pm$ 3.4	32 $\pm$ 3	35 $\pm$ 3
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	34 $\pm$ 2	33 $\pm$ 2	32 $\pm$ 6

### CONSUMO DE AGUA



**Figura VII.4-1 Consumo de agua de ratas Wistar machos tratadas con Vit E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios (±eem).**

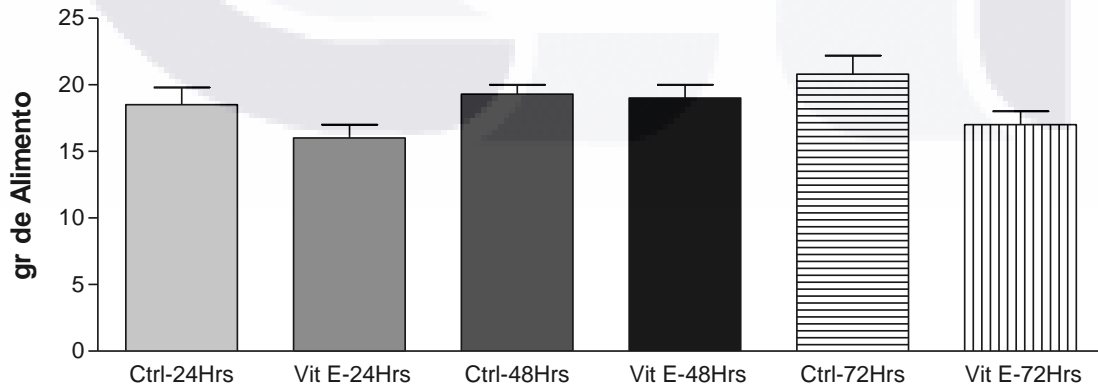
**Consumo de alimento**

La cantidad de alimento consumido por los animales de experimentación tratados con Vit. E no presentó diferencias significativas con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-2** Efecto de Vit. E sobre el consumo de alimento de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Consumo de alimento (gr)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Control negativo (n = 6)	19 $\pm$ 1	19 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	16 $\pm$ 1	19 $\pm$ 1	17 $\pm$ 1

**CONSUMO DE ALIMENTO**



**Figura VII.4-2** Consumo de alimento de ratas Wistar machos tratadas con Vit E(10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem)

**Peso corporal**

El peso corporal de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue medido al inicio del experimento (0 hrs.) y al final (72 hrs.), después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-3** Efecto de Vit. E sobre el peso corporal de los animales de experimentación obtenido a las 0 y 72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Peso corporal (gr)		
Grupo	0 hrs	72 hrs
Control negativo (n = 6)	305 $\pm$ 10	299 $\pm$ 11
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	299 $\pm$ 10	309 $\pm$ 11



**Figura VII.4-3** Peso corporal de ratas Wistar machos tratadas con Vit E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem)

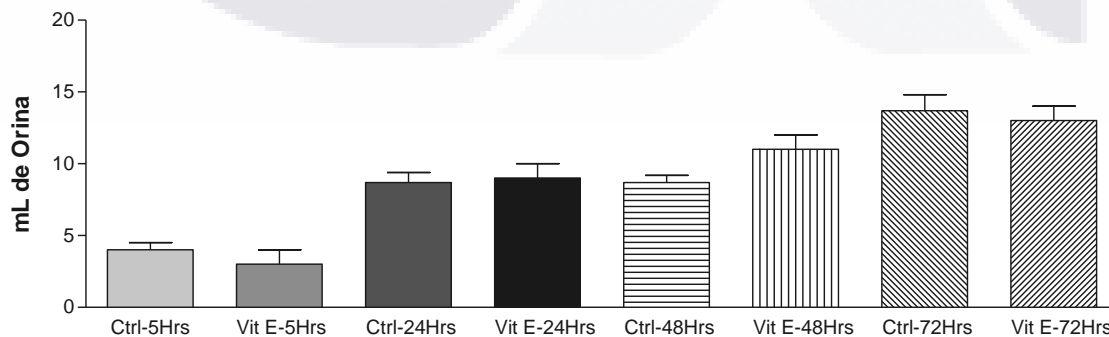
**Volumen urinario**

El volumen urinario de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente. Cabe mencionar que los valores de este parámetro en el tiempo de 0-5 hrs, fueron menores que en los demás tiempos, debido al corto tiempo que representa dicho período de muestreo, en comparación con los otros tiempos (5-24, 24-48 y 48-72 hrs).

**Tabla VII.4-4** Efecto de Vit. E sobre el volumen urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Volumen urinario (ml)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4 $\pm$ 0.5	9 $\pm$ 1	9 $\pm$ 0.5	14 $\pm$ 1
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	3 $\pm$ 0.0	9 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1

**VOLUMEN URINARIO**



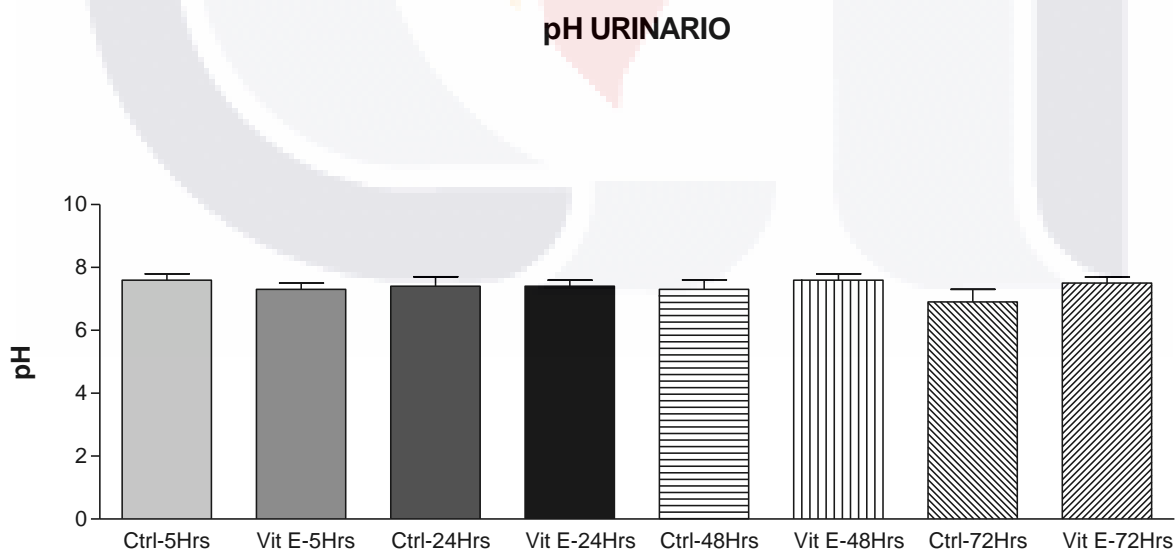
**Figura VII.4-4** Volumen urinario de ratas Wistar machos tratadas con Vit E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$  eem).

**PH urinario**

El pH urinario de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-5** Efecto de Vit. E sobre el pH urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

pH urinario				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	7.6 $\pm$ 0.2	7.4 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.4
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	7.3 $\pm$ 0.2	7.4 $\pm$ 0.2	7.6 $\pm$ 0.2	7.5 $\pm$ 0.2



**Figura VII.4-5** pH urinario de ratas Wistar machos tratadas con Vit E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ em).



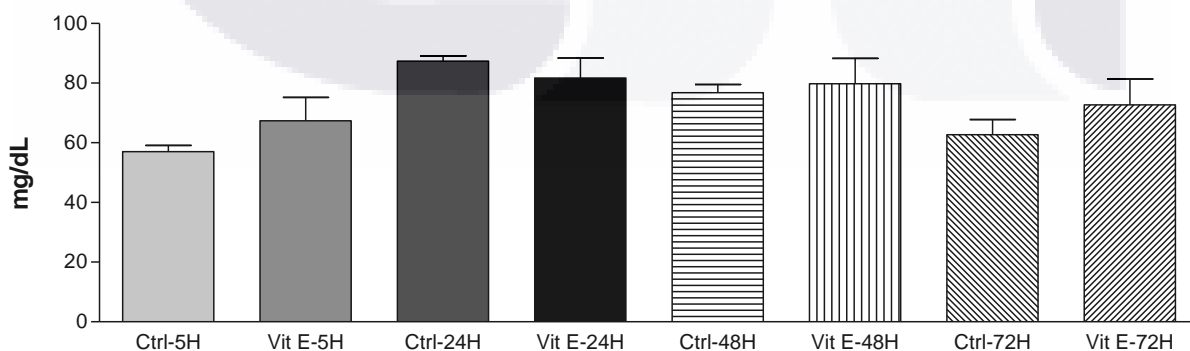
**Creatinina urinaria**

Los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-6** Efecto de Vit. E sobre los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Creatinina urinaria (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	57 $\pm$ 2	87 $\pm$ 2	77 $\pm$ 3	63 $\pm$ 5
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	67 $\pm$ 8	82 $\pm$ 7	80 $\pm$ 8	73 $\pm$ 9

**CREATININA EN ORINA**



**Figura VII.4-6** Concentración de creatinina en orina de ratas Wistar machos tratadas con Vit E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

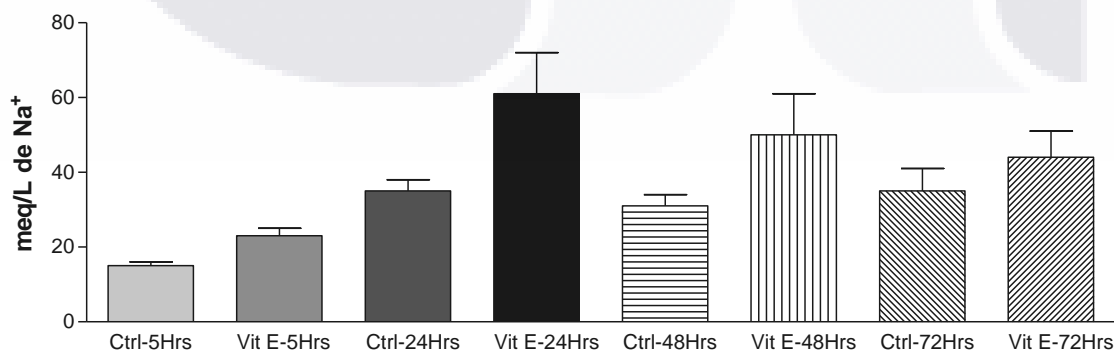
**Concentración urinaria de sodio**

La concentración de sodio en orina de los animales de experimentación, no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-7** Efecto de Vit. E sobre la concentración urinaria de sodio de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Concentración urinaria de sodio (meq/L)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	15 $\pm$ 1	35 $\pm$ 3	31 $\pm$ 3	35 $\pm$ 6
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	23 $\pm$ 2	61 $\pm$ 11	50 $\pm$ 11	44 $\pm$ 7

**SODIO EN ORINA**



**Figura VII.4-7** Concentración de Na<sup>+</sup> en orina de ratas Wistar machos tratadas con Vit E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

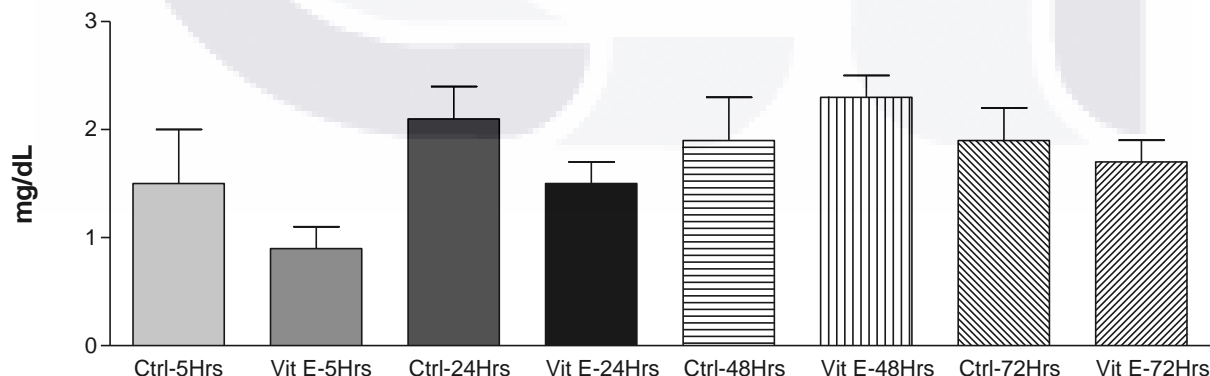
**Concentración urinaria de glucosa**

La concentración de glucosa en orina de los animales de experimentación, no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-8** Efecto de Vit. E sobre la concentración urinaria de glucosa de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Concentración urinaria de glucosa (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	1.5 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.4	1.9 $\pm$ 0.3
Tratamiento con Vit.E (n = 6)	0.9 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.2	2.3 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.2

**GLUCOSA EN ORINA**



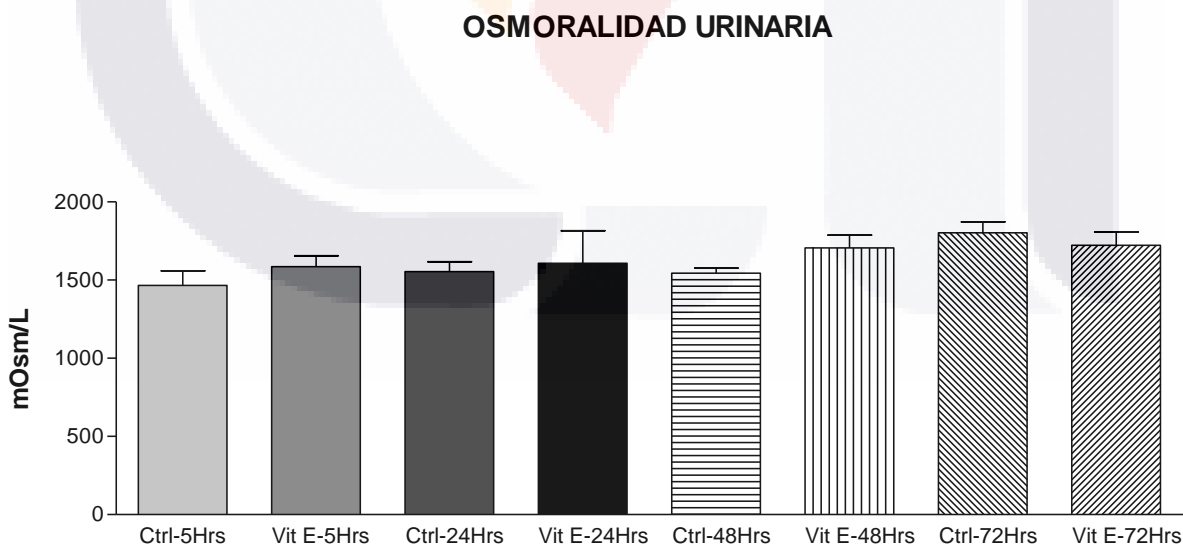
**Figura VII.4-8** Concentración de glucosa en orina de ratas Wistar machos tratadas con Vit. E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ sem).

**Osmolaridad urinaria**

Los valores de osmolaridad urinaria de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-9** Efecto de Vit. E sobre la osmolaridad urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Osmolaridad urinaria (mOsm/L)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	1465 $\pm$ 94	1554 $\pm$ 63	1544 $\pm$ 31	1803 $\pm$ 70
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	1585 $\pm$ 71	1607 $\pm$ 208	1706 $\pm$ 82	1723 $\pm$ 84



**Figura VII.4-9** Osmolaridad en orina de ratas Wistar machos tratadas con Vit E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

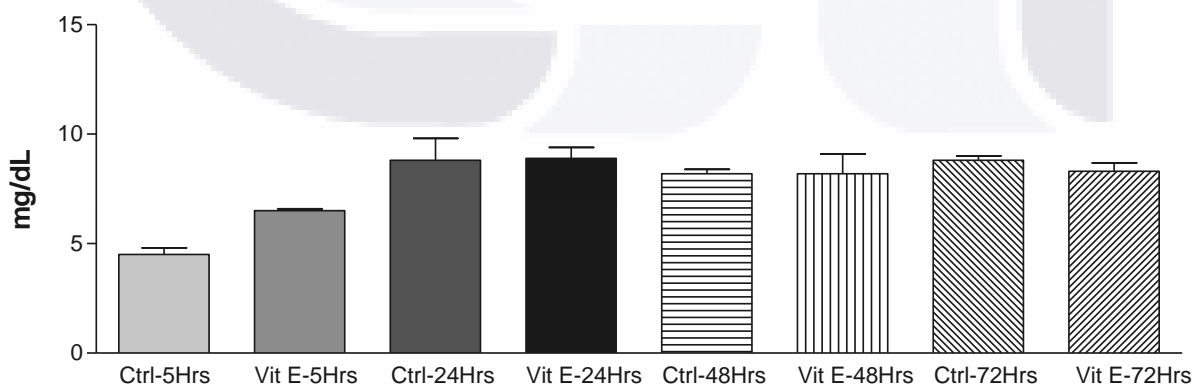
**Concentración urinaria de proteínas**

La concentración de proteínas en orina de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-10** Efecto de Vit. E sobre la concentración urinaria de proteínas en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Concentración urinaria de proteínas (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4.5 $\pm$ 0.3	8.8 $\pm$ 0.4	8.2 $\pm$ 0.2	8.8 $\pm$ 0.2
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	6.5 $\pm$ 0.1	8.9 $\pm$ 0.5	8.9 $\pm$ 0.2	8.3 $\pm$ 0.4

**PROTEINAS EN ORINA**



**Figura VII.4-10** Concentración de proteínas en orina de ratas Wistar machos tratadas con Vit. E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

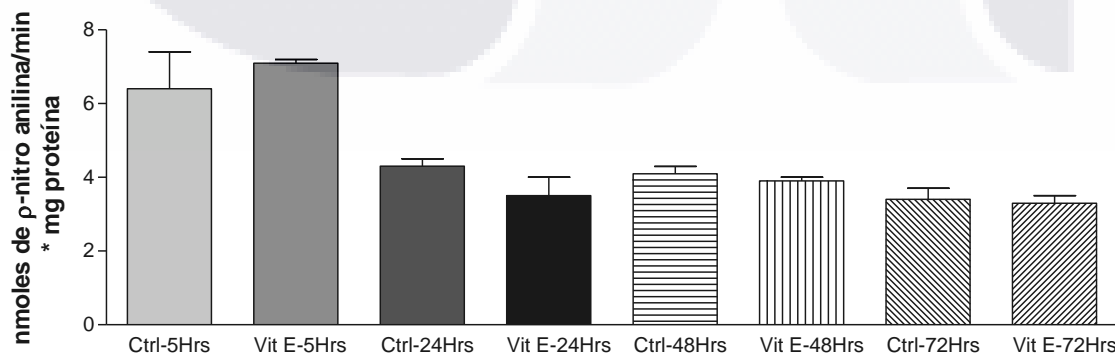
**Actividad específica urinaria de  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa ( $\gamma$ -GTP)**

La valores de la actividad específica de la enzima  $\gamma$ -GTP en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-11** Efecto de Vit. E sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de <math>\gamma</math>-GTP (nmol de <math>p</math>-nitroanilina/min * mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	6.4 $\pm$ 1	4.3 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.3
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	7.1 $\pm$ 1.2	3.5 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 0.1	3.3 $\pm$ 0.2

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE TP $\gamma$ G en orina**



**Figura VII.4-11** Actividad específica de la enzima TP $\gamma$ G en orina de ratas Wistar tratadas con Vit. E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

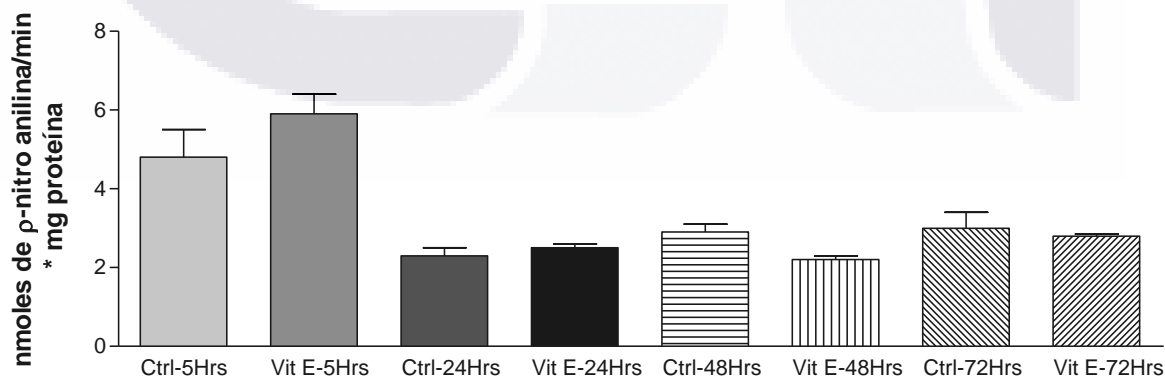
**Actividad específica urinaria de dipeptidil aminopeptidasa-IV (DAP-IV)**

Los valores de la actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-12** Efecto de Vit. E sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de DAP-IV (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min * mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4.8 $\pm$ 0.7	2.3 $\pm$ 0.2	2.9 $\pm$ 0.2	3.0 $\pm$ 0.4
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	5.9 $\pm$ 0.5	2.5 $\pm$ 0.1	2.2 $\pm$ 0.1	2.8 $\pm$ 0.0

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE DAP-IV en orina**



**Figura VII.4-12** Actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de ratas Wistar machos tratadas con Vit. E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

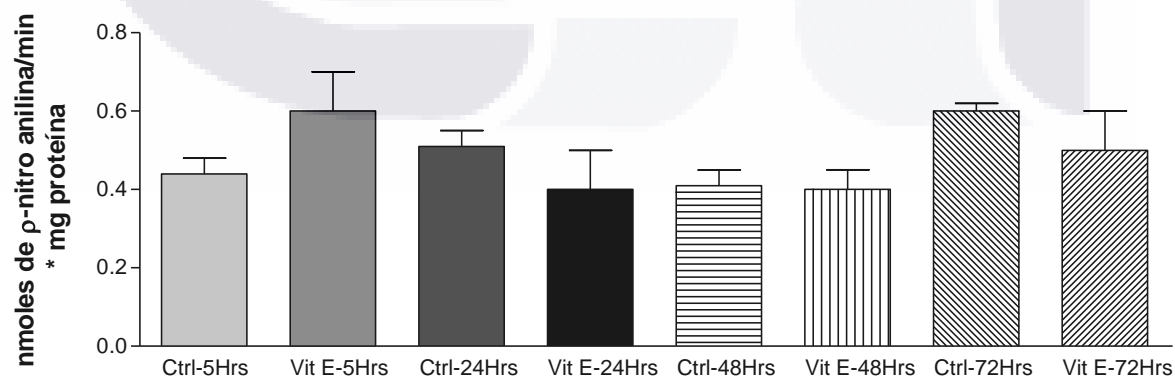
**Actividad específica urinaria de alanino aminopeptidasa (APA)**

Los valores de la actividad específica de la enzima APA en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E, con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.4-13** Efecto de Vit. E sobre la actividad específica urinaria de APA en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de APA (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min * mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	0.4 $\pm$ 0.04	0.5 $\pm$ 0.04	0.4 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.02
Tratamiento con Vit. E (n = 6)	0.6 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.1	0.4 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE APA en orina**



**Figura VII.4-13** Actividad específica de la enzima APA en orina de ratas Wistar machos tratadas con Vit. E (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$  eem).



**VII.5 Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Vitamina E (Vit. E)**

Los resultados mostrados a continuación muestran una comparación de los datos recabados a partir de ratas tratadas con NPs de TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) mostrados anteriormente, con los obtenidos de ratas tratadas con el preparado estandarizado de Vitamina E (10mg/kg i.p.), más el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.), administradas un día después del tratamiento con el preparado estadarizado mencionado. (Ver apartado “**Materiales y métodos**”). Lo anterior, con la finalidad de observar efecto protector de la Vitamina E sobre la nefrotoxicidad aguda producida por las nanopartículas de TiO<sub>2</sub>. (Tablas VII.5-1 a VII.5-13 y Figuras VII.5-1 a VII.5-13)

**Consumo de agua**

La cantidad de agua consumida por los animales de experimentación tratados con Vit. E +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-1** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el consumo de agua de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Consumo de agua (ml de H<sub>2</sub>O)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	35 ± 5	32 ± 4	30 ± 4
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	30 ± 2	34 ± 2	36 ± 3

CONSUMO DE AGUA

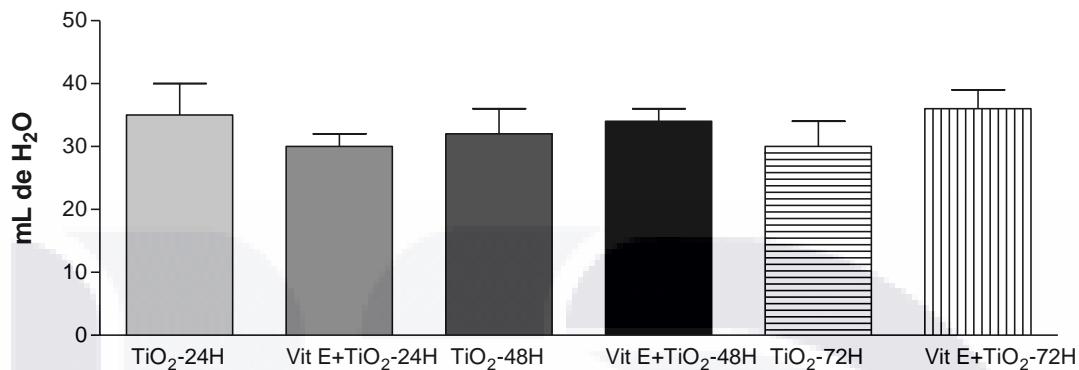


Figura VII.5-1 Consumo de agua de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit E (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

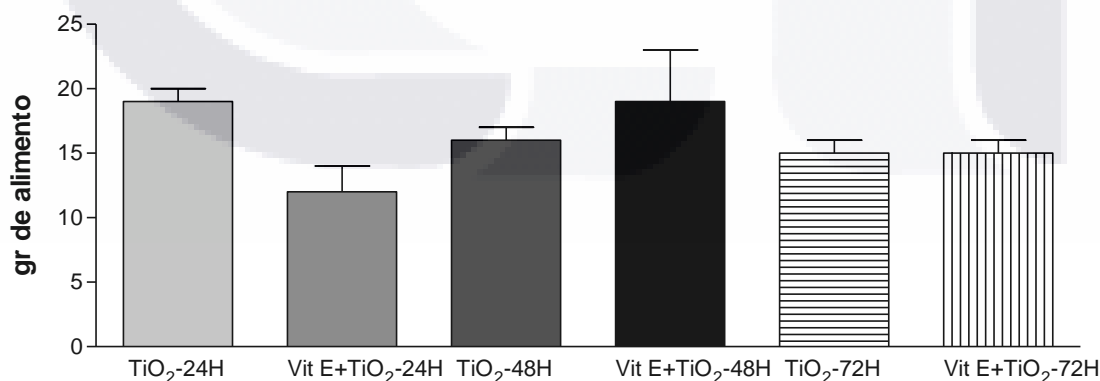
**Consumo de alimento**

La cantidad de alimento consumido por los animales de experimentación tratados con Vit. E +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-2** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el consumo de alimento de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Consumo de alimento (gr)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	19 ± 1	16 ± 1	15 ± 1
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	12 ± 2	19 ± 1	15 ± 1

**CONSUMO DE ALIMENTO**



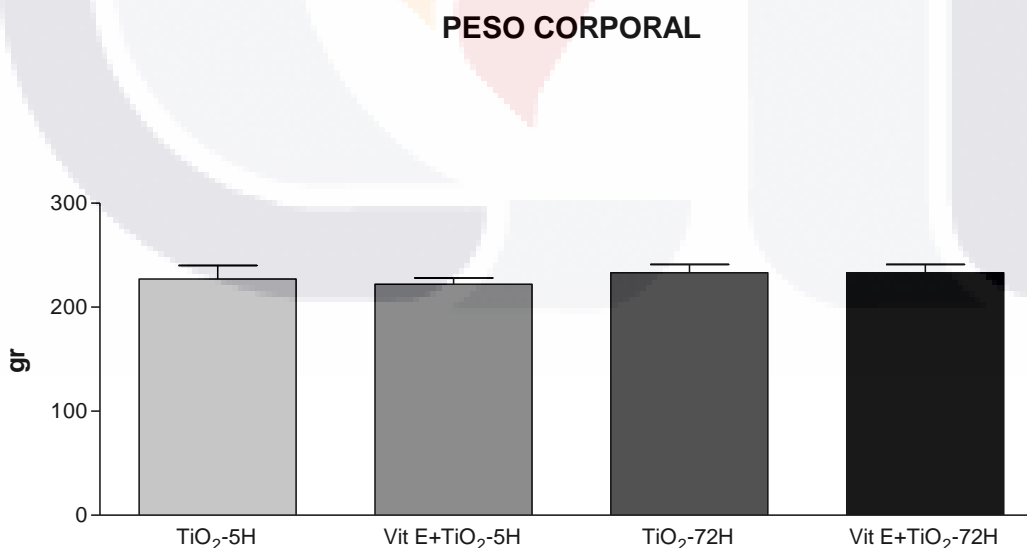
**Figura VII.5-2** Consumo de alimento de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit E (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

**Peso corporal**

El peso corporal de los animales de experimentación tratados con Vit. E +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue medido al inicio del experimento (0 hrs.) y al final (72 hrs.), después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-3** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el peso corporal de los animales de experimentación obtenido a las 0 y 72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Peso corporal (gr)		
Grupo	0 hrs	72 hrs
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	227 ± 13	246 ± 16
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	222 ± 6	233 ± 8



**Figura VII.5-3** Peso corporal de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) Se expresan los valores medios (±eem)

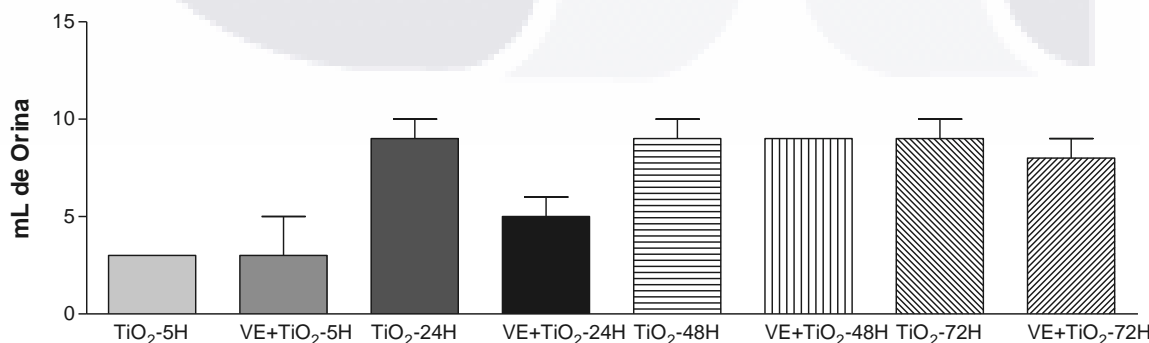
**Volumen urinario**

El volumen urinario de los animales de experimentación tratados con Vit. E +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí, después de los tratamientos mencionados anteriormente. Cabe mencionar que los valores de este parámetro en el tiempo de 0-5 hrs, fue menor que en los demás debido al corto tiempo que representa dicho período de muestreo, en comparación con los otros tiempos (5-24, 24-48 y 48-72 hrs.).

**Tabla VII.5-4** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el volumen urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Volumen urinario (ml)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	3 ± 0	9 ± 1	9 ± 1	9 ± 1
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	3 ± 2	5 ± 1	9 ± 0	8 ± 1

**VOLUMEN URINARIO**



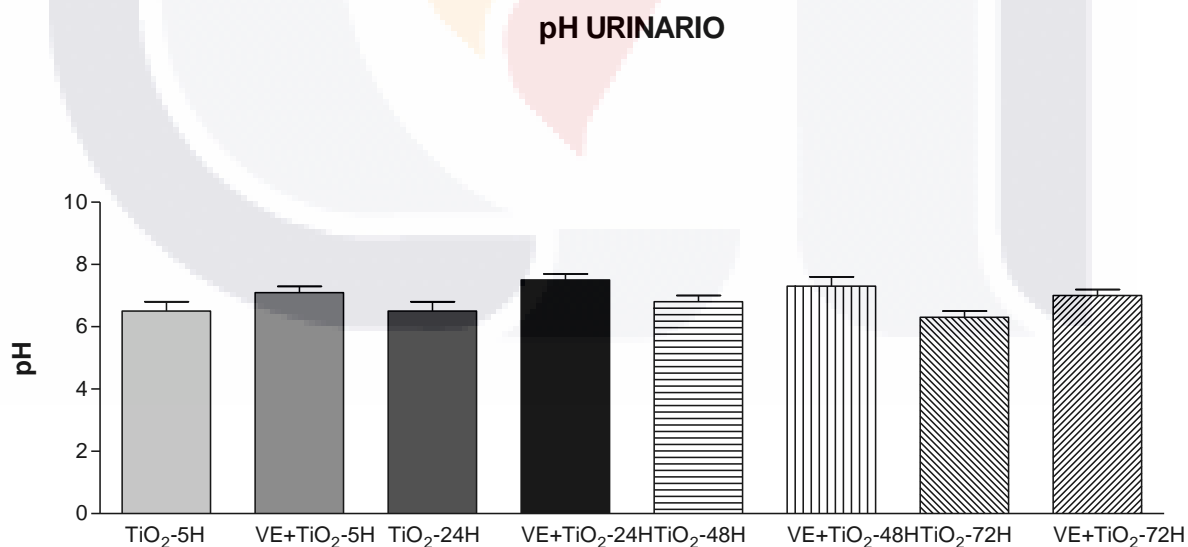
**Figura VII.5-4** Volumen urinario de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

**PH urinario**

El pH urinario de los animales de experimentación tratados con Vit. E +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-5** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por de NPs de TiO<sub>2</sub> en el pH urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

pH urinario				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	6.5 ± 0.3	6.5 ± 0.3	6.8 ± 0.2	6.3 ± 0.2
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	7.1 ± 0.2	7.5 ± 0.2	7.3 ± 0.3	7.0 ± 0.2



**Figura VII.5-5** pH urinario de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (± eem).

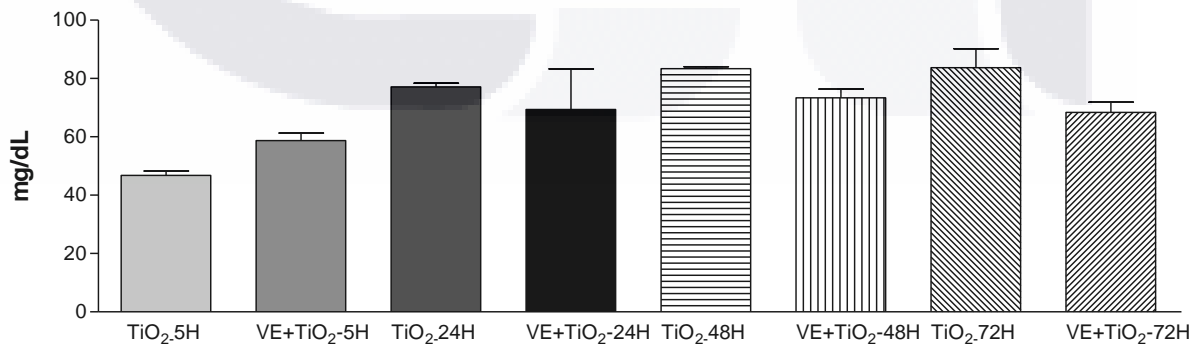
**Creatinina urinaria**

Los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación tratados con Vit. E +TiO<sub>2</sub>, no presentaron diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-6** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Creatinina urinaria (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	47 ± 2	77 ± 1	83 ± 1	84 ± 7
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	59 ± 3	69 ± 14	73 ± 3	68 ± 4

**CREATININA EN ORINA**



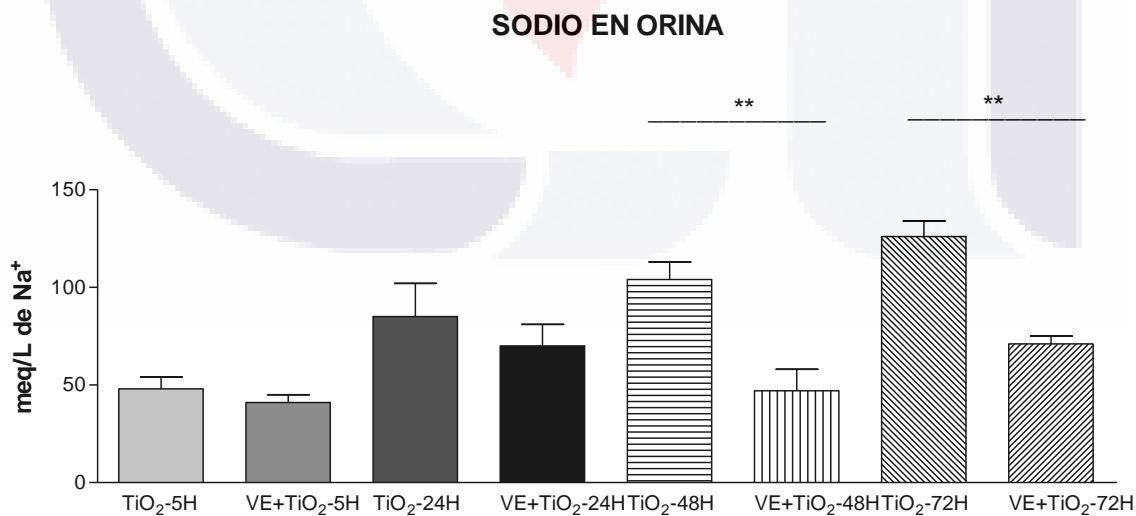
**Figura VII.5-6** Concentración de creatinina en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit E (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

**Concentración urinaria de sodio**

La concentración de sodio en orina de los animales de experimentación, si mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a los tiempos de 24-48 y 48-72 hrs, el valor de este parámetro disminuyó 2.2 (p<0.01) y 1.7 veces respectivamente, los valores obtenidos en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> comparando los mismo tiempo evaluado entre sí. Por su parte, en los tiempos de 0-5 y 5-24 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar los grupos tratados mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-7** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la concentración urinaria de sodio de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Concentración urinaria de sodio (meq/L)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	48 ± 6	85 ± 17	104 ± 9	126 ± 8
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	41 ± 4	70 ± 11	47 ± 11	71 ± 4



**Figura VII.5-7** Concentración de Na<sup>+</sup> en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit. E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\*\* = P<0.01).



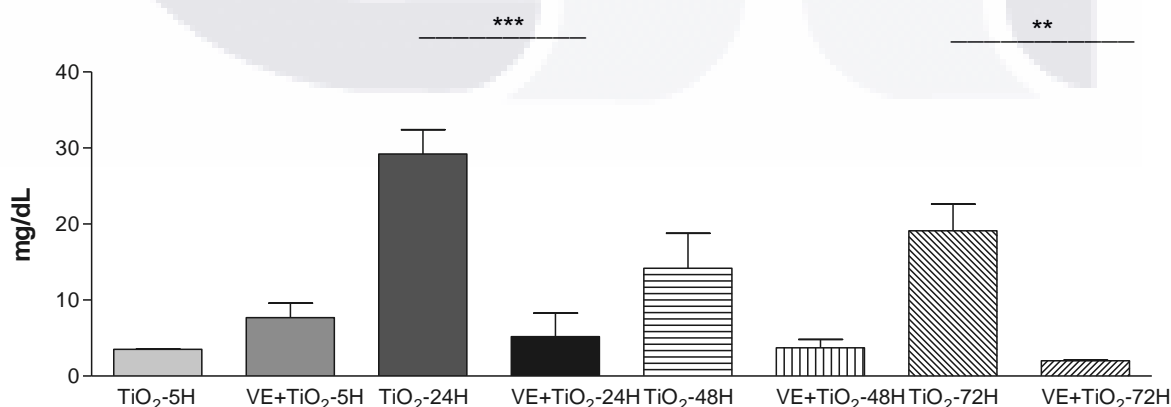
**Concentración urinaria de glucosa**

La concentración de glucosa en orina de los animales de experimentación, si mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E+ NPs de TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a los tiempos 5-24 y 48-72 hrs, el valor de este parámetro disminuyó en 5.6 (p<0.001) y 9.6 (p<001) veces respectivamente, los valores obtenidos durante el tratamiento con solamente las NPs de TIO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Por su parte, en el tiempo de 0-5 y 24-48 hrs, no se observaron diferencias significativas, sin embargo en este último, la tendencia fue similar a la observada en los tiempos donde se presentaron diferencias significativas.

**Tabla VII.5-8** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la concentración urinaria de glucosa de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Concentración urinaria de glucosa (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	3.5 ± 0.1	29.2 ± 3.2	14.2 ± 4.6	19.1 ± 3.5
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	7.7 ± 1.9	5.2 ± 3.1	3.7 ± 1.1	2.0 ± 0.1

**GLUCOSA EN ORINA**



**Figura VII.5-8** Concentración de glucosa en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit. E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg(kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\*\* = P<0.01, \*\*\* = P<0.001).

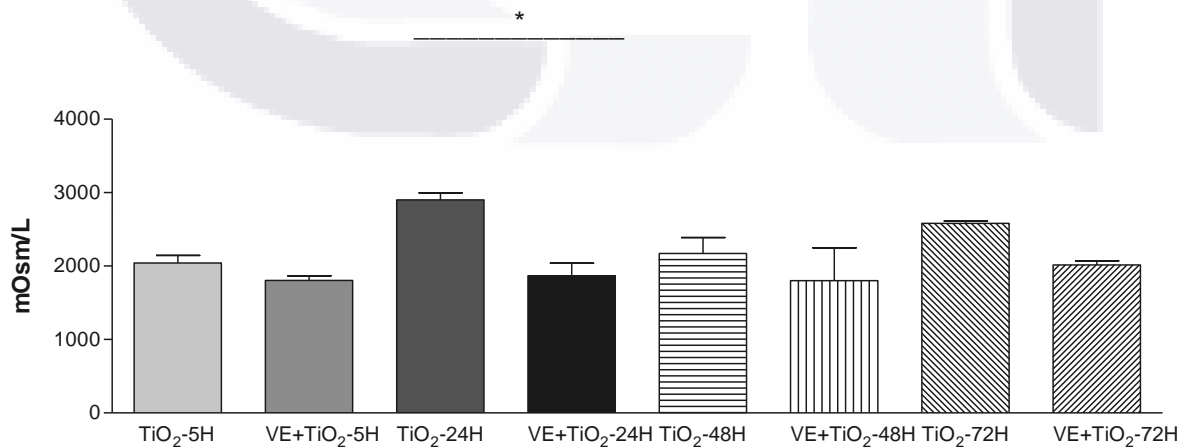
**Osmolaridad urinaria**

Los valores de osmolaridad urinaria de los animales de experimentación si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, en el tiempo 5-24 hrs, el valor de este parámetro disminuyó 35.6% (p<0.05), el valor obtenido en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub>, comparando el mismo tiempo evaluado entre sí. Por su parte, en los tiempos de 0-5, 24-48 y 48-72 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar los grupos tratados mencionados anteriormente. Cabe señalar que en dichos tiempos, la tendencia fue similar a la observada en el tiempo que presentó diferencias significativas.

**Tabla VII.5-9** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la osmolaridad urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Osmolaridad urinaria (mOsm/L)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	2042 ± 102	2902 ± 97	2170 ± 218	2580 ± 34
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	1806 ± 63	1868 ± 171	1803 ± 394	2335 ± 56

**OSMORALIDAD URINARIA**



**Figura VII.5-9** Osmolaridad en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\* = P<0.05).

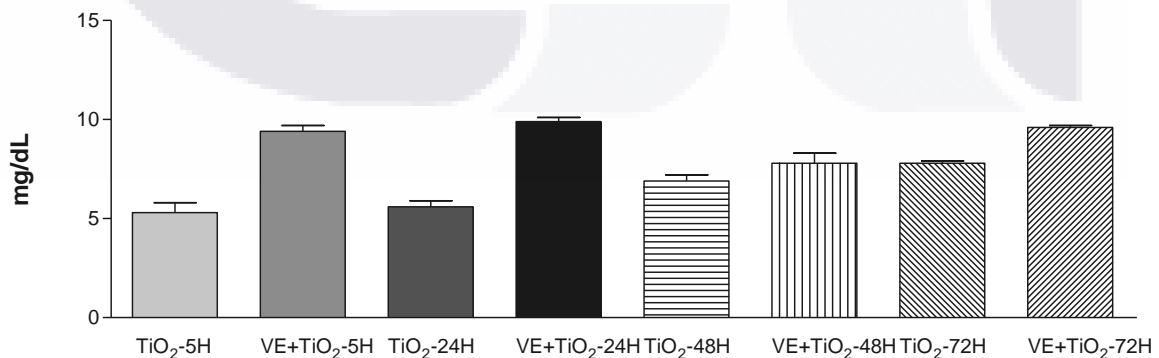
**Concentración urinaria de proteínas**

La concentración de proteínas en orina de los animales de experimentación, no presentó diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E + TiO<sub>2</sub>, con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluado entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-10** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la concentración urinaria de proteínas en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Concentración urinaria de proteínas (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	6.9 ± 0.3	6.6 ± 1.5	8.3 ± 0.2	7.3 ± 0.2
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	9.4 ± 0.3	9.9 ± 0.2	7.8 ± 0.5	9.6 ± 0.1

**PROTEINAS EN ORINA**



**Figura VII.5-10** Concentración de proteínas en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit. E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).

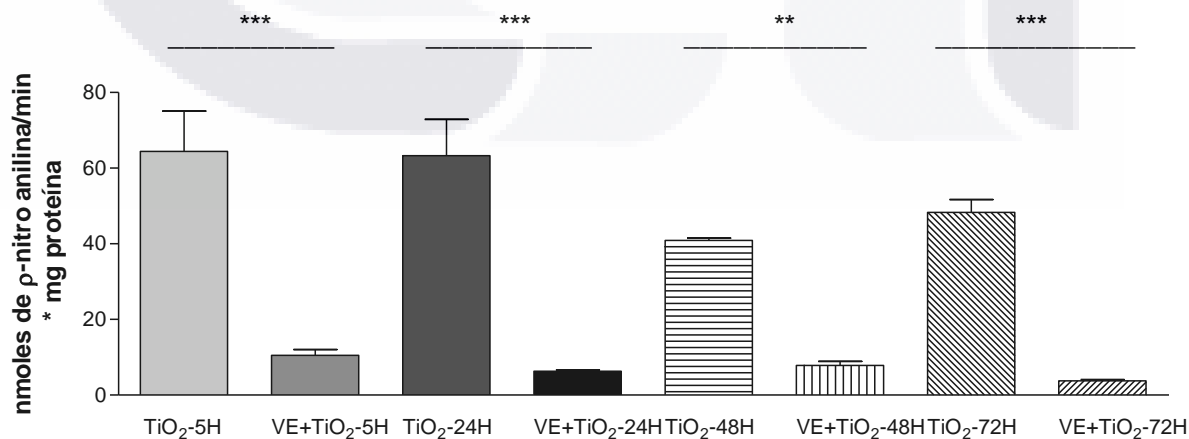
**Actividad específica urinaria de  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa ( $\gamma$ -GTP)**

La valores de la actividad específica de la enzima  $\gamma$ -GTP en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.), el valor de este parámetro disminuyó 6.1 (p<0.001), 10.1 (p<0.001), 5.2 (p<0.001) y 12.8 (p<0.001) veces respectivamente, los valores del grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-11** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de <math>\gamma</math>-GTP (nmol de p-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	64.4 $\pm$ 10.4	63.3 $\pm$ 9.6	40.9 $\pm$ 0.6	48.3 $\pm$ 3.4
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	10.5 $\pm$ 1.5	6.3 $\pm$ 0.3	7.8 $\pm$ 1.1	3.8 $\pm$ 0.3

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE TP $\gamma$ G en orina**



**Figura VII.5-11** Actividad específica de la enzima TP $\gamma$ G en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit. E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem). (\*\* = P<0.01, \*\*\* = P<0.001).

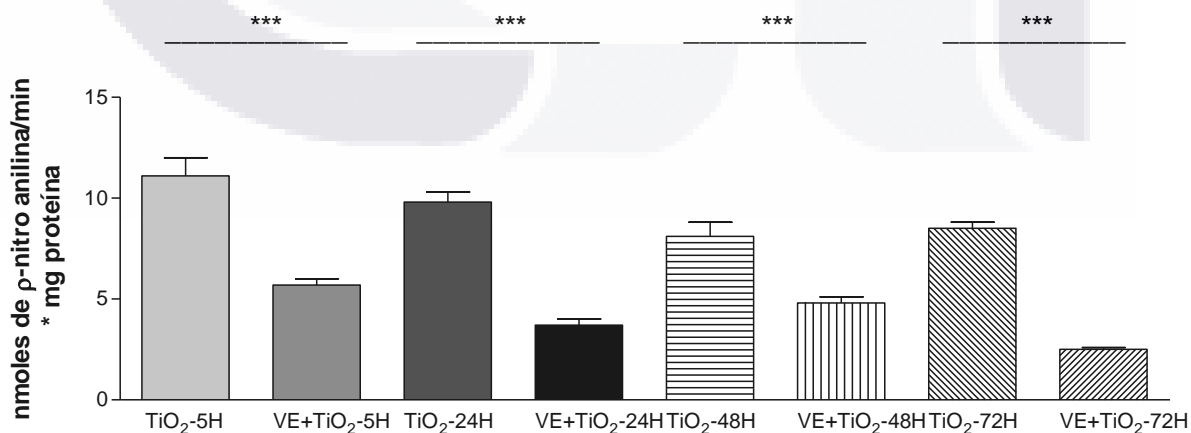
**Actividad específica urinaria de dipeptidil aminopeptidasa-IV (DAP-IV)**

La valores de la actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Vit. E + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.), el valor de este parámetro disminuyó 1.9 (p<0.001), 2.6 (p<0.001), 1.7 (p<0.001) y 3.4 (p<0.001) veces respectivamente, los valores del grupo tratado con solamente NPs TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-12** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de DAP-IV en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de DAP-IV (nmol de ρ-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	11.1 ± 0.9	9.8 ± 0.5	8.1 ± 0.7	8.5 ± 0.3
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	5.7 ± 0.3	3.7 ± 0.3	4.8 ± 0.3	2.5 ± 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE DAP-IV en orina**



**Figura VII.5-12** Actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con Vit. E (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem). (\*\*\*) = P<0.001).

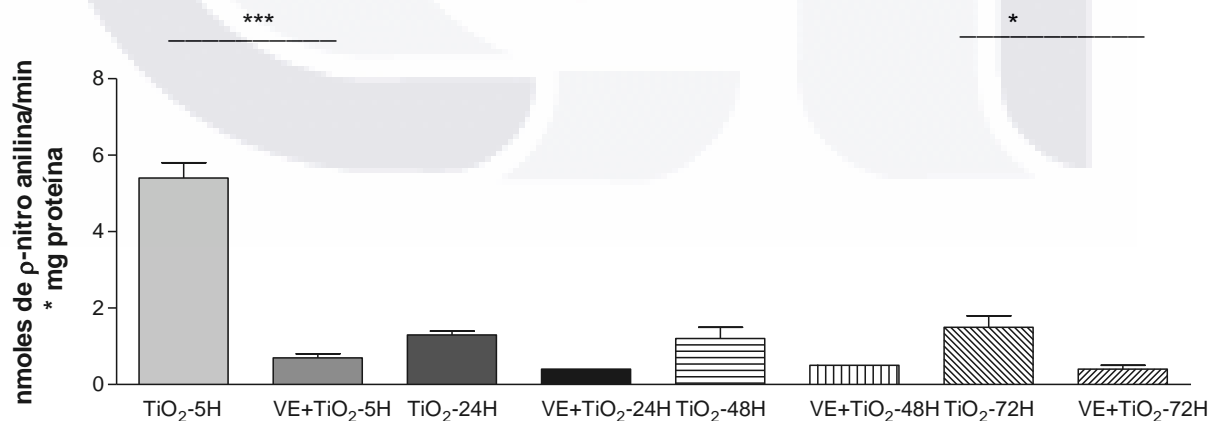
**Actividad específica urinaria de alanino aminopeptidasa (APA)**

La valores de la actividad específica de la enzima APA en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con Gb + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a los tiempo de 0-5 y 48-72 hrs, el valor de este parámetro disminuyó 6 (p<0.001) y 2.5 (P<0.05), los valores del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.5-13** Efecto de Vit. E sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de APA en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Actividad específica urinaria de APA (nmol de p-nitroanilina/min*mg proteína)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	5.4 ± 0.4	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.3	1.5 ± 0.3
Tratamiento con Vit. E + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	0.7 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.4 ± 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE APA en orina**



**Figura VII.5-13** Actividad específica de la enzima APA en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) y con Vit. E (10mg/kg i.p.)+TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem). (\* =P<0.05, \*\*\* =P<0.001).

**VII.6 Resultados de parámetros control vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Ácidos Grasos  $\omega$ -3 (AG  $\omega$ -3).**

Los resultados mostrados a continuación muestran una comparación de los datos recabados a partir de ratas control, con los obtenidos de ratas tratadas con el preparado estandarizado de AG  $\omega$ -3 (10mg/kg i.p.), para corroborar la ausencia de nefrotoxicidad por el los AG  $\omega$ -3 en los animales de experimentación y de ésta forma hacer uso seguro de este preparado como agente protector contra la nefrotoxicidad producida por las NPs de TiO<sub>2</sub>. (Tablas VII.6-1 a VII.6-13 y Figuras VII.6-1 a VII-13)

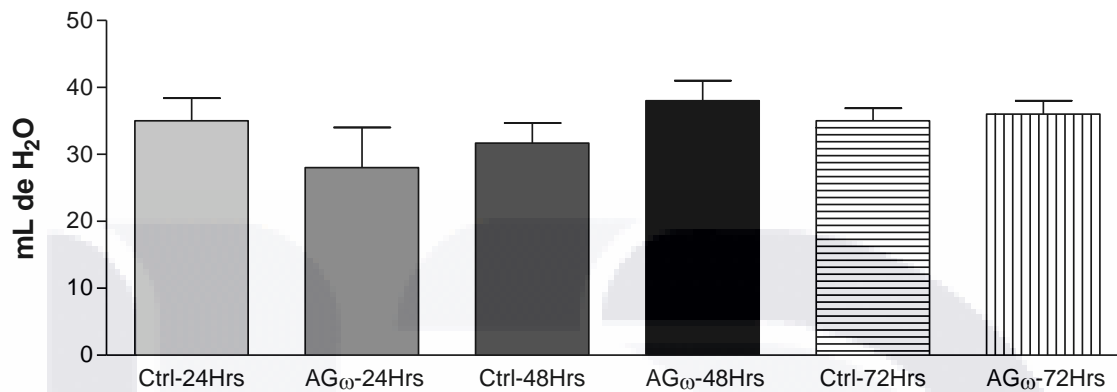
**Consumo de agua**

La cantidad de agua consumida por los animales de experimentación tratadas con AG  $\omega$ -3, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-1** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre el consumo de agua de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Consumo de agua (ml de H<sub>2</sub>O)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Control negativo (n = 6)	35 $\pm$ 3.4	32 $\pm$ 3	35 $\pm$ 3
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	28 $\pm$ 6	38 $\pm$ 3	36 $\pm$ 2

**CONSUMO DE AGUA**



**Fig VII.6-1 Consumo de agua de ratas Wistar machos tratadas con ÁG<sub>0</sub> (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios (±eem).**



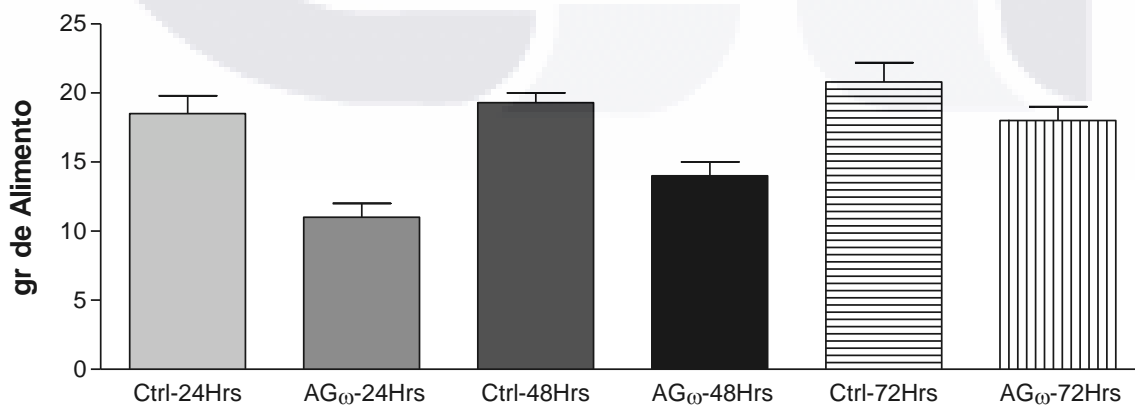
**Consumo de alimento**

La cantidad de alimento consumido por los animales de experimentación tratados con AG  $\omega$ -3 no presentó diferencias significativas con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-2** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre el consumo de alimento de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Consumo de alimento (gr)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Control negativo (n = 6)	19 $\pm$ 1	19 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	11 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	18 $\pm$ 1

**CONSUMO DE ALIMENTO**



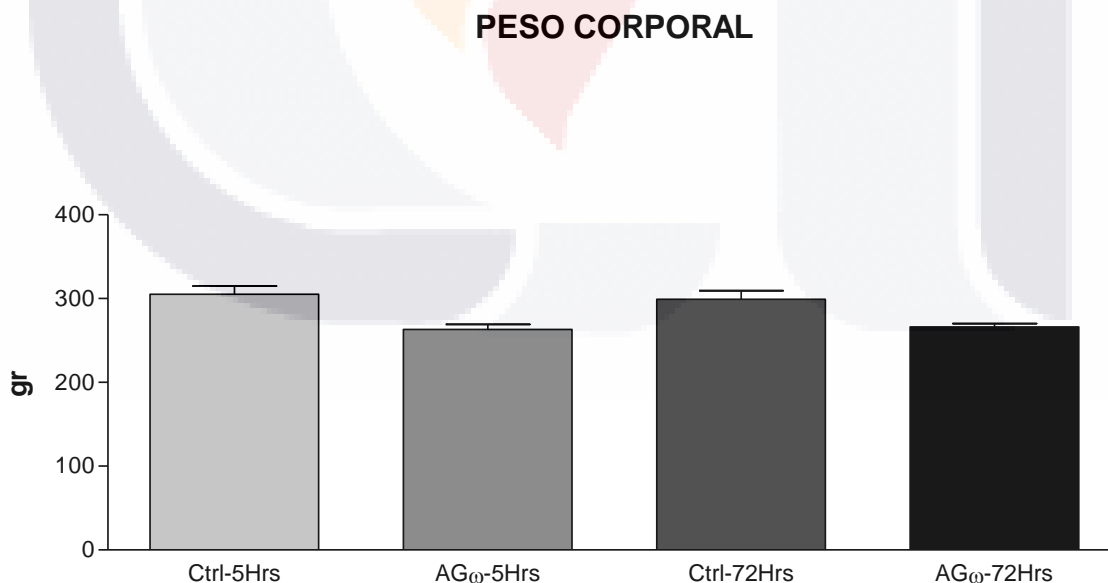
**Figura VII.6-2** Consumo de alimento de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem)

**Peso corporal**

El peso corporal de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al compara los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue medido al inicio del experimento (0 hrs.) y al final (72 hrs.), después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-3** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre el peso corporal de los animales de experimentación obtenido a las 0 y 72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Peso corporal (gr)		
Grupo	0 hrs	72 hrs
Control negativo (n = 6)	305 $\pm$ 10	299 $\pm$ 11
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	263 $\pm$ 6	266 $\pm$ 4



**Figura VII.6-3** Peso corporal de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem)

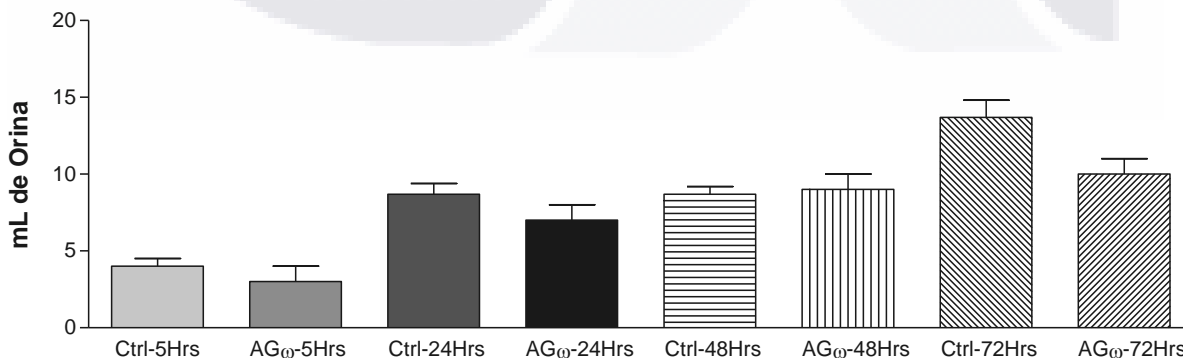
**Volumen urinario**

El volumen urinario de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente. Cabe mencionar que los valores de este parámetro en el tiempo de 0-5 hrs, es menor que en los demás debido al corto tiempo que representa dicho período de muestreo, en comparación con los otros tiempos (5-24, 24-48 y 48-72 hrs.).

**Tabla VII.6-4** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre el volumen urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Volumen urinario (ml)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4 $\pm$ 0.5	9 $\pm$ 1	9 $\pm$ 0.5	14 $\pm$ 1
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	3 $\pm$ 1	7 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1	10 $\pm$ 1

**VOLUMEN URINARIO**



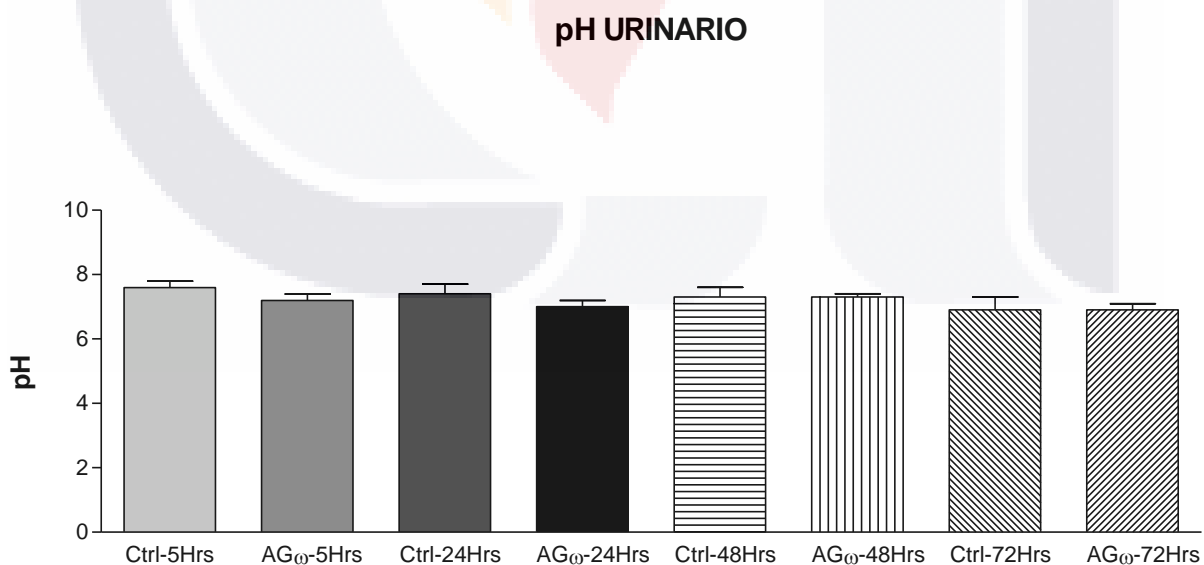
**Figura VII.6-4** Volumen urinario de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

**PH urinario**

El pH urinario de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-5** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre el pH urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

pH urinario				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	7.6 $\pm$ 0.2	7.4 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.4
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	7.2 $\pm$ 0.2	7.0 $\pm$ 0.2	7.3 $\pm$ 0.1	6.9 $\pm$ 0.2



**Figura VII.6-5** pH urinario de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

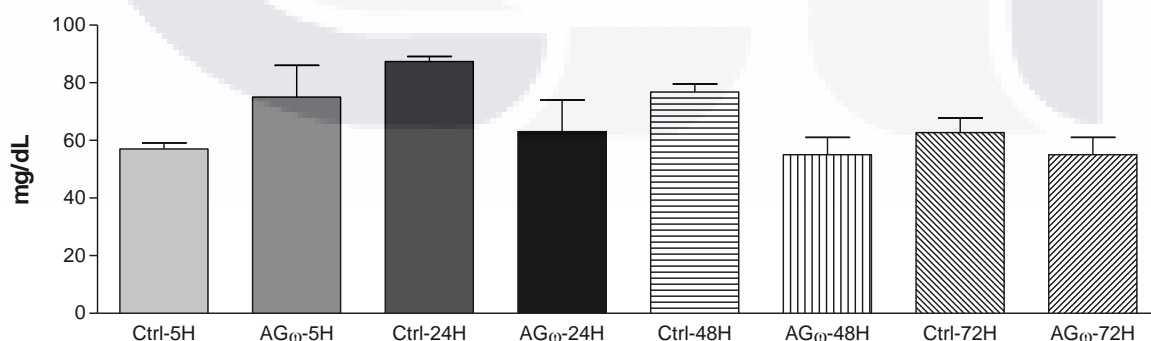
**Creatinina urinaria**

Los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-6** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Creatinina urinaria (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	57 $\pm$ 2	87 $\pm$ 2	77 $\pm$ 3	63 $\pm$ 5
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	75 $\pm$ 11	63 $\pm$ 11	55 $\pm$ 6	55 $\pm$ 6

**CREATININA EN ORINA**



**Figura VII.6-6** Concentración de creatinina en orina de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

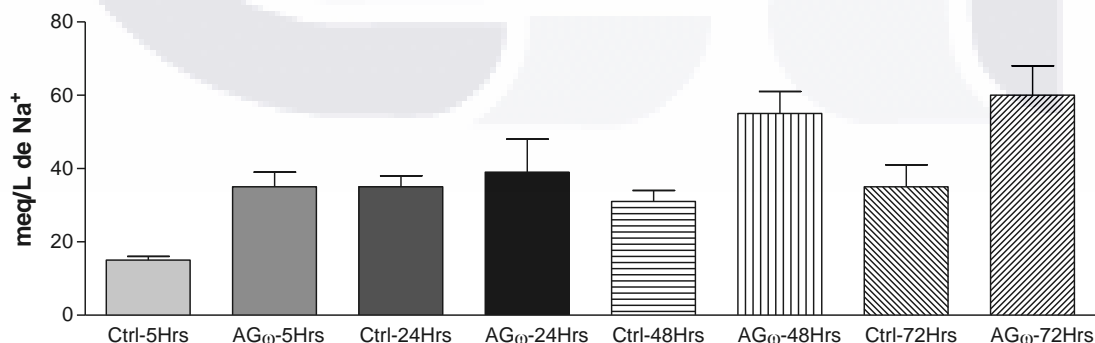
**Concentración urinaria de sodio**

La concentración de sodio en orina de los animales de experimentación, no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-7** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre la concentración urinaria de sodio de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Concentración urinaria de sodio (meq/L)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	15 $\pm$ 1	35 $\pm$ 3	31 $\pm$ 3	35 $\pm$ 6
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	35 $\pm$ 4	39 $\pm$ 11	55 $\pm$ 6	60 $\pm$ 8

**SODIO EN ORINA**



**Figura VII. 6-7** Concentración de Na<sup>+</sup> en orina de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

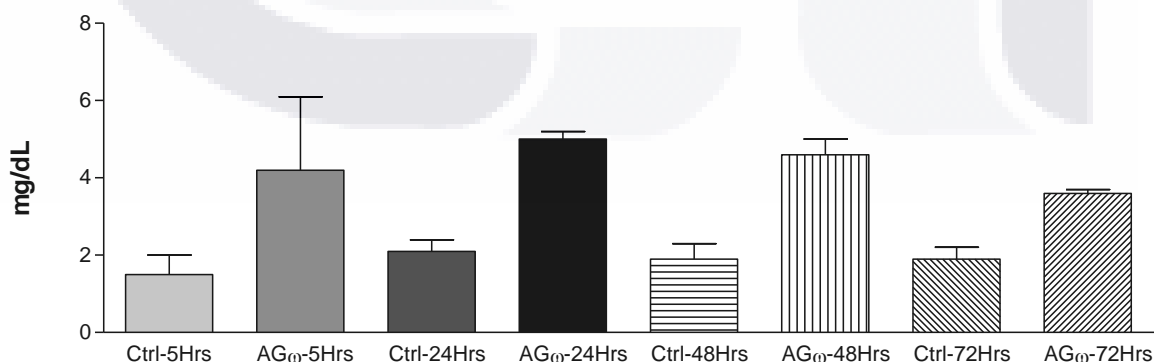
**Concentración urinaria de glucosa**

La concentración de glucosa en orina de los animales de experimentación, no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-8** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre la concentración urinaria de glucosa de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Concentración urinaria de glucosa (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	1.5 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.4	1.9 $\pm$ 0.3
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	4.2 $\pm$ 0.1	5.0 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.4	3.6 $\pm$ 0.1

**GLUCOSA EN ORINA**



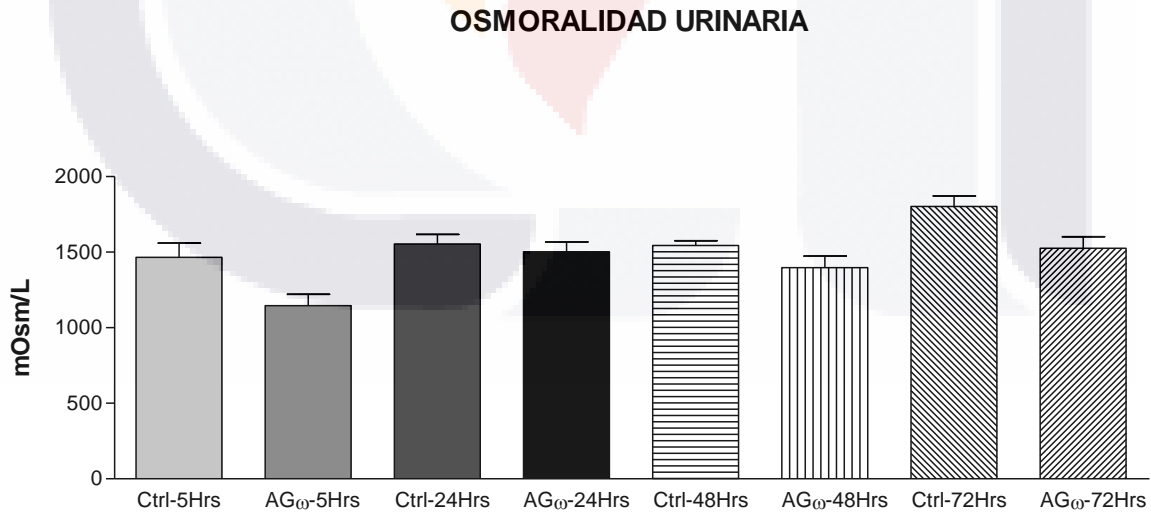
**Figura VII.6-8** Concentración de glucosa en orina de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$  eem).

**Osmolaridad urinaria**

Los valores de osmolaridad urinaria de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-9** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre la osmolaridad urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Osmolaridad urinaria (mOsm/L)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	1465 $\pm$ 94	1554 $\pm$ 63	1544 $\pm$ 31	1803 $\pm$ 70
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	1084 $\pm$ 75	1502 $\pm$ 66	1397 $\pm$ 77	1526 $\pm$ 56



**Fig. VII.6-9** Osmolaridad en orina de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem). (\* = P<0.05).



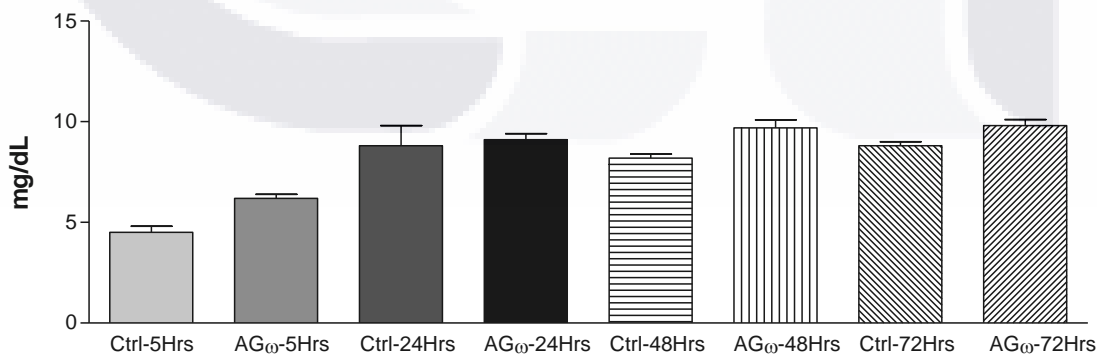
**Concentración urinaria de proteínas**

La concentración de proteínas en orina de los animales de experimentación no mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-10** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre la concentración urinaria de proteínas en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Concentración urinaria de proteínas (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Control negativo (n = 6)	4.5 $\pm$ 0.3	8.8 $\pm$ 0.4	8.2 $\pm$ 0.2	8.8 $\pm$ 0.2
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	6.2 $\pm$ 0.2	9.1 $\pm$ 0.3	9.7 $\pm$ 0.4	9.8 $\pm$ 0.3

**PROTEINAS EN ORINA**



**Figura VII.6-10** Concentración de proteínas en orina de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

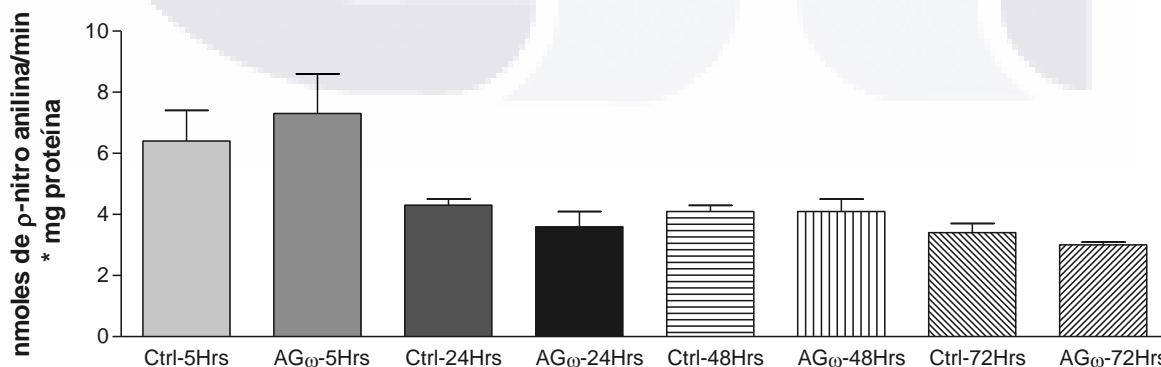
**Actividad específica urinaria de  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa ( $\gamma$ -GTP)**

La valores de la actividad específica de la enzima  $\gamma$ -GTP en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-11** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de <math>\gamma</math>-GTP (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min * mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	6.4 $\pm$ 1	4.3 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.3
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	7.3 $\pm$ 1.3	3.6 $\pm$ 0.5	4.1 $\pm$ 0.4	3.0 $\pm$ 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE TP $\gamma$ G en orina**



**Figura VII.6-11** Actividad específica de la enzima TP $\gamma$ G en orina de ratas Wistar tratadas con Ácidos Grasos  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

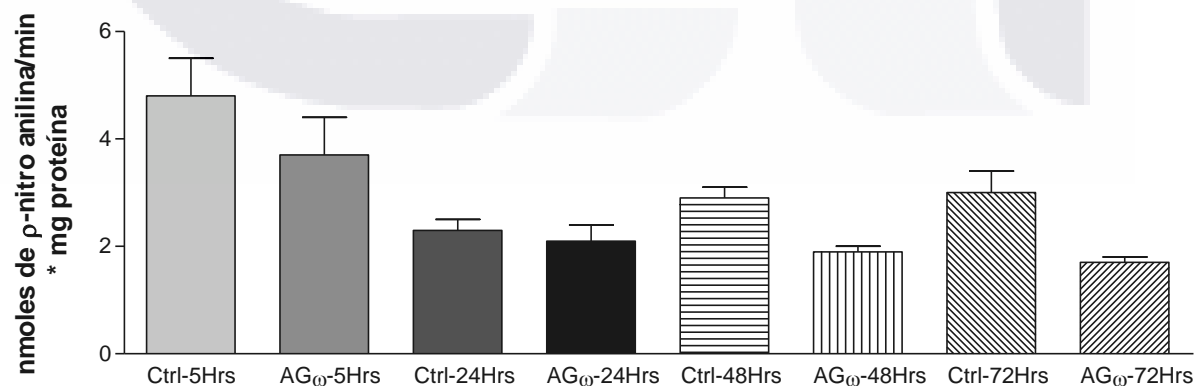
**Actividad específica urinaria de dipeptidil aminopeptidasa-IV (DAP-IV)**

Los valores de la actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el preparado estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-12** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre la actividad específica urinaria de DAP-IV en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de DAP-IV (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min * mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	4.8 $\pm$ 0.7	2.3 $\pm$ 0.2	2.9 $\pm$ 0.2	3.0 $\pm$ 0.4
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	3.7 $\pm$ 0.7	2.1 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.1	1.7 $\pm$ 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE DAP-IV en orina**



**Figura VII.6-12** Actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

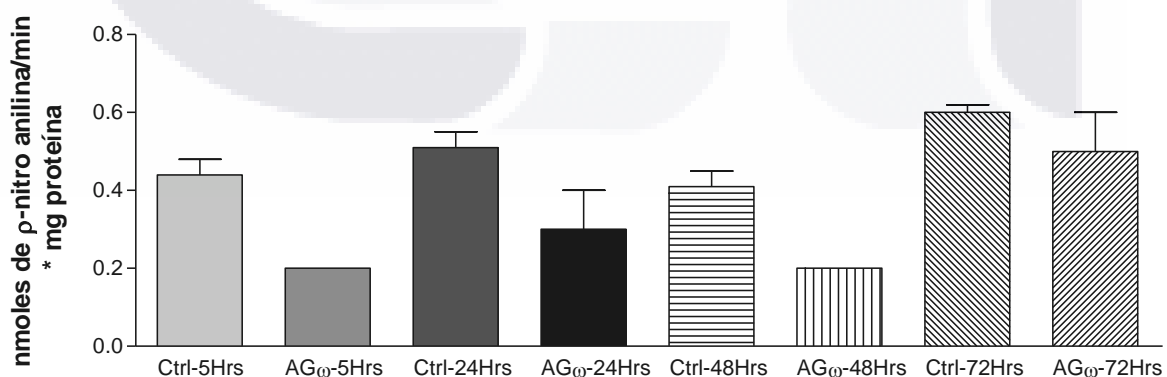
**Actividad específica urinaria de alanino aminopeptidasa (APA)**

Los valores de la actividad específica de la enzima APA en orina de los animales de experimentación, no mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con  $\omega$ -3 con respecto al grupo control, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.6-13** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre la actividad específica urinaria de APA en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de APA (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min * mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Control negativo (n = 6)	0.4 $\pm$ 0.04	0.5 $\pm$ 0.04	0.4 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.02
Tratamiento con AG $\omega$ -3 (n = 6)	0.2 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.0	0.5 $\pm$ 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE APA en orina**



**Figura VII.6-13** Actividad específica de la enzima APA en orina de ratas Wistar machos tratadas con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

**VII.7 Resultados de parámetros en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> vs el tratamiento con el preparado estandarizado de Ácidos Grasos ω-3 (AG ω-3)**

Los resultados mostrados a continuación muestran una comparación de los datos recabados a partir de ratas tratadas con NPs de TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) mostrados anteriormente, con los obtenidos de ratas tratadas con el preparado estandarizado de AG ω-3 (10mg/kg i.p.), más el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.), administradas un día después del tratamiento con el preparado estadarizado mencionado. (Ver apartado “**Materiales y métodos**”). Lo anterior, con la finalidad de observar efecto protector de los AG ω-3 sobre la nefrotoxicidad aguda producida por las nanopartículas de TiO<sub>2</sub>. (Tablas VII.7-1 a VII.7-13 y Figuras VII.7-1 a VII.7-13).

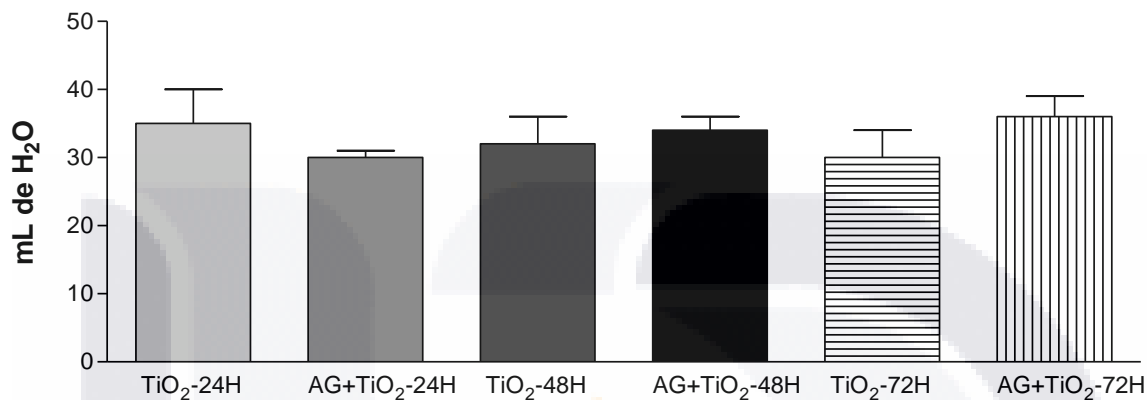
**Consumo de agua**

La cantidad de agua consumida por los animales de experimentación tratados con AG ω-3 +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24,24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-1** Efecto de AG ω-3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el consumo de agua de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

<b>Consumo de agua (ml de H<sub>2</sub>O)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	35 ± 5	32 ± 4	30 ± 4
Tratamiento con AG ω-3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	30 ± 1	34 ± 2	36 ± 3

**CONSUMO DE AGUA**



**Figura VII.7-1 Consumo de agua de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG ω (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem).**

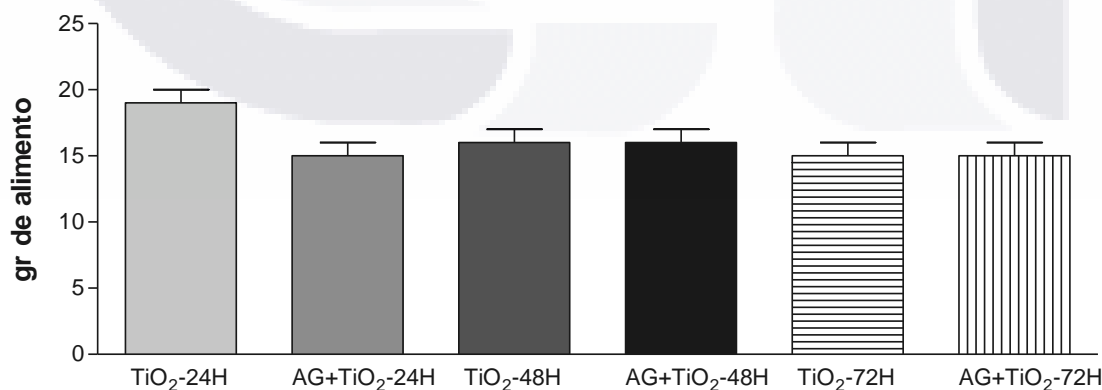
**Consumo de alimento**

La cantidad de alimento consumido por los animales de experimentación tratados con AG  $\omega$ -3 +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-24,24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-2** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el consumo de alimento de los animales de experimentación obtenido a las 0-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Consumo de alimento (gr)</b>			
<b>Grupo</b>	<b>0-24 hrs</b>	<b>24-48 hrs</b>	<b>48-72 hrs</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	19 $\pm$ 1	16 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	13 $\pm$ 1	16 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1

**CONSUMO DE ALIMENTO**



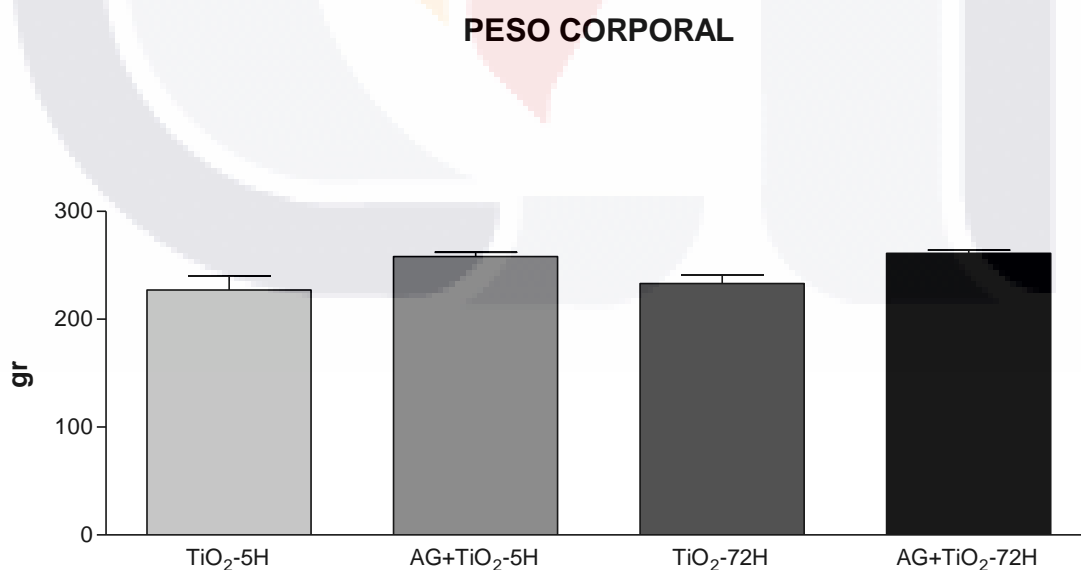
**Figura VII.7-2** Consumo de alimento de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

**Peso corporal**

El peso corporal de los animales de experimentación tratados con AG  $\omega$ -3 +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue medido al inicio del experimento (0 hrs.) y al final (72 hrs.), después del tratamiento con el extracto estandarizado mencionado anteriormente.

**Tabla VII.7-3** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el peso corporal de los animales de experimentación obtenido a las 0 y 72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Peso corporal (gr)		
Grupo	0 hrs	72 hrs
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	227 $\pm$ 13	246 $\pm$ 16
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	258 $\pm$ 4	261 $\pm$ 3



**Figura VII.7-3** Peso corporal de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).



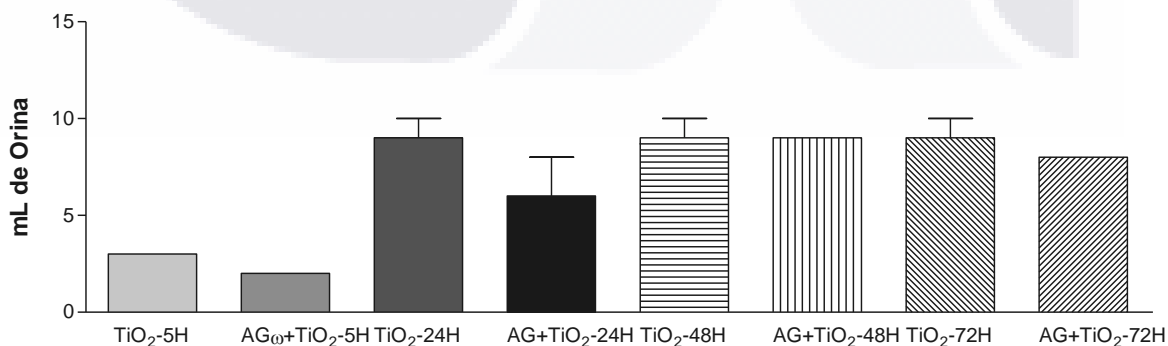
**Volumen urinario**

El volumen urinario de los animales de experimentación tratados con AG  $\omega$ -3 +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. después de los tratamientos mencionados anteriormente. Cabe mencionar que los valores de este parámetro en el tiempo de 0-5 hrs, es menor que en los demás debido al corto tiempo que representa dicho período de muestreo, en comparación con los otros tiempos (5-24, 24-48 y 48-72 hrs.).

**Tabla VII.7-4** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en el volumen urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Volumen urinario (ml)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	3 $\pm$ 0	9 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	2 $\pm$ 0	6 $\pm$ 2	9 $\pm$ 0	8 $\pm$ 0

**VOLUMEN URINARIO**



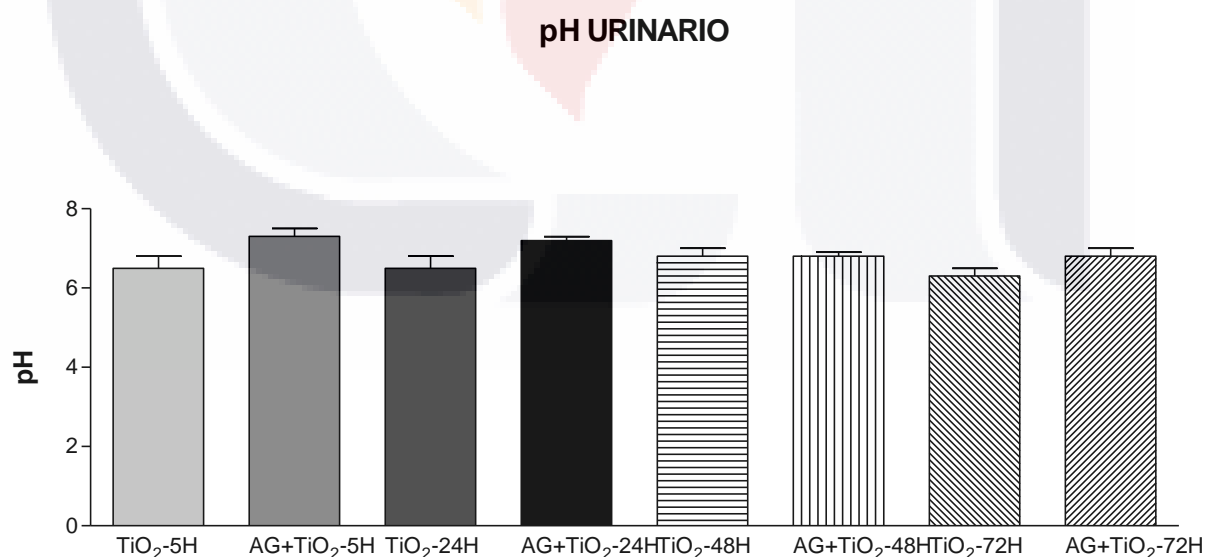
**Figura VII.7-4** Volumen urinario de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

**PH urinario**

El pH urinario de los animales de experimentación tratados con AG  $\omega$ -3 +TiO<sub>2</sub>, no presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-5** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por de NPs de TiO<sub>2</sub> en el pH urinario de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

pH urinario				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	6.5 $\pm$ 0.3	6.5 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 0.2	6.3 $\pm$ 0.2
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	7.3 $\pm$ 0.2	7.2 $\pm$ 0.1	6.8 $\pm$ 0.1	6.8 $\pm$ 0.2



**Figura VII.7-5** pH urinario de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

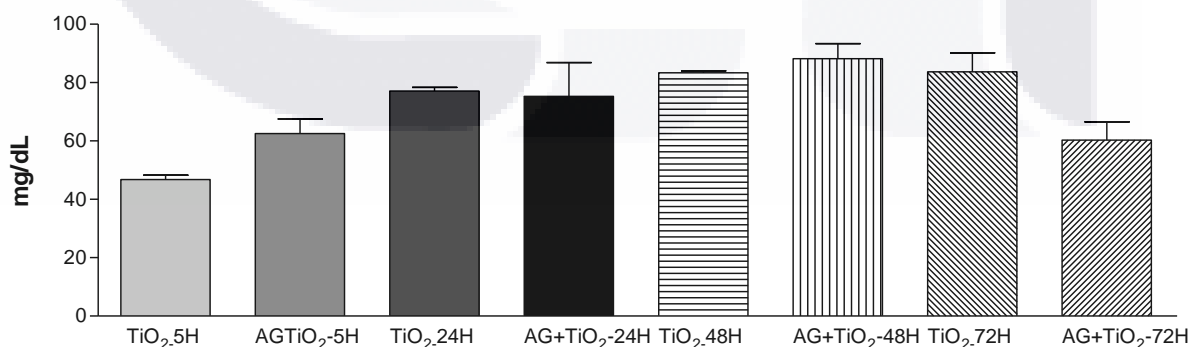
**Creatinina urinaria**

Los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación tratados con AG  $\omega$ -3 +TiO<sub>2</sub>, no presentaron diferencias significativas con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-6** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en los valores de creatinina urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Creatinina urinaria (mg/dL)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	47 $\pm$ 2	77 $\pm$ 1	83 $\pm$ 1	84 $\pm$ 7
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	63 $\pm$ 5	75 $\pm$ 3	88 $\pm$ 5	60 $\pm$ 6

**CREATININA EN ORINA**



**Figura VII.7-6** Concentración de creatinina en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) +TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

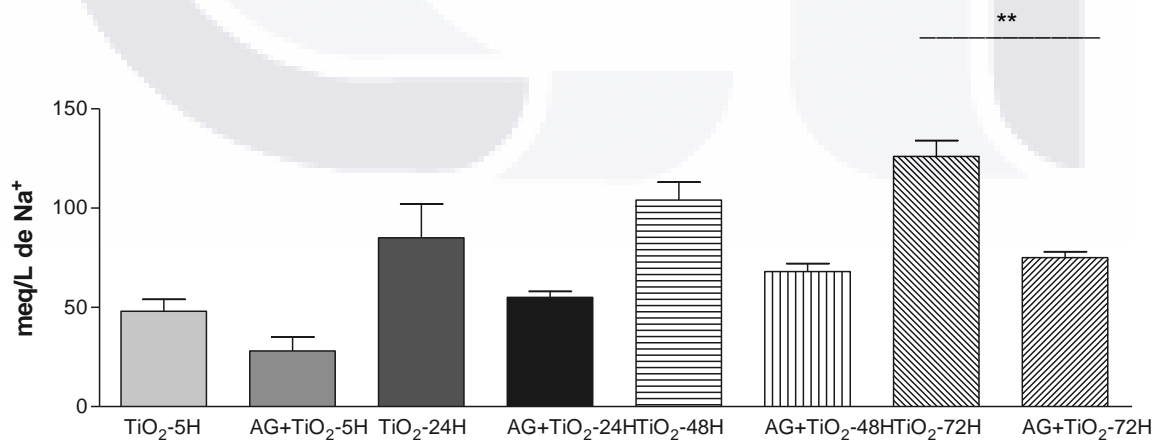
**Concentración urinaria de sodio**

La concentración de sodio en orina de los animales de experimentación, si mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, al tiempo 48-72 hrs, el valor de este parámetro disminuyó 68% (p<0.01), al comparar el valor obtenido en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> en el mismo tiempo evaluado. Por su parte, en los tiempos de 0-5, 5-24, y 24-48 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar los grupos tratados mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-7** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la concentración urinaria de sodio de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Concentración urinaria de sodio (meq/L)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	48 $\pm$ 6	85 $\pm$ 17	104 $\pm$ 9	126 $\pm$ 8
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	28 $\pm$ 7	55 $\pm$ 3	68 $\pm$ 4	75 $\pm$ 3

**SODIO EN ORINA**



**Figura VII.7-7** Concentración de Na<sup>+</sup> en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem) (\*\* = P<0.01).

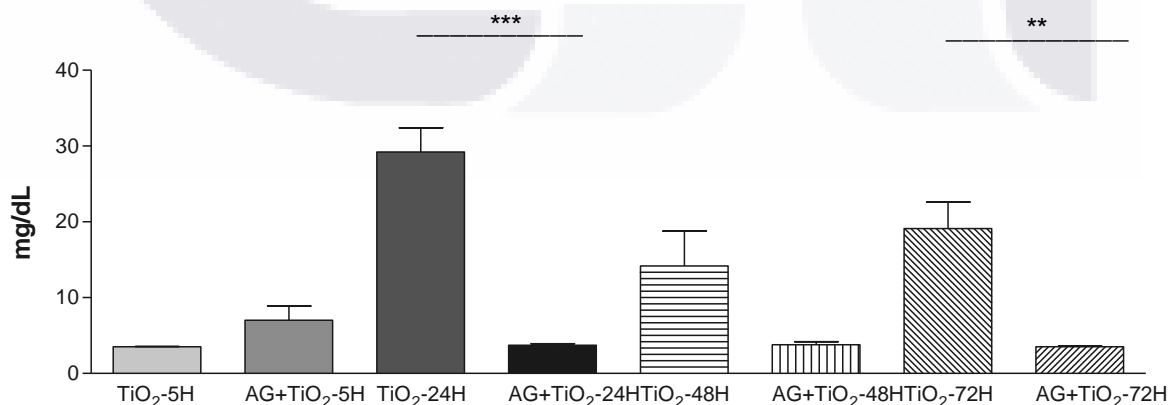
**Concentración urinaria de glucosa**

La concentración de glucosa en orina de los animales de experimentación, si mostró diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 + de  $TiO_2$ , ya que en dicho grupo, en los tiempos de 5-24 y 48-72 hrs, el valor de este parámetro disminuyó 7.9 ( $p < 0.001$ ) y 5.5 ( $p < 0.01$ ) veces respectivamente, los valores obtenidos del grupo tratado con NPs de  $TiO_2$  al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Por su parte, en el tiempo de de 0-5 y 24-48 hrs, no se observaron diferencias significativas al comparar los grupos tratados mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-8** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de  $TiO_2$  en la concentración urinaria de glucosa de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Concentración urinaria de glucosa (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con $TiO_2$ (n = 6)	3.5 $\pm$ 0.1	29.2 $\pm$ 3.2	14.2 $\pm$ 4.6	19.1 $\pm$ 3.5
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + $TiO_2$ (n = 6)	7.0 $\pm$ 0.1	3.7 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.4	3.5 $\pm$ 0.1

**GLUCOSA EN ORINA**



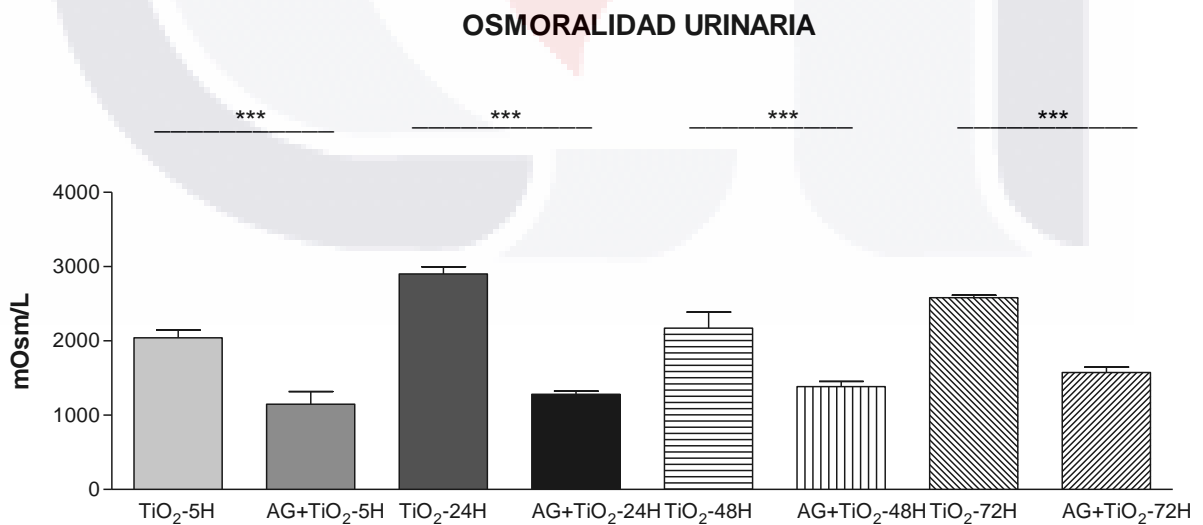
**Figura VII.7-8** Concentración de glucosa en orina de ratas Wistar machos tratadas con  $TiO_2$  (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) +  $TiO_2$  (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$  eem) (\* =  $P < 0.05$ , \*\*\* =  $P < 0.001$ ).

**Osmolaridad urinaria**

Los valores de osmolaridad urinaria de los animales de experimentación si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG ω-3 + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs), el valor de este parámetro disminuyó 44.8% (p<0.001), 53.9% (p<0.001), 36% (p<0.001) y 39% (p<0.001) respectivamente, en relación a los valores obtenidos en el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> comparando los mismos tiempos evaluados entre sí.

**Tabla VII.7-9** Efecto de AG ω-3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> sobre la osmolaridad urinaria de los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios (± e.e.m).

Osmolaridad urinaria (mOsm/L)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	2042 ± 102	2902 ± 97	2170 ± 218	2580 ± 34
Tratamiento con AG ω-3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	1149 ± 168	1281 ± 45	1384 ± 71	1574 ± 74



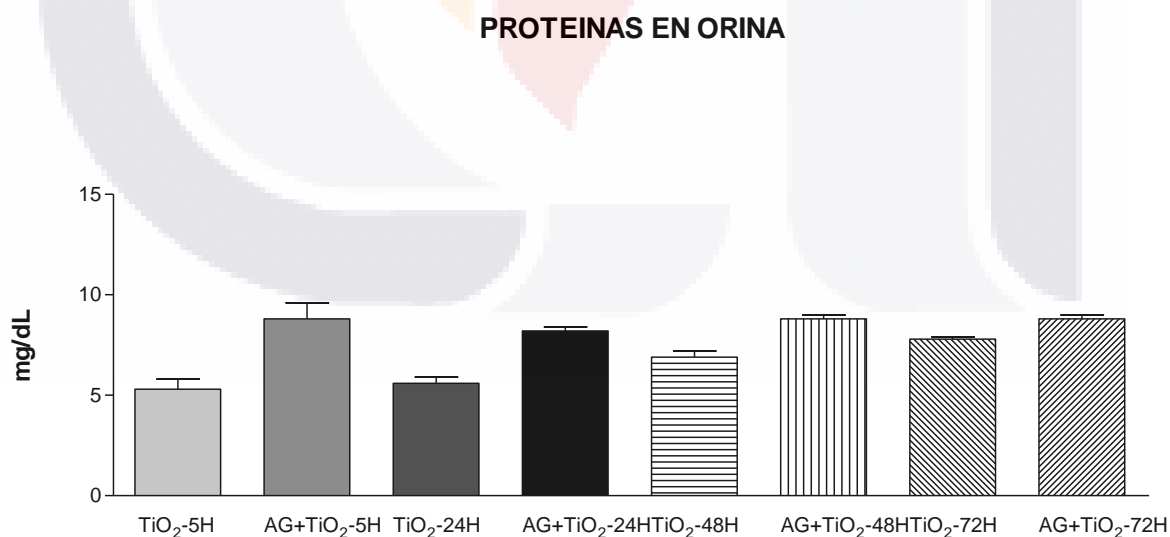
**Figura VII.7-9** Osmolaridad en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG ω (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios (±eem) (\*\*\*) = P<0.001).

**Concentración urinaria de proteínas**

La concentración de proteínas en orina de los animales de experimentación, no presentó diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 + TiO<sub>2</sub>, con respecto al grupo tratado con solamente las NPs de TiO<sub>2</sub>, al comparar los mismos tiempos evaluados entre sí. Cabe mencionar que este parámetro fue evaluado en los tiempos 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs, después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-10** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la concentración urinaria de proteínas en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

Concentración urinaria de proteínas (mg/dL)				
Grupo	0-5 hrs.	5-24 hrs.	24-48 hrs.	48-72 hrs.
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	6.9 $\pm$ 0.3	6.6 $\pm$ 1.5	8.3 $\pm$ 0.2	7.3 $\pm$ 0.2
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	8.8 $\pm$ 0.8	8.2 $\pm$ 0.2	8.2 $\pm$ 0.2	8.8 $\pm$ 0.8



**Figura VII.7-10** Concentración de proteínas en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$ -3 (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem).

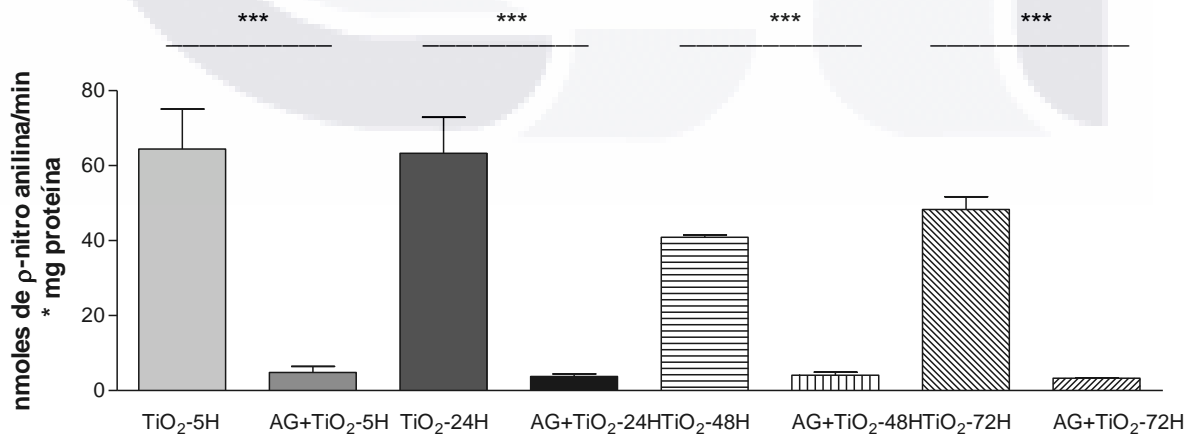
**Actividad específica urinaria de  $\gamma$ -glutamyl transpeptidasa ( $\gamma$ -GTP)**

La valores de la actividad específica de la enzima  $\gamma$ -GTP en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs.), el valor de este parámetro disminuyó en 13.4 (p<0.001), 16.7 p<0.001), 10 (p<0.001) y 14.6 (p<0.001) veces respectivamente, en relación a los valores del grupo tratado con solamente NPs de TiO<sub>2</sub>, comparando los mismos tiempos evaluados después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-11** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -GTP en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de <math>\gamma</math>-GTP (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	64.4 $\pm$ 10.4	63.3 $\pm$ 9.6	40.9 $\pm$ 0.6	48.3 $\pm$ 3.4
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	4.8 $\pm$ 1.6	3.8 $\pm$ 0.6	4.1 $\pm$ 0.8	3.3 $\pm$ 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE TP $\gamma$ G en orina**



**Figura VII.7-11** Actividad específica de la enzima TP $\gamma$ G en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m). (\*\*\*) = P<0.001).



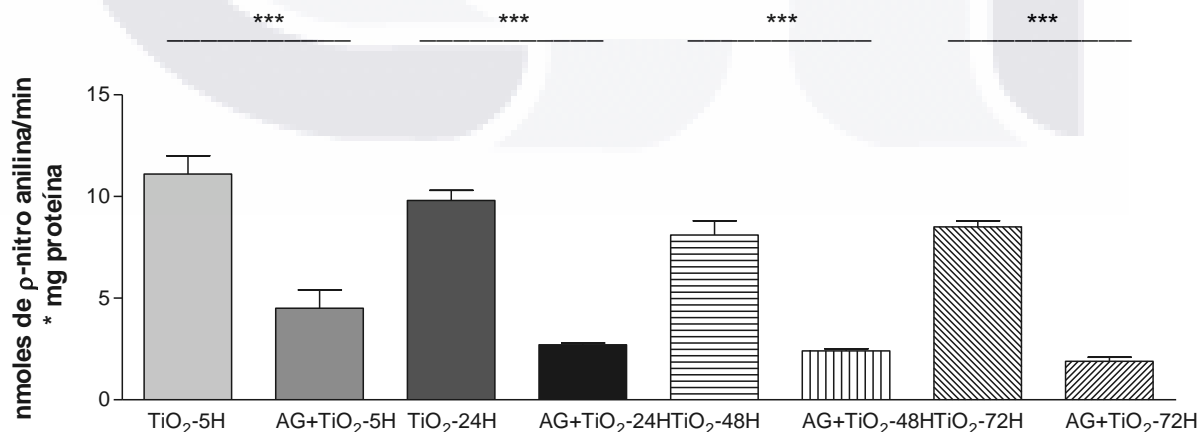
**Actividad específica urinaria de dipeptidil aminopeptidasa-IV (DAP-IV)**

La valores de la actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs), el valor de este parámetro disminuyó en 2.5 (p<0.001), 3.6 (p<0.001), 3.4 (p<0.001) y 4.5 (p<0.001) veces respectivamente, en relación a los valores del grupo tratado con solamente NPs TiO<sub>2</sub>, comparando los mismos tiempos evaluados después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-12** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de DAP-IV en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de DAP-IV (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	11.1 $\pm$ 0.9	9.8 $\pm$ 0.5	8.1 $\pm$ 0.7	8.5 $\pm$ 0.3
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	4.5 $\pm$ 0.9	2.7 $\pm$ 0.1	2.4 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.2

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE DAP-IV en orina**



**Figura VII.7-12** Actividad específica de la enzima DAP-IV en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) o con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p.) + TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem). (\*\*\*) = P<0.001).

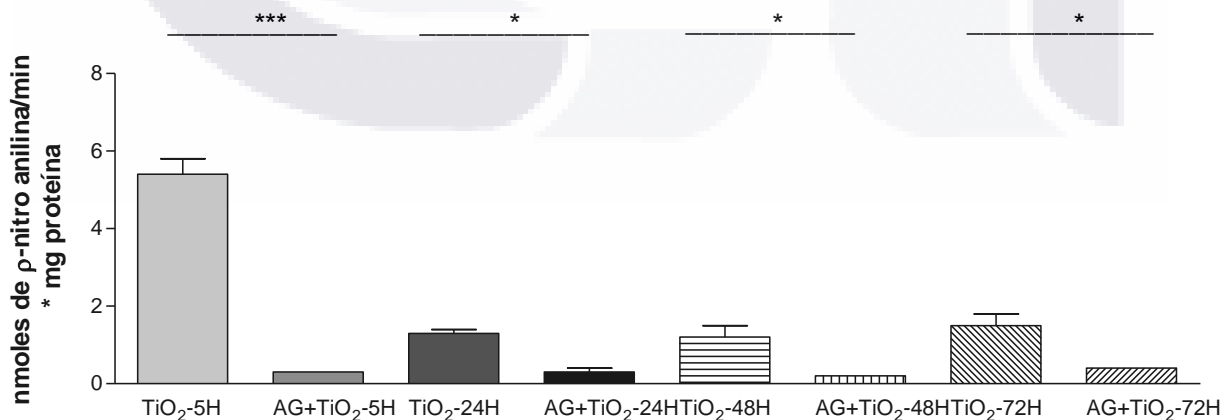
**Actividad específica urinaria de alanino aminopeptidasa (APA)**

La valores de la actividad específica de la enzima APA en orina de los animales de experimentación, si mostraron diferencias significativas por parte del grupo tratado con AG  $\omega$ -3 + TiO<sub>2</sub>, ya que en dicho grupo, a todos los tiempo evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs), el valor de este parámetro disminuyó en 18 ( $p < 0.001$ ), 4.3 ( $p < 0.05$ ), 6 ( $p < 0.05$ ) y 3.8 ( $p < 0.05$ ) veces respectivamente, en relación a los valores del grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub> al comparar los mismos tiempos evaluados después de los tratamientos mencionados anteriormente.

**Tabla VII.7-13** Efecto de AG  $\omega$ -3 sobre los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub> en la actividad específica urinaria de APA en los animales de experimentación obtenido a las 0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 hrs. Se expresan los valores medios ( $\pm$  e.e.m).

<b>Actividad específica urinaria de APA (nmol de <math>\rho</math>-nitroanilina/min*mg proteína)</b>				
<b>Grupo</b>	<b>0-5 hrs.</b>	<b>5-24 hrs.</b>	<b>24-48 hrs.</b>	<b>48-72 hrs.</b>
Tratamiento con TiO <sub>2</sub> (n = 6)	5.4 $\pm$ 0.4	1.3 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.3
Tratamiento con AG $\omega$ -3 + TiO <sub>2</sub> (n = 6)	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.1

**ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE APA en orina**



**Figura VII.7-13** Actividad específica de la enzima APA en orina de ratas Wistar machos tratadas con TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.) y con AG  $\omega$  (10mg/kg i.p)+TiO<sub>2</sub> (5mg/kg i.v.). Se expresan los valores medios ( $\pm$ eem). (\* = $P < 0.05$ , \*\*\* = $P < 0.001$ ).

## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la década pasada, la mayoría de los estudios sobre nanotoxicología ha sido llevados a cabo en cultivos celulares, dentro de los cuales, algunos se han realizado en células renales. (Choi et al., 2011; Ismagilov et al., 2012; L`Azou et al., 2008; Pujalté et al., 2011). Sin embargo, hay un crecimiento en la necesidad de estudios sobre los efectos de nanopartículas *in vivo*. (Fisher & Chang, 2007; Iavicoli et al., 2012).

### VIII.1 Nefrotoxicidad aguda de NPs de TiO<sub>2</sub>

El hígado y los riñones participan de manera importante en el mantenimiento de la homeostasis corporal y en la eliminación de xenobióticos. Sin embargo, estos órganos pueden ser dañados por muchas sustancias tóxicas, entre ellos los metales y sus nanopartículas (Klaassen y Watkins, 2001).

En el presente estudio, se encontró que los efectos renales tempranos que se presentaron con la exposición a las NPs de TiO<sub>2</sub>, por parte de las ratas macho adultas, fue el incremento de la actividad específica de las enzimas peptidasas  $\gamma$ -GTP, DAP-IV y APA. Estas enzimas se localizan predominantemente en la membrana apical del borde en cepillo en las células proximales de las nefronas renales. (Guder & Ross, 1984; Lambeir et al., 2003; Kim et al., 2006; Smith et al., 1995). Por otro lado, las actividades enzimáticas en suero, plasma u orina, son uno de los marcadores de daño en órganos más ampliamente utilizados en experimentos toxicológicos en animales. (Braun et al., 1993; Trevisan et al., 2001; Zhou et al., 2008).

En relación con lo anterior, se propone que los efectos mencionados, son principalmente producidos por una interacción directa de las NPs de TiO<sub>2</sub> con la membrana citoplasmática de las células del borde en cepillo en el lado luminal de los túbulos renales, debido al pequeño tamaño y ausencia de carga eléctrica de dichas nanopartículas, haciendo más fácil su absorción generado la alteración y disrupción en las membranas citoplasmáticas. De esta forma, las NPs de TiO<sub>2</sub>, incrementan la liberación de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

las peptidasas mencionadas anteriormente a partir de la membrana citoplásmica, lo que se refleja como un incremento en sus actividades en orina.

La interpretación anterior, está fundamentada en los efectos de NPs catiónicas y de TiO<sub>2</sub> descritas en membranas modelo (Aillon et al., 2009; Chen & Bothum, 2014; Gkeka et al., 2013; Hong et al., 2006; Leroueil et al., 2007; Lesniak et al., 2013; Li & Malmstadt, 2013; Moghadam et al., 2012; Negoda et al., 2013; Wu et al., 2013), y en células intactas (Andreozzi et al., 2013; Arvizo et al., 2010; Geiser et al., 2005; Planque et al., 2011; Rothen-Rutishauser et al., 2006; Shaw et al., 2008).

Estos autores describen sus resultados relacionando una alteración física en membranas biológicas modelo y membranas celulares reales, debido a las propiedades químicas de nanomateriales que generan nanoagujeros en las membranas disminuyendo su estabilidad. Estas interacciones dependen de fuerzas coloidales, así como de parámetros dinámicos biofísicoquímicos. (Shvedova et al., 2010; Nel et al., 2009).

Otro de los efectos que se presentaron con la administración de NPs de TiO<sub>2</sub> fue incremento en la concentración urinaria de sodio. Brevemente, la reabsorción de sodio se lleva a cabo en varios segmentos de la nefrona. El túbulo proximal es responsable de la reabsorción de alrededor del 67% de la carga de sodio filtrado. El sodio entra en las células tubulares proximales por medio de una serie de acarreadores que también transporta otros solutos (Aronson, 2002). Por lo tanto, existen diferentes cotransportadores de sodio-glucosa, sodio-posfatos y sodio-aminoácidos.

Por su parte, en la rama ascendente gruesa el asa de Henle, el sodio es reabsorbido (25%) por el cotransportador Na-K-2Cl ubicado en la membrana luminal. En el caso del túbulo distal, el sodio es transportado y reabsorbido (5%) contra un gradiente electroquímico por medio de simportadores Na-Cl. (Reeves & Andreoli 2000).

Continuando con lo anterior, la alteración de la membrana citoplásmica ocasionada por las NPs de TiO<sub>2</sub>, puede alterar la función de los cotransportadores de sodio-glucosa (Horiba et al., 2003; Wright, 2013), principalmente el rSGLT-2 de rata (Sabolic et al., 2012), y el SGLT-5 en humanos (Grempler et al., 2012), así como

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

cotransportadores de iones principalmente el Na-K-Cl. (Arroyo et al., 2013; Gamba, 2005; Kaplan et al., 1996; Markadieu & Delpire, 2014; Plotkin et al., 1996; Rusell, 2000; Yang et al., 1996). Estos transportadores son los mayormente involucrados en los valores de osmolaridad urinaria que se pueden obtener. (Choi et al., 2012).

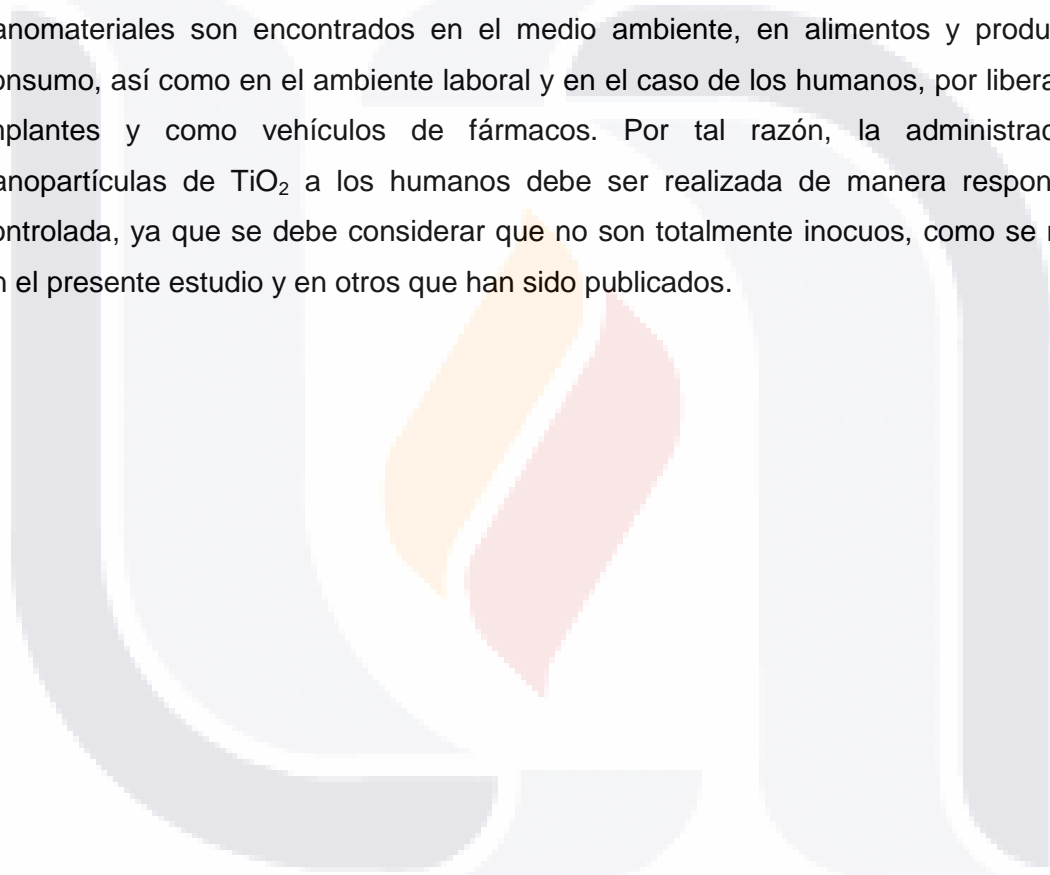
Los efectos de incremento en la concentración urinaria de glucosa (hiperglucosuria), incremento en la concentración urinaria de sodio (hipernatriuria) y el incremento de la osmolaridad, se presentaron después de la enzimuria. Por lo tanto, estos efectos pudieron producirse por una desregulación de los cotransportadores mencionados anteriormente de las nefronas renales.

En relación a lo anterior, debe señalarse que el manejo renal de agua y solutos filtrados en los glomérulos es un proceso complejo e integrado, durante el cual el volumen del filtrado glomerular y su composición se alteran de manera progresiva, mientras el líquido fluye por los diferentes segmentos tubulares. En el túbulo proximal es reabsorbido del 60 al 80 % del agua y solutos filtrados. La resorción de agua es un proceso pasivo e iso-osmótico impulsado de manera primaria por la resorción de los iones de Na<sup>+</sup>. Estos iones difunden al interior de las células proximales y salen de ellas mediante la actividad de la Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa, localizada en la membrana basolateral. Además, en este sitio existen sistemas de transporte que secretan diversas sustancias endógenas y xenobióticos. Para que los procesos de reabsorción y secreción funcionen adecuadamente, se requiere de un elevado aporte de energía y, por ello, las células proximales tienen abundantes mitocondrias. Esta circunstancia explica el hecho de que los xenobióticos que afectan la producción de energía, o cualquiera de los sistemas especializados de transporte, puedan dañar la función renal (Jaramillo et al, Tox Básica).

En relación con lo anterior, no se descarta la participación de estrés oxidativo en los efectos renales producidos por las NPs de TiO<sub>2</sub> como ha sido reportado. (Hussain et al., 2009; Kenzaoui et al., 2013; Manke et al., 2013). Sin embargo, se propone que el estrés oxidativo generado por dichas nanopartículas es generado en tiempos posteriores (Escárcega-González 2012).

Por otra parte, las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  no modificaron significativamente la concentración urinaria de proteínas, la concentración urinaria de creatinina, el volumen y el pH urinario. De igual modo, dichas nanopartículas no modificaron significativamente el consumo de agua y de alimento, ni tampoco el peso corporal de los animales de experimentación.

Finalmente, estos efectos renales producidos por NPs de  $\text{TiO}_2$  pueden ser usados como otros biomarcadores de exposición por parte de los seres vivos, debido a que estos nanomateriales son encontrados en el medio ambiente, en alimentos y productos de consumo, así como en el ambiente laboral y en el caso de los humanos, por liberación de implantes y como vehículos de fármacos. Por tal razón, la administración de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  a los humanos debe ser realizada de manera responsable y controlada, ya que se debe considerar que no son totalmente inocuos, como se muestra en el presente estudio y en otros que han sido publicados.



## VIII.2 Efectos protectores del Gb contra los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub>

La administración de una dosis única intraperitoneal de extracto de Gb, (10mg/kg), revirtió de manera significativa ( $p < 0.05$ ), los efectos renales de una dosis única e intravenosa (5mg/kg) de NPs de TiO<sub>2</sub>, estudiados en la orina de ratas macho adultas. La dosis de TiO<sub>2</sub> que fue administrada fue 11.8 veces menor que su DL<sub>50</sub>. (Volkovová et al. 2014).

Por su parte, las NPs de TiO<sub>2</sub> es un fino polvo blanco, frecuentemente usado como pigmento y aditivo para cerámicas, alimentos, pinturas, papel, plásticos, bloqueadores solares y pasta de dientes. (Chen & Mao 2007). Por tal razón, organismos vivos están expuestos a NPs de TiO<sub>2</sub>, pudiendo presentar efectos tóxicos.

La toxicidad de NPs de TiO<sub>2</sub> ha sido principalmente estudiado *in vitro* (Arora et al. 2012; Barillet et al. 2010; Iavicoli et al. 2011; Jin et al. 2011; Smulders et al. 2015), y por lo tanto son pocos los estudios realizados *in vivo* (Smulders et al. 2014), ante la creciente necesidad de realizar de realizar más trabajos de este tipo este campo de investigación. (Fischer & Chan 2007; Iavicoli et al. 2012).

El Ginkgo biloba, es uno de los remedios herbolarios más ampliamente utilizado en Europa y los Estados Unidos (Heinonen & Gaus 2015). Es bien sabido que el EGb contiene 27% de los polifenoles isoramnetina, camferol y quercetina (Deng & Zito 2003; Dubber & Kanfer 2004; Li et al. 2004; Van Beek & Montoro 2009).

Por lo tanto, se propone que la protección que el EGb proporciona a los riñones contra los efectos de las NPs de TiO<sub>2</sub>, son principalmente debido a la interacción de los polifenoles del EGb con la membrana citoplasmática de las células del borde en cepillo en los túbulos renales. Existen muchos trabajos que muestra la interacción de los polifenoles con membranas modelo (Arora et al. 2000; Ciešlik-Boczula et al. 2012; Hendrich 2006; Lehtonen et al. 1996; Liao & Yin 2000; Olilla et al. 2002; Oteiza et al. 2005; Pawlikowska-Pawłęga et al. 2007; Pawlikowska-Pawłęga et al. 2012; Pawlikowska-Pawłęga et al. 2014; Raghunathan et al. 2012; Scheidt et al. 2004; Tsuchiya et al. 2002; Zhang et al. 2014), y

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

con membranas de eritrocitos (Ajdzanowic et al. 2010; Cyboran et al. 2012; Liao & Yin 2000; Pawlikowska-Pawłęga et al. 2003; Pawlikowska-Pawłęga et al. 2014).

Muchos de los autores anteriores, reportan que la evidencia de esta interacción es principalmente debido a la formación de puentes de hidrógeno entre las cabezas polares de los lípidos de membrana y los grupos hidroxilo de los polifenoles. Esta interacción estabilizaría las membranas y su fluidez en la región hidrofílica de la membrana.

De igual modo, es posible que el efecto protector del EGb en los riñones sea potenciado por sus componentes y su farmacocinética, tal y como se ha reportado *in vivo* en rats (Guan et al. 2014), y en estudios como tratamiento contra el cáncer (Liu 2004; Yang et al. 2014; Wagner 2011). Además, en el presente estudio se propone que los polifenoles del EGb participan como antioxidantes (Pahari et al. 2012) en la protección renal contra los efectos de las NPs de TiO<sub>2</sub> principalmente a los últimos tiempos (Escárcega-González 2012).

En relación con lo anterior, no se descarta la participación de los componentes del EGb como antioxidantes para con los efectos generados por las NPs mencionadas, tal como es reportado en varios trabajos (Bolt et al. 2012; Bruno et al. 2014; Halamoda et al. 2013; Hussain et al. 2009; Pujalté et al. 2011).

Por su parte, no se encontraron diferencias significativas entre los valores del grupo control, el grupo tratado con NPs de TiO<sub>2</sub> y el grupo tratado con el EGb en los siguientes parámetros: volumen urinario, concentración urinaria de proteínas, concentración urinaria de creatinina y pH urinario. De igual forma, el consumo de agua y alimento, así como el peso corporal de los animales de experimentación, tampoco presentaron diferencias significativas al comparar los grupos mencionados anteriormente.

Finalmente, con lo explicado anteriormente, se puede argumentar que el EGb puede ser de gran ayuda para a la salud, ya que puede proteger órganos y tejidos como los riñones contra la exposición a xenobióticos que en este caso fueron NPs de TiO<sub>2</sub>. Al respecto, es importante el tomar en cuenta la dosis y el tiempo de exposición al momento de consumir productos como el EGb.



### VIII.3 Efectos protectores de la Vit. E contra los efectos producidos por NPs de TiO<sub>2</sub>

Al igual que con el EGb, la administración de una dosis única intraperitoneal del preparado estandarizado de vit. E, (10mg/kg), revirtió de manera significativa ( $p < 0.05$ ), los efectos renales de una dosis única e intravenosa (5mg/kg) de NPs de TiO<sub>2</sub>, estudiados en la orina de ratas macho adultas. La dosis de TiO<sub>2</sub> que fue administrada fue 11.8 veces menor que su DL<sub>50</sub>. (Volkovová et al. 2014).

La reversión de los efectos, se explica porque la actividad de las peptidasas TPyG y DAP-IV que se encuentran en la membrana del borde en cepillo de las células tubulares proximales renales, disminuyó de manera significativa en todos los tiempos, lo que indica un efecto protector que impidió el desprendimiento de dichas enzimas de su lugar por efecto de las NPs, ya que éstas enzimas se encuentran en contacto con la luz tubular. En relación a la concentración de glucosa urinaria, esta disminuyó de manera significativa sobre todo a las 24 y 72 H, con el tratamiento preventivo con vitamina E (Vit. E+TiO<sub>2</sub>), en comparación con el tratamiento con solo NPs de TiO<sub>2</sub>. Esto sugiere que la vitamina E, protege las membranas de las células tubulares renales y por consiguiente a los transportadores que reabsorben glucosa, impidiendo la entrada de las NPs de TiO<sub>2</sub> y disminuyendo el estrés oxidativo producido por ellas. En cuanto a la concentración de sodio, también se observó un efecto protector en las membranas de las células tubulares renales sobre todo a las 48 y 72 H, lo que sugiere que las membranas tubulares proximales y por lo tanto, los transportadores sodio/glucosa están siendo protegidos por la vitamina E. Por su parte, la osmolaridad urinaria se vió disminuida con el tratamiento preventivo con vitamina E en comparación con el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub> de manera significativa a las 24 Hrs. Esto sugiere protección a las membranas tubulares renales por efecto directo de las NPs de TiO<sub>2</sub> y por consiguiente a los transportadores encargados de reabsorber sustancias como el sodio y la glucosa.

La vitamina E, considerada el antioxidante liposoluble en los sistemas biológicos, es el principal antioxidante de las membranas biológicas, y por lo cual protege a las membranas fosfolípídicas de la agresión oxidativa. (Riella & Martins 2003; Al-Attar 2011). Por lo tanto, esta vitamina protege a las membranas celulares y participa de manera

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

importante en el mantenimiento y estabilización de dichas estructuras (Al-attar 2010; Kadkhodae et al. 2004; Jaramillo et al. 2012). En relación con lo anterior, de los cuatro tocoferoles, el  $\alpha$ -tocoferol es la forma más activa por las características de su molécula, la cual tienen una parte polar y otra apolar; la región polar la constituye el anillo cromano y su grupo fenólico (-OH) y es el responsable de la actividad antioxidante; la región apolar está formada por la cadena alifática ( $-C_{16}H_{33}$ ) de la molécula, la cual favorece su inserción en la bicapa lipídica de las membranas celulares (Jaramillo et al. 2012; <http://ethesis.helsinki.fi>). En este sentido, la preparación que mejor se absorbe es la emulsión acuosa de acetato de tocoferol. Una vez absorbida, la vitamina E es transportada en las lipoproteínas del plasma y en los eritrocitos, a cuya membrana se asocia fuertemente. (Jaramillo et al. 2012).

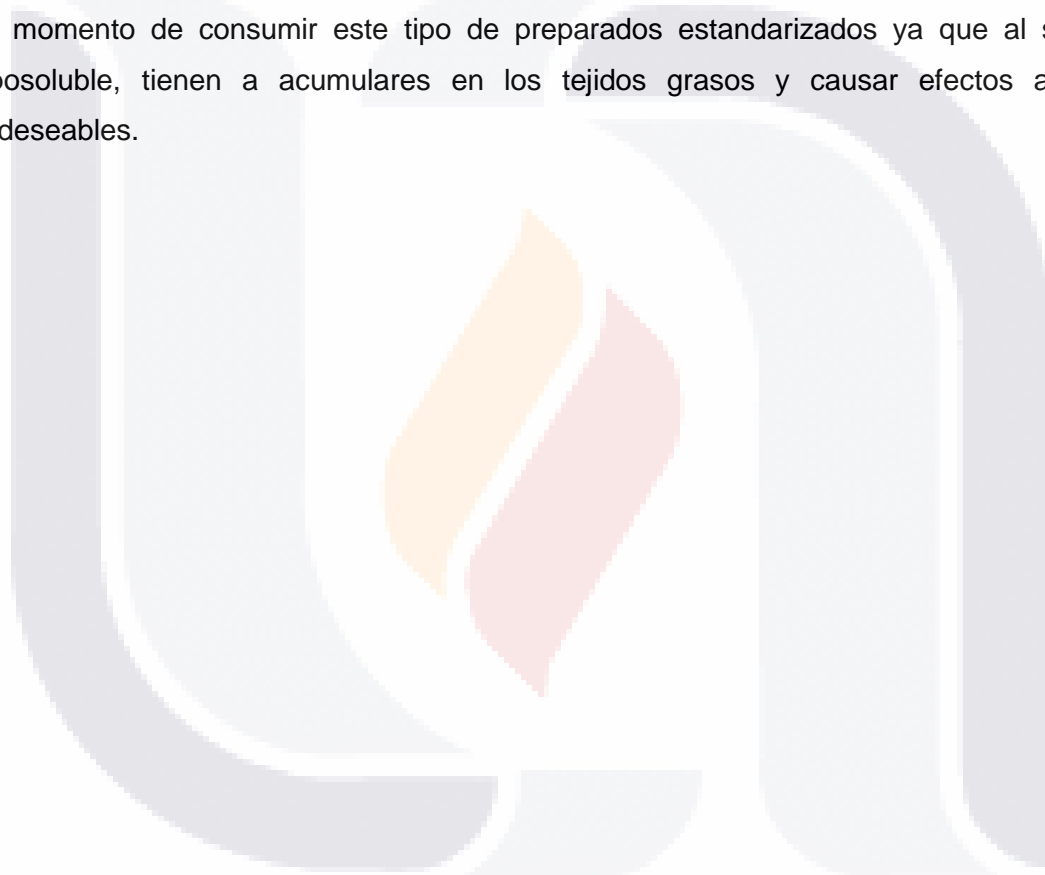
Por lo tanto, como en el caso del EGb, se propone que la protección que la vitamina E proporciona a los riñones contra los efectos de las NPs de  $TiO_2$ , son principalmente debido a la interacción de su estructura con la membrana citoplasmática de las células del borde en cepillo en los túbulos renales. Esta vitamina, como ya se ha mencionado, puede estabilizar las membranas biológicas ya que se incrusta en ellas (<http://ethesis.helsinki.fi>; Jaramillo et al. 2012) y por lo que pudiera hacer un efecto pantalla, impidiendo el daño por efecto directo por parte de las nanopartículas de  $TiO_2$  en los túbulos renales.

Por otra parte, la potente actividad antioxidante de la vitamina E, también puede ejercer efecto protector en los riñones, principalmente en los últimos tiempos de estudio (Escárcega-González 2012), ya que dicha vitamina posee una alta capacidad para neutralizar radicales libres producidos en tejidos por la exposición a distintos xenobióticos como los metales pesados, fármacos antineoplásicos, nanopartículas, pesticidas, entre otros (Jilanchi et al. 2013; Al-Attar 2011; Ganther 1978; Galal et al. 2014).

Por su parte, no se encontraron diferencias significativas entre los valores del grupo control, el grupo tratado con NPs de  $TiO_2$  y el grupo tratado con el preparado estandarizado de vitamina E en los siguientes parámetros: volumen urinario, concentración urinaria de proteínas, concentración urinaria de creatinina y pH urinario. De igual forma, el consumo de agua y alimento, así como el peso corporal de los animales de

experimentación, tampoco presentaron diferencias significativas al comparar los grupos mencionados anteriormente.

Por último, tal y como sucede con el EGb, se puede argumentar que consumir preparados estandarizados de vitamina E pueden ser de gran ayuda para a la salud, ya que dentro de sus múltiples beneficios con los que cuenta, puede proteger órganos y tejidos como los riñones contra la exposición a xenobióticos que en este caso fueron NPs de  $\text{TiO}_2$ . Al respecto, es importante el tomar en cuenta la dosis y el tiempo de exposición al momento de consumir este tipo de preparados estandarizados ya que al ser muy liposoluble, tienen a acumularse en los tejidos grasos y causar efectos adversos indeseables.



#### **VIII.4 Efectos protectores de los ácidos grasos $\omega$ -3 contra los efectos producidos por NPs de $\text{TiO}_2$**

Similar que con el EGb, y el preparado estandarizado de vitamina E, la administración de una dosis única intraperitoneal del preparado estandarizado de ácidos grasos  $\omega$ -3, (10mg/kg), revirtió de manera significativa ( $p < 0.05$ ), los efectos renales de una dosis única e intravenosa (5mg/kg) de NPs de  $\text{TiO}_2$ , estudiados en la orina de ratas macho adultas. La dosis de  $\text{TiO}_2$  que fue administrada fue 11.8 veces menor que su  $\text{DL}_{50}$ . (Volkovová et al. 2014).

La reversión de los efectos se explica porque la actividad de las peptidasas TPYG, DAP-IV y APA que se encuentran en la membrana del borde en cepillo de las células tubulares proximales renales, disminuyó de manera significativa en todos los tiempos, lo que indica un efecto protector que impidió el desprendimiento de dichas enzimas de su lugar por efecto de las NPs, ya que éstas enzimas se encuentran en contacto con la luz tubular. En relación a la concentración de glucosa urinaria, esta disminuyó de manera significativa sobre todo a las 24 y 72 H, con el tratamiento preventivo con AG  $\omega$ -3 (AG  $\omega + \text{TiO}_2$ ), en comparación con el tratamiento con solo NPs de  $\text{TiO}_2$ . Esto sugiere que los AG  $\omega$ -3, protege las membranas de las células tubulares renales y por consiguiente a los transportadores que reabsorben glucosa, impidiendo la entrada de las NPs de  $\text{TiO}_2$  y disminuyendo el estrés oxidativo producido por ellas. Además, la concentración de sodio, también se observó un efecto protector en las membranas de las células tubulares renales sobre todo a las 72 H, lo que sugiere que las membranas tubulares proximales y por lo tanto, los transportadores sodio/glucosa están siendo protegidos por la AG  $\omega$ -3. Por su parte, la osmolaridad urinaria se vió disminuida con el tratamiento preventivo con AG  $\omega$ -3 en comparación con el tratamiento con NPs de  $\text{TiO}_2$  de manera significativa a las en todos los tiempos evaluados. Esto sugiere protección a las membranas tubulares renales por efecto directo de las NPs de  $\text{TiO}_2$  y por consiguiente a los transportadores encargados de reabsorber sustancias como el sodio y la glucosa.

La ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), se dividen grupos  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 y  $\omega$ -9, tienen efectos benéficos demostrados en la supresión de cancerígenos, hiperactividad alérgica, tendencia trombótica, apoplejía, hipertensión, hipertrigliceridemia y envejecimiento

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

(Sabaté, 2005). Este tipo de compuestos se pueden encontrar principalmente en aceites de varios pescados y algunas plantas.

Actualmente, está bien establecido que los ácidos grasos  $\omega$ -3, juegan un papel importante en el mantenimiento de la salud humana. Son considerados ácidos grasos esenciales ya que no pueden ser sintetizados por el organismo y requieren ser obtenidos a partir de la dieta. (Bradberry et al. 2013). Dentro de este grupo de lípidos, se encuentran ácidos grasos de cadena larga como el ácido  $\alpha$ -linoleico (ALA), el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) (Nettleton 1995; Bradberry et al. 2013).

En relación a lo anterior, como el caso del EGb y el preparado estandarizado de vitamina E, se propone que la protección que el preparado estandarizado de ácidos grasos  $\omega$ -3, son principalmente debido a la interacción de sus estructuras moleculares con la membrana citoplasmática de las células del borde en cepillo en los túbulos renales. Al respecto, este tipo de lípidos después de su consumo, son incorporados a las membranas celulares donde llevan a cabo una función de modulación en función de proteínas, señalización celular y expresión de genes (Bradberry et al. 2013; Surette 2008). Por lo tanto, lo anterior explica la reversión de los efectos renales producidos por las NPs de  $\text{TiO}_2$  ya que al proteger y estabilizar las membranas del borde en cepillo de los túbulos renales, la función en esta porción se ve mejorada y los parámetros regresan a sus valores normales, tal como se muestra en los resultados correspondientes.

En adición a lo anterior, es importante señalar que la presencia de ácidos grasos  $\omega$ -3, promueve la secreción de prostaglandinas antiinflamatorias y leucotrienos menos potentes, lo que resulta en un cambio en el entorno con una producción menor de mediadores de inflamación (James et al. 2000; Bradberry et al. 2013). Este proceso, puede también explicar la protección de las membranas celulares que los ácidos grasos  $\omega$ -3 ejercen de manera eficiente.

Por otra parte, los ácidos grasos  $\omega$ -3 pueden tener actividad antioxidante y por consiguiente protección a membranas celulares. Por ejemplo, ha sido descrito que el uso de ácido docosahexaenoico (DHA, protege a los riñones de los efectos adversos producidos por el cisplatino durante el tratamiento contra el cáncer, y además mejora la tasa filtración glomerular, reduce la inflamación y el estrés oxidativo producido por este agente quimioterapéutico (El-Mesery et al. 2009). Además se ha reportado que al igual que el DHA, el ácido eicosapentaenoico (EPA) exhibe una alta capacidad antioxidante y compite con el ácido araquidónico de los fosfolípidos de membrana, produciendo compuestos antiinflamatorios derivados de EPA. (Palaniswamy et al. 2014). Por estos efectos mencionados anteriormente, el EPA protege los riñones expuestos a la dioxina 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD), contra los efectos adversos producidos por dicho xenobiótico. (Palaniswamy et al. 2014)

Por lo tanto los ácidos grasos  $\omega$ -3, también como antioxidantes pueden ejercer su efecto protector en los riñones, principalmente en los últimos tiempos de estudio (Escárcega-González 2012), ya que, como se ha comentado, este tipo de compuestos poseen una alta capacidad antioxidante y por lo tanto son benéficos para la salud por que ayudan en el tratamiento de diversas enfermedades y además son útiles para mitigar efectos de xenobióticos e incluso promover su eliminación del organismo (Mansara et al. 2015; Abdel-Dayem et al. 2014; Privalova et al. 2014).

Por su parte, no se encontraron diferencias significativas entre los valores del grupo control, el grupo tratado con NPs de  $\text{TiO}_2$  y el grupo tratado con el preparado estandarizado de ácidos grasos  $\omega$ -3 en los siguientes parámetros: volumen urinario, concentración urinaria de proteínas, concentración urinaria de creatinina y pH urinario. De igual forma, el consumo de agua y alimento, así como el peso corporal de los animales de experimentación, tampoco presentaron diferencias significativas al comparar los grupos mencionados anteriormente.

Por último, tal y como sucede con el EGb, y el preparado estandarizado de vitamina E, se puede argumentar que consumir preparados estandarizados con ácidos grasos  $\omega$ -3, puede ser de gran ayuda para a la salud, ya que dentro de sus múltiples beneficios con los que cuenta, puede proteger órganos y tejidos como los riñones contra

la exposición a xenobióticos que en este caso fueron NPs de  $\text{TiO}_2$ . Al respecto, es importante el tomar en cuenta la dosis y el tiempo de exposición al momento de consumir este tipo de preparados estandarizados ya que al igual que cualquier antioxidante, en exceso pueden convertirse en sustancias prooxidantes.



### **VIII.5 Comparación entre los antioxidantes utilizados en presente estudio**

El uso de los 3 antioxidantes, realizó una protección en las membranas citoplasmáticas de las células tubulares renales contra los efectos renales de las NPs de TiO<sub>2</sub> como se describe a continuación parámetro por parámetro.

#### **Actividad específica de las transpeptidasas TPγG, DAP-IV y APA**

En general, los 3 antioxidantes realizaron una eficaz protección de la membrana el borde en cepillo de los túbulos en las nefronas renales, ya que en cuanto a los valores de actividad de específica de TPγG y DAP-IV, estos regresaron a valores normales en relación a los valores con el tratamiento con NPs de TiO<sub>2</sub>. Sin embargo en cuanto a la enzima APA, la protección fue mayor por parte de los ácidos grasos ω-3 ya que con ellos, los valores de su actividad específica disminuyó en mayor medida que los otros 2 antioxidantes. En este sentido, le siguió la vitamina E y al final el EGb. Por lo anterior, en este parámetro, los ácidos grasos ω-3 fueron ligeramente más efectivos, seguido de la vitamina E y el EGb.

#### **Concentración urinaria de sodio**

Por su parte, en términos generales, también los 3 antioxidantes proporcionaron protección para revertir los efectos de NPs de TiO<sub>2</sub> sobre los valores de concentración uirinaria de este parámetro, resultando una ligera mayor protección por parte de la vitamina E que los demás antioxidantes, ya que esta protección se vió a 2 tiempos de evaluación (24-48 y 48-72 Hrs). En el caso del EGb y los ácidos grasos ω-3, se observó protección a un tiempo (48-72 Hrs). Por lo tanto, en este contexto, la vitamina resultó ligeramente más eficaz que los otros 2 antioxidantes.



### **Concentración urinaria de glucosa**

En el caso de este parámetro, en general, tanto el EGb, la vitamina E y los ácidos grasos  $\omega$ -3, presentaron una protección similar al compararse entre sí, ya que los valores de la concentración urinaria de glucosa retornaron a valores normales a 2 tiempos de evaluación (5-24 y 48-72 Hrs) con los 3 antioxidantes, en relación a sus valores con el tratamiento con NPs de  $\text{TiO}_2$ . Por lo tanto, estos compuestos resultaron tener una eficacia similar en relación al parámetro mencionado.

### **Osmolaridad urinaria**

Por último, en cuanto al presente parámetro, igual que en los demás, en general los 3 antioxidantes presentaron protección, ya que hubo reversión a valores normales en relación al tratamiento con NPs de  $\text{TiO}_2$ , sin embargo, dicha protección fue más marcada con los ácidos grasos  $\omega$ -3 porque este fenómeno se observó a todos los tiempos evaluados (0-5, 5-24, 24-48 y 48-72 Hrs). En este sentido, le siguió el EGb porque con él, la protección se observó a 2 tiempos analizados (5-24 y 48-72 Hrs), y al final la vitamina E que lo hizo a un tiempo de evaluación (5-24 Hrs). Por lo tanto, los ácidos grasos  $\omega$ -3, en relación a este parámetro, resultaron más eficientes, seguido del EGb y la vitamina E.

### **Otros parámetros**

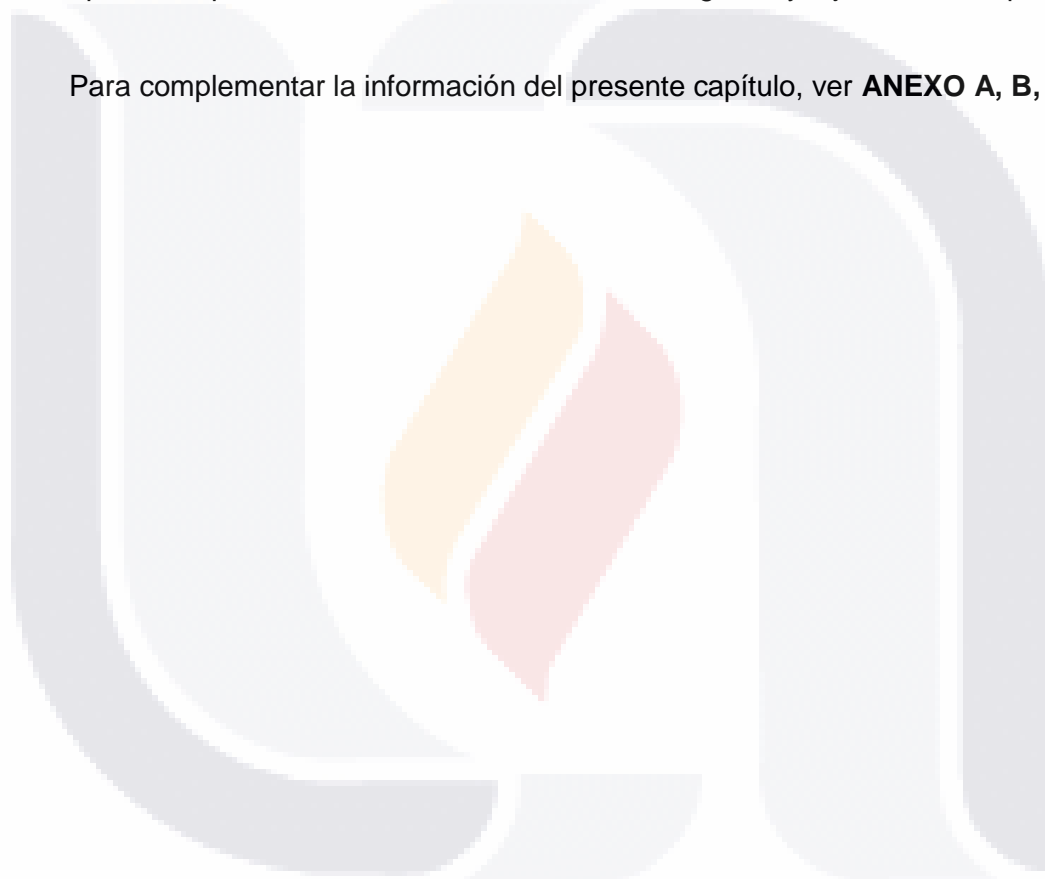
En adición a todo lo anterior, cabe señalar que el tratamiento con los antioxidantes, así como el tratamiento con las NPs de  $\text{TiO}_2$  no presentaron diferencias significativas en los parámetros de peso corporal, consumo de agua, consumo de alimentos, volumen urinario, concentración de proteínas totales en orina, concentración de creatinina urinaria y el pH urinario, en los distintos grupos evaluados y comparados entre sí (**Ver apartado de Resultados**).

Además es importante mencionar que los 3 antioxidantes fueron evaluados por sí solo para demostrar que la dosis utilizada no generó efectos adversos tal y como sucedió

en los resultados obtenidos de los experimentos. De esta forma se hizo uso seguro de dichos compuestos y se pudo evaluar su poder protector demostrado y explicado anteriormente.

En resumen, se puede inferir que el uso de cualquiera de los 3 antioxidantes utilizados en el presente estudio (EGb, vitamina E, y ácidos grasos  $\omega$ -3), es eficaz para proteger las membranas celulares de órganos como el riñón contra el ataque de NPs de  $\text{TiO}_2$  y por ende contra otros tipos de xenobióticos. Y además, con los resultados obtenidos, es factible que dicha protección se lleve a cabo en otros órganos y tejidos del cuerpo.

Para complementar la información del presente capítulo, ver **ANEXO A, B, C Y D.**



## IX. CONCLUSIONES

### IX.1 Nefrotoxicidad aguda de NPs de TiO<sub>2</sub>

- La administración de una sola dosis intravenosa de NPs de TiO<sub>2</sub> (5mg/kg) en ratas macho adultas, produce una alteración en la superficie apical en las células de las nefronas en los túbulos contorneados proximales de los riñones, ya que al tiempo inicial de estudio (0-5 Hrs) se observó un incremento en la actividad específica urinaria de  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa y dipeptidilaminopeptidasa IV. Estos efectos fueron seguidos (5-24 Hrs), por un incremento en la concentración urinaria de sodio y glucosa, así como un incremento en la osmolaridad. Todos los efectos permanecieron por lo menos 4 días.
- En relación con lo anterior, se cree que el estudio relacionado con los efectos tempranos del TiO<sub>2</sub> en los riñones, es el primero realizado in vivo, y por lo tanto, estos efectos pueden ser utilizados como otro biomarcador de exposición a estas nanopartículas y otros xenobióticos en organismos, incluyendo los seres humanos.

### IX.2 El EGb como agente protector contra la toxicidad de NPs de TiO<sub>2</sub>

- La administración de una sola dosis de extracto de *Ginko biloba* (EGb, 10mg/kg de peso corporal) por vía intraperitoneal, revirtió los efectos renales de una sola dosis intravenosa (5mg/kg) de NPs de TiO<sub>2</sub> en ratas macho adultas, estudiados en orina. El EGb regresó a valores normales, las actividades específicas urinarias de  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa y dipeptidilaminopeptidasa IV. Además, dicho extracto revirtió la hipernatriuria, glucosuria y la hiperosmolaridad generada por las NPs de TiO<sub>2</sub>.
- Lo anterior se puede deber a una interacción y protección de parte de los polifenoles del EGb con la membrana citoplasmática en los túbulos renales de las ratas macho adultas los cuales, gracias a sus varios grupos hidroxilo, puede estar

impidiendo e interaccionando con las NPs de  $\text{TiO}_2$ , evitando que causen daño o que atraviesen las membranas causando efectos adversos. Además los polifenoles pudieran estar realizando una labor antioxidante protegiendo las membrana contra radicales libres que pudieran producirse. Por lo tanto, el EGb puede ser usado como uno agente profiláctica en seres humanos expuestos a varios xenobióticos y estas nanopartículas, encontradas en el medio ambiente, alimentos, productos de consumo, ambiente laboral, fármacos, e incluso como implantes que liberan dicho compuesto.

### **IX.3 La vitamina E como agente protector contra la toxicidad de NPs de $\text{TiO}_2$**

- La administración de una sola dosis de un preparado estandarizado de vitamina E (vit. E 10mg/kg de peso corporal) por vía intraperitoneal, revirtió los efectos renales de una sola dosis intravenosa (5mg/kg) de NPs de  $\text{TiO}_2$  en ratas macho adultas, estudiados en orina. La vitamina E regresó a valores normales, las actividades específicas urinarias de  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa y dipeptidilaminopeptidasa IV. Además, dicho extracto revirtió la hipernatriuria, glucosuria y la hiperosmolaridad generada por las NPs de  $\text{TiO}_2$ .
- Lo anterior se puede deber a una interacción y protección de parte de la estructura de la vitamina E con la membrana citoplasmática en los túbulos renales de las ratas macho adultas, ya que dicha estructura se ancla a la membrana estabilizándola e impidiendo que las NPs de  $\text{TiO}_2$  las dañen o las atraviesen causando efectos adversos. Además, la vitamina E pudiera estar protegiendo las membranas por su alta capacidad antioxidante contra el ataque de radicales libres que pudieran producirse. Por lo tanto, la vitamina E puede ser usado como uno agente profiláctica en seres humanos expuestos a varios xenobióticos y estas nanopartículas, encontradas en el medio ambiente, alimentos, productos de consumo, ambiente laboral, fármacos, e incluso como implantes que liberan dicho compuesto.

#### **IX.4 Los ácidos grasos $\omega$ -3 como agente protector contra la toxicidad de NPs de $\text{TiO}_2$**

- La administración de una sola dosis de un preparado estandarizado de ácidos grasos  $\omega$ -3 (AG  $\omega$ -3 10mg/kg de peso corporal) por vía intraperitoneal, revirtió los efectos renales de una sola dosis intravenosa (5mg/kg) de NPs de  $\text{TiO}_2$  en ratas macho adultas, estudiados en orina. Los ácidos grasos  $\omega$ -3 regresaron a valores normales, las actividades específicas urinarias de  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa y dipeptidilaminopeptidasa IV. Además, dicho extracto revirtió la hipernatriuria, glucosuria y la hiperosmolaridad generada por las NPs de  $\text{TiO}_2$ .
- Lo anterior se puede deber a una interacción y protección de parte de la estructura de los ácidos grasos  $\omega$ -3 con la membrana citoplasmática en los túbulos renales de las ratas macho adultas, los cuales al igual que la vitamina E, también estabilizan membranas evitando que las NPs de  $\text{TiO}_2$  las dañen o las atraviesen causando efectos adversos. Además, los ácidos grasos  $\omega$ -3 pudieran estar realizando una protección antioxidante contra radicales libres que pudieran producirse. Por lo tanto, la vitamina E puede ser usada como un agente profiláctico en seres humanos expuestos a varios xenobióticos y estas nanopartículas, encontradas en el medio ambiente, alimentos, productos de consumo, ambiente laboral, fármacos, e incluso como implantes que liberan dicho compuesto.

#### **IX.5 Conclusión final**

Los 3 antioxidantes efectuaron un efecto protector en las membranas celulares tubulares renales con potencia similar. Por su parte las enzimas localizadas en el borde en cepillo de los túbulos renales (TPyG y DAP-IV) fueron los parámetros más beneficiados con el uso de los antioxidantes ya que su actividad específica disminuyó a valores cercanos a los controles a todos los tiempos evaluados, aunque los otros parámetros también se beneficiaron. Por lo tanto, los antioxidantes, ejercen su efecto protector impidiendo el paso de las NPs a través de las membranas e inactivando radicales libres producidos por ella.

## X. GLOSARIO

### A

**Absorción.** Proceso por el cual los tóxicos cruzan las membranas de nuestro cuerpo y entran en la corriente sanguínea o sistema linfático.

**Ácido graso.** Cada uno de los ácidos orgánicos monocarboxílicos, generalmente con un número elevado de átomos de carbono. Se combinan con la glicerina para formar las grasas.

**Ácido graso omega-3.** Los ácidos grasos Omega-3 son una forma de grasa poliinsaturada que el cuerpo obtiene de los alimentos. Omega-3 y omega-6 son conocidos como ácidos grasos esenciales debido a que son importantes para la buena salud, pero el cuerpo no puede producirlos por sí solo, de tal manera que los debe obtener de los alimentos, tales como pescado de agua fría, incluyendo el atún, el salmón y la caballa. Otros ácidos grasos omega-3 importantes se encuentran en los vegetales de hoja verde, aceite de semillas de linaza y ciertos aceites vegetales.

**Agente quelante.** Especie química que es capaz de formar complejos estables con iones metálicos libres en solución. Un agente quelante puede disminuir la cantidad de iones metálicos generados por el estrés oxidativo evitando que catalicen la generación de radicales libres en la célula.

**Ambiente.** Lo que rodea o está cerca. Conjunto de todas las condiciones e influencias externas a las que está sometido, en un determinado momento, el sujeto a estudio.

**Anión superóxido.** Estado de reducción del  $O_2$  generado por un sol electrón. Es formado por muchas reacciones de autooxidación y por la cadena de transporte de electrones.

**Antioxidante.** Sustancia que protege contra la oxidación no deseada y permite que se produzca la oxidación beneficiosa para nuestro organismo. Los nutrientes endógenos y las enzimas son verdaderos antioxidantes. Las vitaminas E, C y D cumplen este objetivo.

**Apoptosis.** Proceso fisiológico previsto de muerte y desintegración de tejidos dentro del desarrollo normal de los seres vivos. *Termino relacionado:* necrosis. Una cascada de enzimas proteolíticas que resulta en muerte celular controlada en respuesta al daño celular importante o programas específicos de desarrollo. También llamada muerte celular programada.

**ATP.** Adenosín trifosfato, nucleótido que constituye la fuente de energía para la mayoría de reacciones químicas que tienen lugar en las células vivas.

## **B**

**Bioacumulación.** Aumento progresivo de la cantidad de una sustancia en un organismo o parte de él, como consecuencia de que el ritmo de absorción supera la capacidad del organismo para eliminar la sustancia.

**Biomarcador.** Indicador que señala un acontecimiento o situación en una muestra o sistema biológico y proporciona una medida de la exposición, el efecto o la susceptibilidad hacia un tóxico.

**Biotransformación.** Proceso mediante el cual un fármaco es alterado químicamente al interactuar con un sistema biológico. La biotransformación puede llevar a la inactivación del fármaco o a la producción de un metabolito activo.

**Bomba sodio-potasio.** Una enzima que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para bombear sodio fuera de la célula y potasio dentro de la célula. También llamada ATPasa sodio potasio.

## **C**

**Canal.** Una proteína de pasaje que es continua y que permite el flujo de iones rápidamente a través de una membrana eucariótica desde un compartimiento de concentración más alto a un compartimiento más bajo.

**Cáncer.** Enfermedad neoplásica con transformación de las células, que proliferan de manera anormal e incontrolada. Tumor maligno.

**Carcinogénesis.** Proceso de inducción de neoplasias malignas por agentes físicos, químicos o biológicos. *Término relacionado:* Carcinógeno, cancerígeno.

**Catalasa.** Enzima que cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno usando hierro o manganeso como cofactor.

**Catálisis.** Transformación química motivada por sustancias que no se alteran en el curso de la reacción.

**Catalizador.** Sustancia que modifica la velocidad de una reacción sin consumirse en ella.

**Célula.** Unidad fundamental de los organismos vivos, generalmente de tamaño microscópico, capaz de reproducción independiente y formada por un citoplasma y un núcleo rodeados por una membrana.

**CYP2E1.** Citocromo P450 2E1, es miembro del sistema oxidasa de función mixta citocromo P450, que participa en el metabolismo de xenobióticos en el cuerpo. Aunque está solo involucrado enzimáticamente en el metabolismo oxidativo de un pequeño rango de sustratos (la mayoría moléculas polares pequeñas), se sabe que existen muchas interacciones medicamentosas importantes mediadas por el CYP2E1.

**Citocromo P450.** Superfamilia de hemoproteínas con actividad enzimática de monooxigenasa.

**Citotoxicidad.** La citotoxicidad es la cualidad de ser tóxico a células. Ejemplos de agentes tóxicos son una sustancia química o una célula inmune.

**Concentración.** Cantidad de una sustancia expresada en peso o en moles (S), por unidad de peso o de volumen del medio en que se encuentra.

**Concentración letal media (CL<sub>50</sub>).** Concentración, calculada estadísticamente, de una sustancia en el medio, que se espera que mate a 50% de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas.

**Control.** Caso, grupo o individuo seleccionado para usarlo como referencia en un estudio por sus características específicas, como edad, sexo, raza, estatus económico, etcétera.

**Creatinina.** Compuesto que el cuerpo elimina en la orina. Las concentraciones de creatinina se miden para vigilar el funcionamiento de los riñones.

## D

**Depurar.** Proceso mediante el cual se selecciona, limpia o purifican ciertos elementos de un todo. El riñón y el hígado se encargan de depurar compuestos tóxicos de nuestro organismo.

**Destoxificación.** Reducción de la actividad farmacológica o la toxicidad de un medicamento o sustancia extraña debido a su interacción con un proceso orgánico, generalmente por la acción enzimática.

**Diálisis.** Proceso de difusión selectiva a través de una membrana, que se utiliza para la separación de moléculas de diferente tamaño.



**Difusion simple.** Es el principal sistema de transporte si mediador, en el cual las sustancias cruzan libremente membranas biológicas a favor de un gradiente de concentración.

**Distribución.** Fase del tránsito de una sustancia en el organismo, desde la absorción hasta alcanzar el equilibrio de concentraciones.

**Dosis.** Cantidad de sustancia administrada o absorbida por un individuo en proporción a su peso o volumen corporal, ordinariamente en 24 horas. Se suele expresar en mg/Kg.

**Dosis letal media (DL<sub>50</sub>).** Dosis, calculada estadísticamente, de un agente químico o físico (radiación) que se espera que mate al 50% de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas.

## E

**Efecto adverso.** Cambio en la morfología, fisiología, crecimiento, desarrollo o tiempo de vida de un organismo, que afecta su homeostasis.

**Efecto agudo.** Aquel de rápida aparición y curso producidos por una sola dosis o por corta exposición a una sustancia o radiación.

**Electrolito.** Sustancia que, fundida o en disolución acuosa, se disocia en iones, por lo cual es conductora de la electricidad: son electrolitos los compuestos iónicos como las sales, el cloruro de sodio y los ácidos.

**Eliminación.** Resultado global de los procesos de biotransformación y de excreción por los que el organismo se libera de las sustancias.

**Endógeno.** Que se origina o nace en el interior, como la célula que se forma dentro de otra.

**Endotelio vascular.** Tejido, formado por una sola capa de células, que tapiza las paredes internas del corazón, los vasos sanguíneos y los vasos linfáticos.

**Ensayo de toxicidad.** Estudio experimental de los efectos adversos de una sustancia sobre un organismo vivo, durante un tiempo determinado y condiciones definidas.

**Enzimas.** Especies químicas que poseen actividad catalítica. La mayoría son proteínas y algunas pocas son moléculas de ADN y ARN.

**Enzimas antioxidantes.** Comprende la catalasa, glutatión peroxidasa (GP) y superóxido dismutasa (SOD).

**Enzimuria.** Excreción de enzimas en orina.

**Especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas e inglés).** Moléculas o iones formados por la incompleta reducción de un electrón del oxígeno. Pueden generar un estado de estrés oxidativo.

**Espectrofotometría.** Método de análisis óptico más usado en las investigaciones químicas y bioquímicas. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida o transmitida por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

**Estándar.** Aquello que se establece como modelo o unidad para otros de naturaleza similar.

**Estrés oxidativo.** Estado del organismo causado por un exceso de concentración de radicales libres en el cuerpo. El daño oxidativo contribuye a la aparición y aceleración de enfermedades específicas (alzheimer, cáncer, parkinson, diabetes y enfermedades cardiovasculares, entre otras) y al deterioro progresivo de las funciones vitales.

**Exógeno.** De origen externo. No producido por el organismo.

**Exposición.** Situación en la cual una sustancia puede incidir, por cualquier vía, sobre una población, organismo, órgano, tejido o célula diana.

**Exposición crónica.** Exposición durante un largo período o una fracción significativa del tiempo de vida de los individuos considerados.

**Extracto de Ginkgo biloba.** Producto obtenido a partir de hojas de Ginkgo biloba con concentraciones conocidas de varios tipos de compuestos, utilizado por sus efectos benéficos en la salud.

## F

**Fármaco.** Cualquier producto que puede ser absorbido por un organismo, difundirse en él y producirle cambios, favorables o no.

**Flavonoide.** (del latín flavus, "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas.

**Fosforilación oxidativa.** El proceso en el cual el ATP es formado como un resultado de la transferencia de electrones desde NADH o FADH<sub>2</sub> a O<sub>2</sub> por una serie de transportadores de electrones.

**Filtrado.** Una sustancia que ha atravesado un filtro. En toxicocinética, generalmente se refiere al material que ha atravesado el glomérulo en el túbulo renal.

## G

**Glomérulo.** Red de finos capilares en forma de ovillo rodeados por la cápsula de Bowman que forma parte de la nefrona (unidad funcional del riñón). La sangre fluye por los capilares sanguíneos y se produce la filtración de los productos de desecho (urea, ácido úrico, sales minerales y agua).

**Glucosuria.** Excreción de glucosa en orina.

**GSH.** Glutatión. El tripéptido glutamil-cisteinil-glicina. Se encuentra en la mayoría de los tejidos, sobre todo en el hígado. Juega un papel importante en la detoxificación y protección celular.

**Grupo control.** Grupo seleccionado o establecido necesariamente antes de un estudio, integrado por humanos, animales o células, en un todo idéntico al grupo que se estudia, y manteniendo la misma situación

## H

**Hidrofílico/Hidrosoluble.** Sustancia que es afín al agua. Que se disuelve en agua

**Hidrofóbico.** Sustancia que no es afín al agua. Que no se disuelve en agua.

**Homeostasis.** Estado de equilibrio entre todos los sistemas del cuerpo que el cuerpo necesita para sobrevivir y funcionar correctamente. En la homeostasis, las concentraciones de ácido en el cuerpo, la presión arterial, el azúcar en la sangre, los electrolitos, la energía, las hormonas, el oxígeno, las proteínas y la temperatura se ajustan constantemente para responder a los cambios en el interior y el exterior del cuerpo. De esa manera, todos los sistemas se mantienen en un nivel normal.

## I

**In vivo.** Estudio que se realiza en un individuo vivo.

**Ingestión:** Tragar (como cuando se come o se bebe). Las sustancias químicas pueden ser ingeridas en el alimento, la bebida, utensilios, cigarrillos o manos. Luego de la ingestión, las sustancias químicas pueden ser absorbidas en la sangre y distribuidas en todas partes del cuerpo.

**Inhalación:** Entrada en las vías respiratorias de aire, vapor, gas o partículas suspendidas en ellos.

**Ión Hidroxilo.** Grupo funcional formado por un átomo de oxígeno y un átomo e hidrógeno (OH<sup>-</sup>).

**Isquemia.** Deficiencia local de aporte de sangre y, por lo tanto, de oxígeno a un órgano o tejido, a causa de obstrucción o constricción de algún vaso sanguíneo.

**Insuficiencia renal.** Afección en la cual los riñones dejan de funcionar y no pueden eliminar los desperdicios y el agua adicional de la sangre, o mantener en equilibrio las sustancias químicas del cuerpo. La insuficiencia renal aguda o grave se presenta repentinamente (por ejemplo, después de una lesión), y puede tratarse y curarse. La insuficiencia renal crónica evoluciona en el curso de muchos años, puede ser provocada por afecciones como la presión arterial alta o la diabetes, y no se puede curar. La insuficiencia renal crónica puede llevar a una insuficiencia renal total y duradera que se llama enfermedad renal en estado terminal (ERET). El individuo que padece de ERET necesita diálisis (el proceso de limpiar la sangre haciéndola pasar por una membrana o filtro) o un trasplante de riñón. También se llama insuficiencia del riñón.

**Intoxicación.** Proceso patológico, con signos y síntomas clínicos, causado por una sustancia de origen exógeno o endógeno.

## L

**Lipoperoxidación.** Oxidación de los lípidos de las membranas en células del organismo producido por un estado de estrés oxidativo.

**Lipofílico/Liposoluble.** Sustancia de que es afín a los lípidos. Que es soluble en lípidos.

**Lipofóbico.** Sustancia que no es afín a los lípidos. Que no se disuelve en lípidos.

**Lisis celular.** Destrucción de una célula por rotura de la membrana celular.

## M

**Mecanismo de acción.** La manera específica por la que una sustancia causa un efecto particular.

**Membranas.** Estructuras parecidas a láminas compuestas de lípidos y proteínas, usualmente sólo unas pocas moléculas gruesas, que forman fronteras cerradas entre diferentes compartimentos; las membranas separan ambientes acuosos.

**Metabolismo.** Conjunto de modificaciones que sufre una sustancia desde su entrada en el interior de un organismo hasta su transformación final.

**Metabolito.** Cualquier producto intermedio o final resultante del metabolismo.

**Metabolizar.** Someter las sustancias ingeridas o absorbidas por el organismo para suministrar energía.

**Mitocondria.** Orgánulos productores de energía. Llevan a cabo la respiración celular.

**Monooxigenasas, enzima.** Enzimas que usan el O<sub>2</sub> e incorporan un átomo de oxígeno dentro de un sustrato y reducen el otro átomo a agua; importante en la síntesis de hormonas esteroideas y tirosina, también como en la detoxificación de compuestos xenobióticos.

**Mutagénesis.** Introducción de cambios heredables (mutaciones) del genotipo en una célula como consecuencia de alteración o de pérdida de genes o de cromosomas (o de parte ellos).

## N

**Nanofármaco.** Fármaco producido mediante nanotecnología.

**Nanomaterial.** Son materiales a nanoescala. Materiales con características estructurales de una dimensión entre 1-100 nanómetros.

**Nanómetro.** Medida de longitud que equivale a la milmillonésima (10<sup>-9</sup>) parte del metro.

**Nanopartícula.** Partícula que es más pequeña que 100 nanómetros (milmillonésima parte de un metro).

**Nanotecnología.** Tecnología de los materiales y de las estructuras en la que el orden de magnitud se mide en nanómetros, con aplicación a la física, la química y la biología.

**Natriuria.** Excreción de sodio en orina.

**Necrosis.** Muerte masiva de áreas de tejido rodeadas de zonas sanas. Cambios morfológicos subsiguientes a la muerte celular, caracterizados frecuentemente por cambios nucleares.

**Nefrotoxicidad.** Toxicidad ejercida sobre los riñones, órganos cuya integridad funcional es esencial para el mantenimiento de la homeostasis corporal de los seres humanos.

**Nefrotoxina.** Un veneno sistémico cuyo blanco es el riñón .

**Neoplasia.** Multiplicación o crecimiento anormal de células en un tejido del organismo.

**Nocivo.** Agente que, tras contacto o absorción, puede causar enfermedad o efectos adversos, bien al tiempo de la exposición o posteriormente, en la generación presente o las futuras.

## O

**Oncogén.** Gen que puede causar transformación neoplásica de las células: los oncogenes son genes con ligeros cambios respecto a genes normales llamados proto-oncogenes.

**Osmosis.** El movimiento de un solvente a través de una membrana en la dirección que tiende a equilibrar las concentraciones del soluto sobre los dos lados de la membrana.

**Organismo.** Conjunto de órganos del cuerpo animal o vegetal y de las leyes por las que se rige.

**Orgánulo/Organelo.** Unidad estructural y funcional de una célula u organismo unicelular; p. ej., las mitocondrias o el núcleo.

**Oxidación.** Reacción química en la que una sustancia se combina con oxígeno. Químicamente se corresponde con un aumento de cargas positivas del átomo debido a una pérdida de electrones. Pérdida de electrones de los átomos de un elemento.

## P

**Parenteral (administración).** Método de introducción de sustancias evitando el tracto gastrointestinal (vías subcutánea, intravenosa, intramuscular, etcétera).

**Peligro.** Posibilidad de que un agente produzca efectos dañinos, a causa de sus propiedades específicas y a las circunstancias y grado de la exposición. En otras palabras, un agente peligroso es una fuente de daño.

**Péptido.** Molécula que contiene dos o más aminoácidos (las moléculas que se unen entre sí para formar proteínas). Los péptidos pueden contener muchos aminoácidos que se llaman polipéptidos o proteínas.

**Peroxidación.** Acción y efector de oxidar u oxidarse. Se aplica a toda reacción química que implica una disminución de electrones y una proporción superior de oxígeno.

**Peroxidación lipídica.** Oxidación de lípidos caracterizada por una peroxidasa usando peróxido de hidrógeno como un electrón aceptor.

**Peróxido de hidrógeno.** Compuesto químico de fórmula  $H_2O_2$ . Es altamente inestable y con gran actividad oxidante.

**Población:** (1). En estadística, la totalidad de unidades consideradas. Una parte definida de una población se denomina subpoblación. En el caso de una variable aleatoria, se considera que la distribución de probabilidades define la población de esa variable. El término segmento de población se utiliza a veces como sinónimo de población. (2). En ecología: conjunto de individuos de la misma especie que viven en la misma área geográfica.

**Polifenoles.** Compuestos fotoquímicos de bajo peso molecular, esenciales para el ser humano. Éstos constituyen uno de los metabolitos secundarios de las plantas más numerosos y distribuidos.

**Potencia.** Expresión de la actividad química o medicinal de una sustancia en comparación con un estándar o un patrón de referencia determinados.

**Prooxidante.** Especie química que tiene la propiedad de favorecer las reacciones de oxidación. Las moléculas o radicales libres son altamente reactivos y tienen una gran actividad prooxidante.

**Proteína.** Una macromolécula biológica compuesta de un arreglo lineal de aminoácidos unidos por uniones peptídicas; las funciones de las proteínas en los procesos biológicos incluyen catálisis, transporte y almacenaje, movimiento, soporte mecánico, protección inmune, la generación y transmisión de impulsos nerviosos y el control del crecimiento y diferenciación.

**Proteinuria.** Excreción de proteínas en orina.

## Q

.

**Quercetina.** Flavonoide que se encuentra en grandes concentraciones en algunas frutas y verduras con actividad antioxidante.

## R

**Radical libre.** Tipo de molécula inestable que se elabora durante el metabolismo normal de las células (cambios químicos que ocurren en una célula). Los radicales libres se

pueden acumular en las células y dañar otras moléculas, como el ADN, los lípidos y las proteínas. Este daño puede aumentar el riesgo de cáncer y otras enfermedades.

**Receptor.** Sitio de unión (ligando) de gran afinidad por un determinado tóxico, de cuya unión se derivará un efecto. Más general: diana, órgano diana.

**Reducción.** Reacción química en la que una sustancia (oxidante) se reduce al combinarse con otra (reductor), de tal forma que gana electrones y disminuye su número de oxidación: siempre que se produce una reducción, se produce la oxidación de otra sustancia.

**Riesgo.** Probabilidad de que se produzcan efectos adversos o daños por exposición a un agente tóxico, a causa de las propiedades inherentes del mismo y a las circunstancias o grados de la exposición.

**Ruta de exposición.** La manera en que una persona puede ponerse en contacto con una sustancia química. E/. bebiendo (ingestión) y bañándose (contacto con la piel) son dos rutas de exposición a contaminantes diferentes que pueden ser encontrados en el agua.

## S

**Salud.** (1). Estado de bienestar completo, físico, mental y social, y no meramente la ausencia de dolencia o enfermedad. (2). Estado de equilibrio dinámico en el cual la capacidad de un individuo o un grupo para hacer frente a las circunstancias, está en un nivel óptimo.

**Sarcoma.** Tumor maligno que crece en el tejido conectivo y compuesto primariamente de células anaplásicas que simulan tejido de sostén.

**SNC.** Sistema Nervioso Central. Constituido por el encéfalo y la médula espinal.

**Solubilidad.** La habilidad de una sustancia para ser disuelta en un solvente. La solubilidad se expresa según el solvente: ej. Solubilidad en agua, la solubilidad en acetona, etcétera.

**Superóxido.** Anión de fórmula química  $O_2^-$ ; proviene de una molécula de oxígeno que ha ganado un electrón extra. Es considerado un radical libre y es parte de las llamadas especies reactivas de oxígeno.

**Superóxido dismutasa.** Enzimas que catalizan la reacción entre dos moléculas de anión superóxido e hidrógeno para generar oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno.



## T

**Terapéutica.** Es el estudio de los medios o métodos que pueden ser empleados para la prevención, alivio o duración de las enfermedades.

**TiO<sub>2</sub>.** Dióxido de titanio. Compuesto utilizado como vehículo de fármacos contra enfermedades como el cáncer en forma de nanopartícula. Utilizado principalmente como pigmento blanco diversas aplicaciones como cosméticos, pinturas, producción de hules cerámica, alimentos, bloqueadores solares debido a que refleja la radiación solar, así como en procesos de oxidación fotocatalizadora.

**Toxicidad.** Capacidad para producir daño a un organismo vivo, en relación con la cantidad o dosis de sustancia administrada o absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo (dosis única o repetidas), tipo y severidad del daño, tiempo necesario para producir éste, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones intervinientes.

**Toxicidad aguda.** Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos dentro de un corto plazo de tiempo (usualmente hasta 14 días) después de la administración de una dosis única (o una exposición dada) o tras dosis o exposiciones múltiples en 24 horas.

**Toxicidad crónica.** Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos consecuentes a una exposición prolongada; éstos pueden aparecer durante o después de interrumpida la exposición.

**Toxicocinética.** Expresión en términos matemáticos de los procesos que experimenta una sustancia tóxica en su tránsito por el cuerpo (captación, absorción, distribución, biotransformación y eliminación). Considera la velocidad de los procesos y las variaciones de las concentraciones de las sustancias originales y de sus metabolitos en los compartimientos.

**Tóxico.** Cualquier agente químico o físico capaz de producir un efecto adverso para la salud. Todos los agentes físicos y químicos son tóxicos potenciales, ya que su acción depende de la dosis y de las circunstancias individuales y ambientales. Toxicodinámica: Proceso de interacción de una sustancia tóxica con los lugares diana, y las consecuencias bioquímicas y fisiopatológicas que conducen a los efectos tóxicos.

**Toxicología.** (1). Disciplina científica dedicada al estudio del peligro actual o potencial presentado por los efectos nocivos de las sustancias químicas sobre los organismos vivos y ecosistemas, de las relaciones de tales efectos nocivos con la exposición, y de los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

mecanismos de acción, diagnóstico, prevención y tratamiento de las intoxicaciones. (2.) Ciencia que estudia las sustancias químicas y los agentes físicos en cuanto que son capaces de producir alteraciones patológicas a los seres vivos, a la par que estudia los mecanismos de producción de tales alteraciones y los medios para contrarrestarlas, así como los procedimientos para detectar, identificar y determinar tales agentes y valorar su grado de toxicidad.

**Toxicometría.** Conjunto de determinaciones cuantitativas de parámetros biológicos afectados por los tóxicos.

**Transporte activo.** Es el movimiento de una sustancia ion o molécula que para cruzar una membrana requiere de energía. El proceso debe ser acoplado a una fuente tal como el ATR un gradiente electroquímico de  $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$ , o luz. La sustancia se mueve contra un gradiente de concentración, de una región menos concentrada a una región más concentrada.

**Transporte pasivo.** Transporte de un ion o una molécula bajo un gradiente de concentración, donde  $\Delta G$  para las especies transportadas es negativo. También llamado difusión facilitada.

**Tubulina.** Proteína de un grupo que se encuentra en concentraciones altas en el citoplasma de las células (líquido adentro de la célula, pero afuera de su núcleo). Las tubulinas son los elementos fundamentales de los microtúbulos (tubos estrechos y huecos del interior de una célula), que participan en la multiplicación y el movimiento de las células. Ciertos medicamentos anticancerosos se unen a las tubulinas y bloquean su formación o su funcionamiento, con lo que pueden bloquear la multiplicación de las células.

**Túbulo proximal, riñón.** Parte de la nefrona que realiza funciones de secreción y reabsorción de sustancias importantes en el organismo.

**Tumor.** Masa de células transformadas, con crecimiento y multiplicación anormales.

## U

**Uniones/puentes de hidrógeno.** Una unión formada cuando dos átomos relativamente electronegativos, tales como el oxígeno y el nitrógeno, inequitativamente comparten un átomo de hidrógeno que es covalentemente unido a uno de los átomos electronegativos.

## V

**Van der Waals (interacción de).** La atracción entre dos moléculas basada sobre la asimetría transitoria del electrón alrededor de un átomo que induce una asimetría complementaria en una molécula cercana.

**Vacuolización celular.** Proceso de formación de vacuolas que tiene lugar en los proceso de degeneración celular.

**Vector.** Portador, que transfiere un agente de un huésped a otro.

**Vehículo.** Aquello que sirve para conducir o transmitir fácilmente algo, como el sonido, la electricidad, las enfermedades contagiosas, etc.

**Vitamina E.** Antioxidante liposoluble que previene la oxidación de las sustancias oleosas que protegen a las células incrementa la respuesta inmune, previene la formación de cataratas y puede reducir el riesgo de daños a la arteria coronaria.

## W

**Wistar, ratas.** Ratas albinas que pertenecen a la especie *Rattus norvegicus*. Esta variedad fue desarrollada en el Instituto Wistar en 1906 para su uso en la investigación biológica y médica, y es la primera cepa de ratas desarrolladas para servir como un organismo modelo en un momento en que los laboratorios utilizaban principalmente *Mus musculus*, o el ratón común de las casas.

## X

**Xenobióticos.** Sustancias químicas que el organismo reconoce como extrañas o no propias, por lo que pueden ser de origen natural, contaminante, drogas, carcinógenos, insecticidas, etcétera.

## XI. REFERENCIAS

- Abdel-Dayem M.A., Elmarakby A.A., Abdel-Aziz A.A., Pye C., Said S.A., El-mowafy A.M. Valproate-induced liver injury: Modulation by omega-3 fatty acid DHA proposes a novel anticonvulsant régime. *Drugs R.D.* 14:85-94, 2014.
- Abdou H.M., Hassan M.A. Protective role of omega-3 polyunsaturated fatty acid against lead acetate-induced toxicity in liver and kidney of female rats. *Biomed Res Int*, 2014:435857.
- Aillon KL, Xie Y, El-Gendy N, Berkland CJ, Forrest ML. Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 60(3):457-466.
- Ajdzanovic, V., Spasojevic, I., Filipovic, B., Sosic-Jurjevic, B., Sekulic, M., Milosevic, V., 2010. Effects of genistein and daidzein on erythrocyte membrane fluidity: An electron paramagnetic resonance study. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 88(4):497-500.
- Al-Attar A.M. Antioxidant effect of Vitamina E treatment on some heavy metals-induced renal and testicular injuries in male mice. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18, 63-72, 2011.
- Al-Attar A.M., Vitamina E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18, 395-401, 2011.
- Andreozzi P, Martinelli C, Carney RP, Carney TM, Stellacci F. Erythrocyte incubation as a method for free-dye presence determination in fluorescently labeled nanoparticles. *Mol Pharmac* 2013; 10(3):875-882.
- Armijo JA: Farmacocinética-Absorción, distribución y eliminación de los fármacos. En: *Farmacología humana* (Jesús Flórez, Edit.), Masson, 4a. Edición, pp 51-79, 2003.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Arora A., Byrem, TM., Nair, MG., Strasburg, G.M., 2000. Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Archives of Biochemistry Biophysics* 373(1):102-109.
  - Arora S, Rajwade JM, Paknikar KM. Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012; 258(2):151-165.
  - Aronson PS. Ion exchangers mediating NaCl transport in the renal proximal tubule. *Cell Biochem Biophys.* 2002; 36:147.
  - Arroyo JP, Kahle KT, Gamba G. The SLC12 family of electroneutral cation-coupled chloride cotransporters. *Mol Aspects Med.* 2013; 34(2-3):288-298.
  - Arvizo RR, Miranda OR, Thompson MA, Pabelick CM, Bhattacharya R, Robertson JD, Rotello VM, Prakash YS, Mukherjee P. Effect of nanoparticle surface charge at the plasma membrane and beyond. *Nano Lett.* 2010; 10(7):2543-2548.
  - Afaq F, Abidi P, Martin R, Rahman Q: Cytotoxicity, prooxidant effects and antioxidant depletion in rat lung alveolar macrophages exposed to ultra-fine titanium dioxide. *J Appl Toxicol*, 18: 307-312, 1998.
  - Barillet S, Simon-Deckers A, Herlin-Boime N, Mayne-L'Hermite M, Reynaud C, Cassio D, Gouget B, Carriere M. Toxicological consequences of TiO<sub>2</sub>, SiC nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes exposure in several mammalian cell types: An in vitro study. *J Nanopart Res.* 2010; 12(1):61-73.
  - Bauer JB: Carbohydrates and nitrogen compounds. In: *Clinical Laboratory Methods*, Chap. 21, 9<sup>th</sup> Edition. CB Mosby Co, St.Louis, pp. 472-505, 1982.
  - Bermudez E., Mangum J.B., Wong B.A., Asgharian B., Hext P.M., Warheit D.B., Everitt J.I., Pulmonary responses of mice, rats and hamsters to subchronic inhalation of ultrafine titanium dioxide particles. *Toxicol Sci.* 77: 347-357, 2004.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Bharali D.J., Khalil M., Gurbuz M., Simone T.M., Mousa S.A. Nanoparticles and cancer therapy: A concise review with emphasis on dendrimers.
  - Bolt, H.M., Marchan, R., Hengstler, J.G., 2012. Nanotoxicology and oxidative stress control: Cutting-edge topics in toxicology. *Archives of Toxicology* 86(11):1629-1635.
  - Bradberry J.C., Hilleman D.E., Overview of Omega-3 Fatty Acid Therapies. *P&T*, 38(11), 2013.
  - Braun JP, Aktas M, Lefebvre H, Rico AG, Toutain PL. Clinical enzymology for the assessment of organ damage: Interspecific differences. *Comp Haematol Int.* 1993; 3(1):27-32.
  - Bruno, M.E., Tasat, D.R., Ramos, E., Paparella, M.L., Evelson, P., Rebagliati, R.J., Cabrini, R.L., Guglielmotti, M.B., Olmedo, D.G., 2014. Impact through time of different sized titanium dioxide particles on biochemical and histopathological parameters. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 102(5):1439-1448.
  - Casarett & Doull's: *Toxicology The Basic Science of Poisons*. Medical Publishing Division, McGraw-Hill, Seventh Edition, 2008.
  - Chen K.L., Bothum G.D. Nanoparticles Meet Cell Membranes: Probing Nonspecific Interactions using Model Membranes. *Environ Sci Technol*, 48: 873-880, 2013.
  - Chen W.D., Liang Y., Xie L., Lu T., Liu X-D., Wang G-J. Pharmacokinetics of the Ginkgo B following Intravenous Administration of Ginkgo B Emulsion in Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 30(1) 1-5, 2007.
  - Chen X, Mao SS. Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, forms, and applications. *Chem Rev.* 2007; 107(7):2891-2959.
  - Choi CM, Zuckerman JE, Webster P, Davis ME. Targeting kidney mesangium by nanoparticles of defined size. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108(16):6656-6661.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Choi HJ, Yoon YJ, Kwon YK, Lee YJ, Chae S, Hwang D, Hwang G-S, Kwon TH. Patterns of gene and metabolite define the effects of extracellular osmolality on kidney collecting duct. *J Proteome Res.* 2012; 11(7):3816-3828.
  - Cieřlik-Boczula, K., Maniewska, J., Gryniewicz, G., Szeja, W., Koll, A., Hendrich, A.B., 2012. Interaction of quercetin, genistein and its derivatives with lipid bilayer-an ATR IR-spectroscopic study. *Vibrational Spectroscopy* 62:64-69.
  - Cohn VH, Lyle J: A fluorometric assay for glutathione. *Anal Biochem*, 14: 434-440, 1966.
  - Cyboran, S., Oszmianski, J., Kleszczynska, H., 2012. Interaction between plant polyphenols and the erythrocyte membrane. *Cellular & Molecular Biology Letters* 17(1):77-88.
  - Deng, F., Zito, S.W., 2003. Development and validation of a gas chromatographic-mass spectrometric method for simultaneous identification and quantification of marker compounds including bilobalide, ginkgolides and flavonoids in *Ginkgo biloba* L. extract and pharmaceutical preparations. *Journal of Chromatography A* 986(1):121-127.
  - Do Nascimento V., Vizolli L.R., Aparecida N., De Oliveira T.D., Fiorucci A.R., Meireles J., Manfroi D.C., Cavaleiro A.A., Dos Anjos A. Síntese, caracterização e estudo das propriedades de um novo complexo mononuclear contendo quercetina e íon Ga (III). *Quim. Nova*, 36(4), 2013.
  - Dubber, M.J., Kanfer, I., 2004. High-performance liquid chromatographic determination of selected flavonols in *Ginkgo biloba* solid oral dosage forms. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 7(3):303-309.
  - El-Messery M.E., Al-Gayyar M.M., Salem H.A., Darweish M.M., El-Mowafy A.M. Chemopreventive and renal protective effects for docosahexaenoic acid (DHA): implications of CCR and lipid peroxides. *Cell division* 4:6 2009.

- Escárcega C.E., Rodríguez M.L., Jaramillo F., Martínez H., Silva M., Adabache A., Posadas F.A. Efectos renales de una sola dosis de nanopartículas de dióxido de titanio en ratas macho adultas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 46(1), 2015.
- Escárcega-González. Estudio de la toxicidad de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> y TiO<sub>2</sub>/Ag en ratas wistar machos. Thesis for Master in Science (Toxicology). Departamento de Farmacología y Fisiología y Departamento de Departamento de Química. Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, Ags., México. 2012.
- Fabian E, Landsiedel R, Ma-Hock L, Wiench K, Wohlleben W, Ravenzwaay B: Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats. *Arch Toxicol*, 82: 151-157, 2008.
- Ferin J., Oberdorster G., Penney D.P: Pulmonary retention of ultrafine and fine particles in rats. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 6: 535-542, 1992.
- Fischer HC, Chan WC. Nanotoxicity: The growing need for in vivo study. *Curr Opin Biotechnol*. 2007; 18(6):565-571.
- Galal M.K., Khalaf A.A., Ogaly H.A., Ibrahim M.A. Vitamin E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrin in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14:458, 2014.
- Gamba G. Molecular physiology and pathophysiology of electroneutral cation chloride cotransporters. *Physiol Rev*. 2005; 85(2):423-493.
- Ganong: *Fisiología Médica*. McGraw-Hill Interamericana editors S.A. de C.V., México D.F., Vigésimotercera edición. 2010.
- Ganter H.E. Modification of ethylmercury toxicity and metabolism by selenium and vitamin E: possible mechanisms. *Environmental Health Perspectives* 25, 71-76, 1978.



- Geiser M, Rothen-Rutishauser B, Kapp N, Schürch S, Kreyling W, Schulz H, Semmler M, Im Hof V, Heyder J, Gehr P. Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. *Environ Health Perspect.* 2005; 113(11):1555-1560.
- Gkeka P, Sarkisov L, Angelikopoulos P. Homogeneous hydrophobic-hydrophilic surface patterns enhance permeation of nanoparticles through lipid membranes. *J Phys Chem Lett.* 2013 4(11):1907-1912.
- Goncalves D.M., De Liz R., Girard D: Activation of Neutrophils by Nanoparticles. *The Scientific World JOURNAL* 11: 1877-1885, 2011.
- González I, Marín C, Martín A, Nombela G: Nanopartículas-Aplicaciones y perspectivas que revolucionarán la farmacología. *CNEM*, 1: 1-7, 2009.
- Grempler, Augustin R, Froehner S, Hildebrandt T. Functional characterization of human SGLT-5 as a novel kidney-specific sodium-dependent sugar transporter. *FEBS Lett.* 2012; 586(3):247-253.
- Guder WG, Ross BD. Enzyme distribution along the nephron. *Kidney Int* 1984; 26:101-111.
- Guyton A.C., Hall J.E. *Tratado de Fisiología Médica*. El Sevier Sauters, Barcelona, España, decimosegunda edición. 2011.
- Halamoda, K.B., Bernasconi, C., Juillerat-Jeanneret, L., (2013). Stress reaction of kidney epithelial cells to inorganic solid core nanoparticles. *Cell Biology and Toxicology* 29(1):39-58.
- Hamilton R.F., Wu N., Porter D., Buford M., Wolfarth M., Holian A: Particle length-dependent titanium dioxide nanomaterials toxicity and bioactivity. *Particle and Fibre Toxicology* 6:35, 2009.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Hawkins MJ, Soon-Shiong P, Desai N: Protein nanoparticles as drug carriers in clinical medicine. *Adv Drug Deliv Rev*, 60(8): 876-885, 2008.
  - Hedenborg M: Titanium dioxide induced chemiluminescence of human polymorphonuclear leukocytes. *International Archives of Occupation and Environmental Health* 61: 1-6, 1998.
  - Heinonen, T., Gaus. W., 2015. Cross matching observations on toxicological and clinical data for the assessment of tolerability and safety of Ginkgo biloba leaf extract. *Toxicology* 327(1):95-115.
  - Helfestein M., Miragoli M., Rohr S., Muller L., Wick P., Mohr M., Gehr P., Rothen-Rutishauser B: Effects of combustion-derived ultrafine particles and manufactured nanoparticles on heart cells in vitro. *Toxicology* 253: 70-78, 2008.
  - Hendrich, A.B., 2006. Flavonoid-membrane interactions: Possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica* 27(1):27-40.
  - Holister P., Weener J., Román C., Harper T: Nanoparticles. *Científica: Technology White Papers* nr. 3, 2003.
  - Hong S, Hessler JA, Banaszak Holl MM, Leroueil PR, Mecke A, Orr BG. Physical interactions of nanoparticles with biological membranes: The observation of nanoscale hole formation. *J Chem Health Saf.* 2006; 13(3):16-20.
  - Horiba N, Masuda S, Takeuchi A, Takeuchi D, Okuda M, Inui K. Cloning and characterization of a novel Na<sup>+</sup>-dependent glucose transporter (NaGLT1) in rat kidney. *J Biol Chem.* 2003; 278(17):14669-14676.
  - Hussain S, Boland S, Baeza-Squiban A, Hamel R, Thomassen LCJ, Martens JA, Billon-Galland MA, Fleury-Feithd J, Moisan F, Pairon J-C, Marano F. Oxidative stress and

proinflammatory effects of carbon black and titanium dioxide nanoparticles: Role of particle surface area and internalized amount. *Toxicology* 2009; 260(1-3):142-149.

- Iavicoli I, Leso V, Bergamaschi A. Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: A review of in vivo studies. *J Nanomater.* 2012; Article ID 964381.
- Iavicoli, I., Leso, V., Fontana, L., Bergamaschi, A., 2011. Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: A review of in vitro mammalian studies. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 15(5):481-508.
- Ismagilov ZR, Shikina NV, Mazurkova NA, Tsikoza LT, Tuzikov FV, Ushakov VA, Ishchenko AV, Rudina NA, Korneev DV, Ryabchikova EI. Synthesis of nanoscale TiO<sub>2</sub> and study of the effect of their crystal structure on single cell response. *Sci World J.* 2012; Article ID 498345.
- James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am J Clin Nutr* 2000;71:343S–348S.
- Jaramillo F.; Rincón A.R.; Posadas F.A. *Toxicología Básica*. Textos Universitarios-Ciencias Biomédicas, UAA-U de G-UJED, Primera Edición. 2006.
- Jaramillo F., Rincón A.R., Martínez M.C. *Estrés Oxidativo y su Impacto en la Salud*. Textos Universitarios-Ciencias Básicas, UAA-U de G-UJED, Primera Edición. 2012.
- Jilanchi S., Nematbakhsh M., Bahadorani M., Talebi A., Eshraghi-Jazi F., Mansouri A., Ashrafi F. Vitamina E is a nephroprotectant agent in male but not in female in a mode of cisplatin-induced nephrotoxicity. *ISRN Nephrology*, ID 280395, 2013.
- Jin C, Tang Y, Yang FG, Li XL, Xu S, Fan XY, Huang YY, Yang YJ. Cellular toxicity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in anatase and rutile crystal phase. *Biol Trace Elem Res.* 2011; 141(1-3):3-15.

- Johnson H.J., Hutchison G.R., Christensen F.M., Peters S., Hankin S., Stone V. Identification of the mechanisms that drive the toxicity of TiO<sub>2</sub> particulates: the contribution of physicochemical characteristics. *Particle and Fibre Toxicology* 6(33), 2009.
- Kadkhodae M., Aryamanesh S., Faghihi M., Zahmatkesh. Protection of rat Vitamin E levels by ischemic-preconditioning. *BMC Nephrology*, 5:6, 2004.
- Kenzaoui BH, Bernasconi C, Juillerat-Jeanneret L. Stress reaction of kidney epithelial cells to inorganic solid-core nanoparticles. *Cell Biol Toxicol.* 2013 49(1):39-58.
- Kiss B., Biro T., Czifra G., Toth Bl., Kertesz Z., Szikszai Z., Kiss A.Z., Juhasz I., Zoubouli C.C., Hunyadi J: Investigation of micronized titanium dioxide penetration in human skin xenografts and its effect on cellular functions of human skin-derived cells. *Exp Dermatol.* 17: 659-667, 2008.
- Kim YB, Kopcho LM, Kirby MS, Hamann LG, Weigelt CA, Metzler WJ, Marcinkeviciene J. Mechanism of Gly-Pro-pNA cleavage catalyzed by dipeptidyl peptidase-IV and its inhibition by saxagliptin (BMS-477118). *Arch Biochem Biophys* 2006; 445(1):9-18.
- Kaplan MR, Plotkin MD, Lee W-S, Xu Z-C, Lytton J, Hebert SC. Apical localization of the Na-K-Cl cotransporter, rBSC1, on rat thick ascending limbs. *Kidney Int.* 1996; 49(1):40-47.
- Klaassen, C.D., Watkins III, J.B. *Manual de Toxicología Casarett & Doull: La Ciencia Básica de los Tóxicos.* McGraw-Hill Interamericana, México. 981 págs, 2001.
- Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: New recommendations from the American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:151–152.

- Lambeir AM, Durinx C, Scharpe S, De Meester I. Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside: An update on structural properties, functions, and clinical aspects of the enzyme DPP IV. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003; 40(3):209-294.
- L'Azou B, Jorly J, On D, Sellier E, Moisan F, Fleury-Feith J, Cambar J, Brochard P, Ohayon C. In vitro effects of nanoparticles on renal cells. *Part Fibre Toxicol*. 2008; 5:22.
- LeBlanc GA: Hepatic vectorial transport of xenobiotics. *Chem. Biol. Interactions*, 90: 101-120, 1994.
- Lehtonen, J.Y., Adlercreutz, H., Kinnunen, P.K., 1996. Binding of daidzein to liposomes. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* 1285(1):91-100.
- Leroueil PR, Hong SY, Mecke A, Baker JR, Orr BG, Holl MMB. Nanoparticle interaction with biological membranes: Does nanotechnology present a janus face? *Acc Chem Res*. 2007; 40(5):335-342.
- Lesniak A, Salvati A, Santos-Martinez MJ, Radomski MW, Dawson KA, Aberg C. Nanoparticle adhesion to the cell membrane and its effect on nanoparticle uptake efficiency. *J Am Chem Soc*. 2013; 135(4):1438-1444.
- Liao, K., Yin, M., 2000. Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and phosphatidylcholine liposome systems: Importance of the partition coefficient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(6):2266-2270.
- Li C.Y., Lin C.H., Wu C.C., Lee K.H., Wu T.S.: Efficient  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance method for improved quality control analyses of Ginkgo constituents. *J Agric Food Chem*, 52(12):3721-3725, 2004.
- Li S, Malmstadt N. Deformation and poration of lipid bilayer membranes by cationic nanoparticles. *Soft Matter*. 2013; 9(20):4969-4976.

- Long T.C., Saleh N., Tilton R.D., Lowry G.V., Veronesi B: Titanium Dioxide (p25) produces reactive oxygen species in immortalized brain microglia (BV2): implications for nanoparticle neurotoxicity. *Environ Sci Technol* 40: 4346-4352, 2006.
- Liu, R.H., 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *Journal of Nutrition* 134(12):3479S-3485S.
- Maddox DA, Brenner BM: *Glomerular ultrafiltration, in Brenner BM, Rector FC (eds.): The Kidney*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1991, pp. 205–244.
- Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *BioMed Res Int* 2013; Article ID 942916.
- Masara P., Ketkar M., Deshpande R., Chaudhary A., Shinde K., Kaul-Ghanekar R. Improved antioxidant status by omega-3 fatty acid supplementation in breast cancer patients undergoing chemotherapy: a case series. *Journal of Medical Case Reports* 9:148, 2015.
- Markadieu N, Delpire E. Physiology and pathophysiology of SLC12A1/2 transporters. *Pflügers Arch-Eur J Physiol.* 2014; 466(2):91-105.
- Mavon A., Miquel C., Lejeune O., Payre B., Moretto P: In vitro percutaneous absorption and in vivo stratum comeum distribution of an organic and a mineral sunscreen. *Skin Pharmacol Physiol* 20: 10-20, 2007.
- Moghadam B.Y., Hou W-C., Corredor C., Westerhoff P., Posner J.D. The role of nanoparticle surface functionality in the disruption of model cell membranes. *Langmuir*, 28(47): 16318-16326, 2012.
- Negoda A, Liu Y, Hou W-C, Corredor C, Moghadam BY, Musolff C, Li L, Walker W, Westerhoff P, Mason AJ, Duxbury P, Posner JD, Worden RM. Engineered nanomaterial interactions with bilayer lipid membranes: Screening platforms to assess nanoparticle toxicity. *Int J Biomed Nanosci Nanotechnol.* 2013 3(1/2):52-83.

- Nel A, Mädler L, Velegol D, Xia T, Hoek E, Somasundaran P, Klaessig F, Castranova V, Thompson M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat Mater.* 2009; 8(7):543-557.
- Nettleton JA. *Omega-3 Fatty Acids and Health.* New York: Springer(formerly Chapman & Hall); 1995.
- Olilla, F., Halling, K., Vuorela, P., Vuorela, H., Slotte, J.P., 2002. Characterization of flavonoid-biomembrane interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 399(1):103-108.
- Oteiza, P.I., Erlejman, AG., Verstraeten, S.V., Koen, C.L., Fraga, C.G., 2005. Flavonoid-membrane interactions: A protective role of flavonoids at the membrane surface? *Clinical and Developmental Immunology* 12(1):19-25.
- Pahari, P., Chakraborty, S., Chaudhuri, S., Sengupta, B., Sengupta, P.K., 2012. Binding and antioxidant properties of therapeutically important plant flavonoids in biomembranes: Insights from spectroscopic and quantum chemical studies. *Chemistry and Physics of Lipids* 165(4):488-496.
- Palaniswamy K.S., Vishwanadha V.P., Singaravelu S.R. Fish oil rich in eicosapentaenoic acid protects against oxidative stress-related renal dysfunction induced by TCDD in Wistar rats. *Cell stress and Chaperones* 19:409-419, 2014.
- Pawlikowska-Pawłęga, B., Dziubińska, H., Król, E., Trębacz, K., Paduch, R., Jarosz-Wilkolazka, A., Gawron, A., Gruszecki, W.I., 2014a. Characteristics of quercetin interaction with vacuolar and liposomal membranes. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* 1838(1B):254-265.
- Pawlikowska-Pawłęga, B., Gruszecki, W.I., Misiak, L.E., Gawron, A., 2003. The study of the quercetin action on human erythrocyte membranes. *Biochemical Pharmacology* 66(4):605-612.

- Pawlikowska-Pawłęga, B., Misiak, L.E., Jarosz-Wilkolazka, A., Zarzyka, B., Paduch, R., Gawron, A., Gruszecki, W.I., 2014b. Biophysical characterization of genistein-membrane interaction and its correlation with biological effect on cells-The case of EYPC liposomes and human erythrocyte membranes. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* 1838(8):2127-2138.
- Pawlikowska-Pawłęga, B., Misiak, L.E., Zarzyka, B., Paduch, R., Gawron, A., Gruszecki, W.I., 2012. Localization and interaction of genistein with model membranes formed with dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC). *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* 1818(7):1785-1793.
- Pawlikowska-Pawłęga, B., Misiak, L.E., Zarzyka, B., Paduch, R., Gawron, A., Gruszecki, W.I., 2007. Modification of membranes by quercetin, a naturally occurring flavonoid, via its incorporation in the polar head group. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* 1768(9):2195-2204.
- Peterson GL: A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Anal Biochem*, 83:346-356, 1977.
- Pita G. Funciones de la Vitamina E en la nutrición humana. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 11(1): 46-57, 1997.
- Planque MRR, Aghdaei S, Roose T, Morgan H. Electrophysiological characterization of membrane disruption by nanoparticles. *ACS Nano*. 2011; 5(5):3599-3606.
- Plotkin MD, Kaplan MR, Verlander JM, Lee W-S, Brown D, Poch E, Gullans SR, Hebert SC. Localization of the thiazide sensitive Na-Cl cotransporter, rTSC1, in the rat kidney. *Kidney Int*. 1996; 50(1):174-183.
- Privalova L.I., Katsnelson B.A., Loginova N.V., Gurvich V.B., Shur V.Y., Valamina I.E., Makeyev O.H., Sutunkova M.P., Minigalieva I.A., Kireyeva E.P., Rusakov V.O., Tyurnina A.E., Kozin R.V., Meshtsheryakova E.Y., Korotkov A.V., Shuman E.A., Zvereva A.E., Kostykova S.V. Subchronic toxicity of copper oxide nanoparticles and its



attenuation with help of a combination of bioprotectors. *Int. J. Mol. Sci.* 15, 12379-12406, 2014.

- Pujalté I., Passagne I., Brouillaud B., Tréguer M., Durand E., Ohayon-Courtés C., L'Azou B., Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Particle and Fibre Toxicology* 8: 10, 2011.
- Raghunathan, M., Zubovski, Y., Venable, R.M., Pastor, R.W., Nagle, J.F., Tristram-Nagle, S., 2012. Structure and elasticity of lipid membranes with genistein and daidzein bioflavonoids using X-ray scattering and MD simulations. *Journal of Physical Chemistry B* 116(13):3918-3927.
- Reeves WB, Andreoli TE. Sodium chloride transport in the loop of Henle, distal convoluted tubule and collecting duct. 3a Ed. New York: In Seldin DW, Giebisch G, eds: *The Kidney—Physiology and Pathophysiology*; 2000, Raven Press.
- Riehemann K1, Schneider SW, Luger TA, Godin B, Ferrari M, Fuchs H: Nanomedicine-challenge and perspectives. *Angew Chem Int Ed Engl.* 48 (5) 827-97, 2009)
- Riella M.C., Martins C. *Nutrición y Riñón*. Médica Panamericana (eds), 2003.
- Rothen-Rutishauser BM, Schurch S, Haenni B, Kapp N, Gehr P. Interaction of fine particles and nanoparticles with red blood cells visualized with advanced microscopic techniques. *Environ Sci Technol.* 2006; 40(14):4353-4359.
- Russell JM. Sodium-potassium-chloride cotransport. *Physiol Rev.* 2000; 80(1):211-276.
- Sabaté J. *Nutrición vegetariana*. Safeliz (eds). 2005.
- Sabolic, Vrhovac I, Erer DB, Gerasimova M, Rose M, D. Breljak MD, Ljubojevic Brzica MH, Sebastiani A, Thal SC, Sauvart C, Kipp H, Vallon V, and Koepsell H. Expression of Na<sup>+</sup>-D-glucose cotransporter SGLT2 in rodents is kidney-specific and exhibits sex and species differences. *Am J physiol-cell pH.* 2012; 302(8):C1174-C1188.

- Scheidt, H.A., Pampel, A., Nissler, L., Gebhard, R., Huster, D., 2004. Investigation of the membrane localization and distribution of flavonoids by high-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* 1663(1-2):97-107.
- Sen C.K., Khanna S., Roy S. Tocotrienols: Vitamin E Beyond Tocopherols. *Life Sci*, 78(18): 2088-2098, 2006.
- Shaw SY, Westly EC, Pittet MJ, Subramanian A, Schreiber SL, Weissleder R. Perturbational profiling of nanomaterial biologic activity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105(21):7387-7392.
- Shvedova AA, Kagan VE, Fadeel B. Close encounters of the small kind: Adverse effects of man-made materials interfacing with the nano-cosmos of biological systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2010; 50:63-88.
- Smith TK, Ikeda Y, Fujii J, Taniguchi N, Meister A. Different sites of acivicin binding and inactivation of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92(6):2360-2364.
- Smulders, S., Luyts, K., Brabants, G., Landuyt, K.V., Kirschhock, C., Smolders, E., Golanski, L., Vanoirbeek, J., Hoet, P.H., 2014. Toxicity of nanoparticles embedded in paints compared with pristine nanoparticles in mice. *Toxicological Sciences* 141(1):132-140.
- Smulders, S., Luyts, K., Brabants, G., Golanski, L., Martens, J., Vanoirbeek, J., Hoet, P.H.M., 2015. Toxicity of nanoparticles embedded in paints compared to pristine nanoparticles, in vitro study. *Toxicology Letters* 232(2):333-339.
- Surette ME. The science behind dietary omega-3 fatty acids. *Can Med Assoc J* 2008;178:177-180.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Thevenot P., Cho J., Wavhal D., Timmons R.B., Tang L: Surface chemistry influence cancer killing effect of TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Nanomedicine* 4(3): 226-236, 2008.
  - Trevisan A, Giraldo M, Borella M, Maso S. Historical control data on urinary and renal tissue biomarkers in naive male Wistar rats. *J Appl Toxicol.* 2001; 21(5):409-413.
  - Tribole E. *Omega-3 La Dieta Esencial.* Norma (Eds). 2007.
  - Trinder P: Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem,* 6: 24, 1969.
  - Tsuchiya, H., Nagayama, M., Tanaka, T., Furusawa, M., Kashimata, M., Takeuchi, H., 2002. Membrane-rigidifying effects of anti-cancer dietary factors. *Biofactors* 16(3-4):45-56.
  - van Beek AT, Montoro P. 2009. Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. *Journal of Chromatography A* 1216(11):2002-2032.
  - Tur JA, Bibiloni MM, Sureda A, Pons A. Dietary sources of omega 3 fatty acids: Public health risks and benefits. *Br J Nutr* 2012;107(Suppl 2):S23–S52.
  - Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M: Free radicals, metals and oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions,* 160: 1-40, 2006.
  - Van Beek AT, Montoro P. 2009. Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. *Journal of Chromatography A* 1216(11):2002-2032.
  - Volkovová K, Ulicna O, Kucharska J, Handy R, Staruchova M, Kebis A, Pribojova J, Tulinska J, Dusinska M. Health effects of selected nanoparticles in vivo: Liver function and hepatotoxicity following intravenous injection of titanium dioxide and Na-oleate coated iron oxide nanoparticles in rodents. *Nanotoxicology* in press, 2014.

- Wagner H. 2011. Synergy research: Approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Fitoterapia* 82(1):34-37.
- Wu YL, Putchá N, Ng KW, Leong DT, Lim CT, Loo SCJ, Chen X. Biophysical responses upon the interaction of nanomaterials with cellular interfaces. *Acc Chem Res.* 2013; 46(3):782-791.
- Yang T, Huang YG, Singh I, Schnermann J, and Briggs JP. Localization of bumetanide- and thiazide-sensitive Na-K-Cl cotransporters along the rat nephron. *Am J Physiol - Renal* 1996; 271(4):F931-F939.
- Yang, Y., Zhang, Z., Li, S., Ye, X., Li, X., He, K., 2014. Synergy effects of herb extracts: Pharmacokinetics and pharmacodynamic basis. *Fitoterapia* 92(2):133-147.
- Zamora J.D.: *Antioxidantes micronutrientes en la lucha por la salud*. Red Revista Chilena de Nutrición, Chile, 2009, pp. 24.
- Zhang, Y., Wang, X., Wang, L., Yu, M., Han, X., 2014. Interactions of the baicalin and baicalein with bilayer lipid membranes investigated by cyclic voltammetry and UV-vis spectroscopy. *Bioelectrochemistry* 95:29-33.
- Zhou C., Tabb M.M., Sadatrafiei A., Grün F., Blumberg B. Tocotrienols activate the steroid and xenobiotic receptor, sxr, and selectively regulate expression of its target genes. *Drug Metabolism and Disposition*, 32(10) 1075-1082, 2004.
- Zhou Y, Vaidya VS, Brown RP, Zhang J, Rosenzweig BA, Thompson KL, Miller TJ, Bonventre JV, Goering PL. Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium. *Toxicol Sci.* 2008; 101(1):159-170.
- ✓ <http://www.waxxon.com.ar/rev/110/c>.
- ✓ <http://www.inin.gob.mx/publicaciones/documentospdf/39%20NANOPARTICULAS.pdf>
- ✓ <http://www.campus-oei.org/revistactsi/numero6/articulo04.htm#3a>.

- ✓ <http://salud.doctissimo.es/diccionario-medico/celula-t.html>.
- ✓ <http://es.thefreedictionary.com/bioluminiscencia>.
- ✓ <http://www.cancer.gov/diccionario?cdrid=46130>.
- ✓ [http://www.esacademic.com/dic.nsf/es\\_mediclopedia/8907/estrato](http://www.esacademic.com/dic.nsf/es_mediclopedia/8907/estrato).
- ✓ <http://www.onsalus.com/diccionario/interleucina-8-il-8/16703>.
- ✓ <http://www.euroresidentes.com/futuro/nanotecnologia/diccionario/nanomateriales.htm>.
- ✓ <http://salud.glosario.net/terminos-medicos-de-enfermedades/oxidaci%F3n-2971.html>.  
[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/RRR\\_alpha-tocopherol.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/7/7d/RRR_alpha-tocopherol.png)
- ✓ [http://www.lookfordiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=Ficoeritrina&lang=2](http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Ficoeritrina&lang=2)
- ✓ [http://www.lookfordiagnosis.com/mesh\\_info.php?term=%C3%81cido+Eicosapentaenoico&lang=2](http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=%C3%81cido+Eicosapentaenoico&lang=2)
- ✓ <http://ethesis.helsinki.fi>



## ANEXOS

### ANEXO A

Posible mecanismo de alteración de la membrana citoplasmática en las células apicales renales por NPs de TiO<sub>2</sub>.

### ANEXO B

Posible mecanismo de protección membranal en las células apicales renales por parte de los polifenoles del Gb, contra los efectos de NPs de TiO<sub>2</sub>.

### ANEXO C

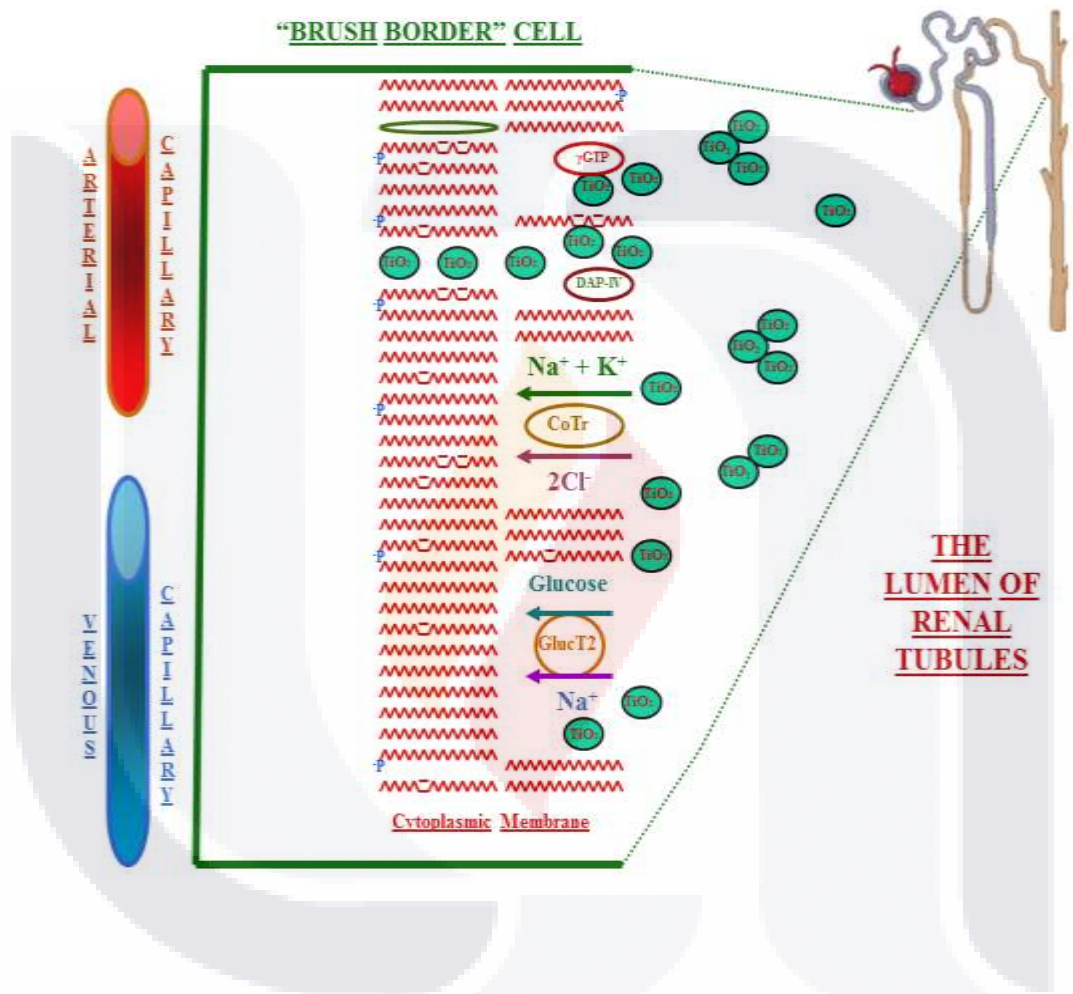
Posible mecanismo de protección membranal en las células apicales renales por parte de la vitamina E, contra los efectos de NPs de TiO<sub>2</sub>.

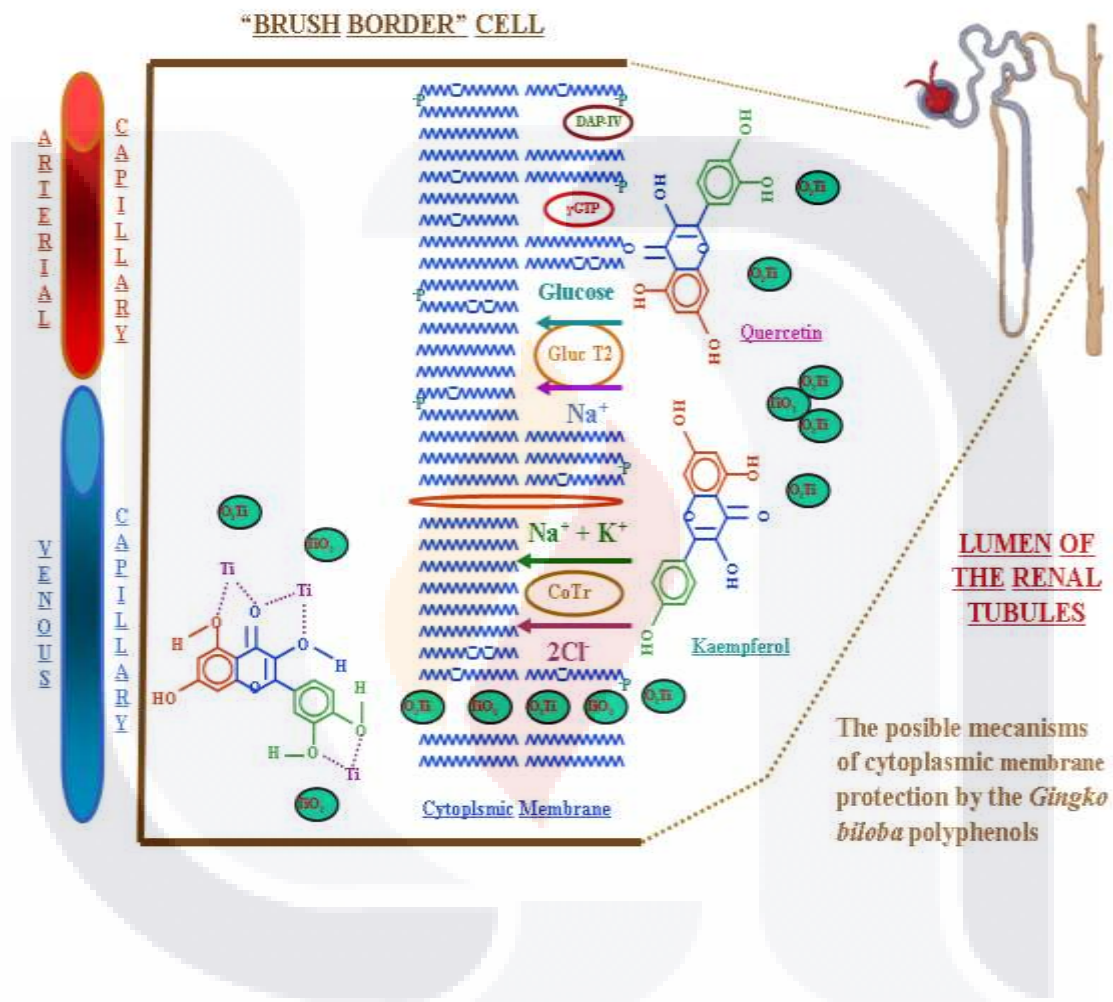
### ANEXO D

Posible mecanismo de protección membranal de las células apicales renales por parte de los ácidos grasos  $\omega$ -3, contra los efectos de NPs de TiO<sub>2</sub>.

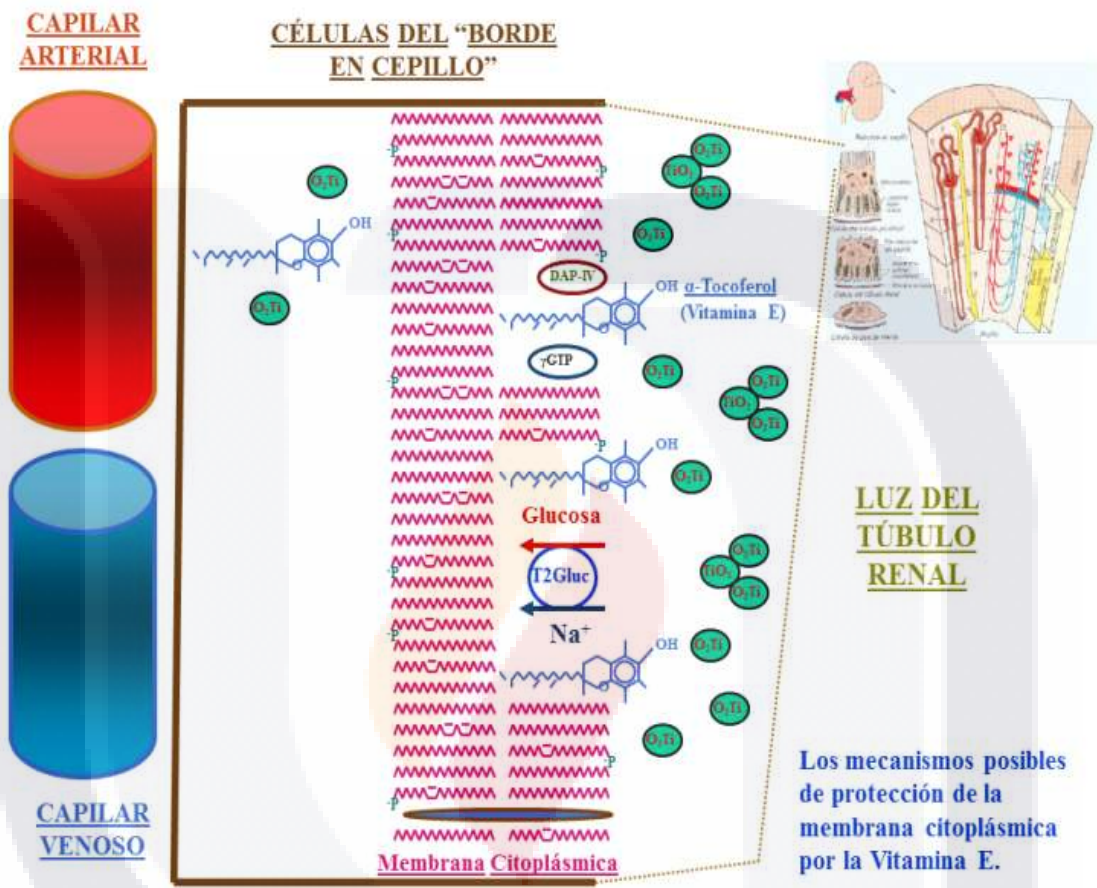
### ANEXO E

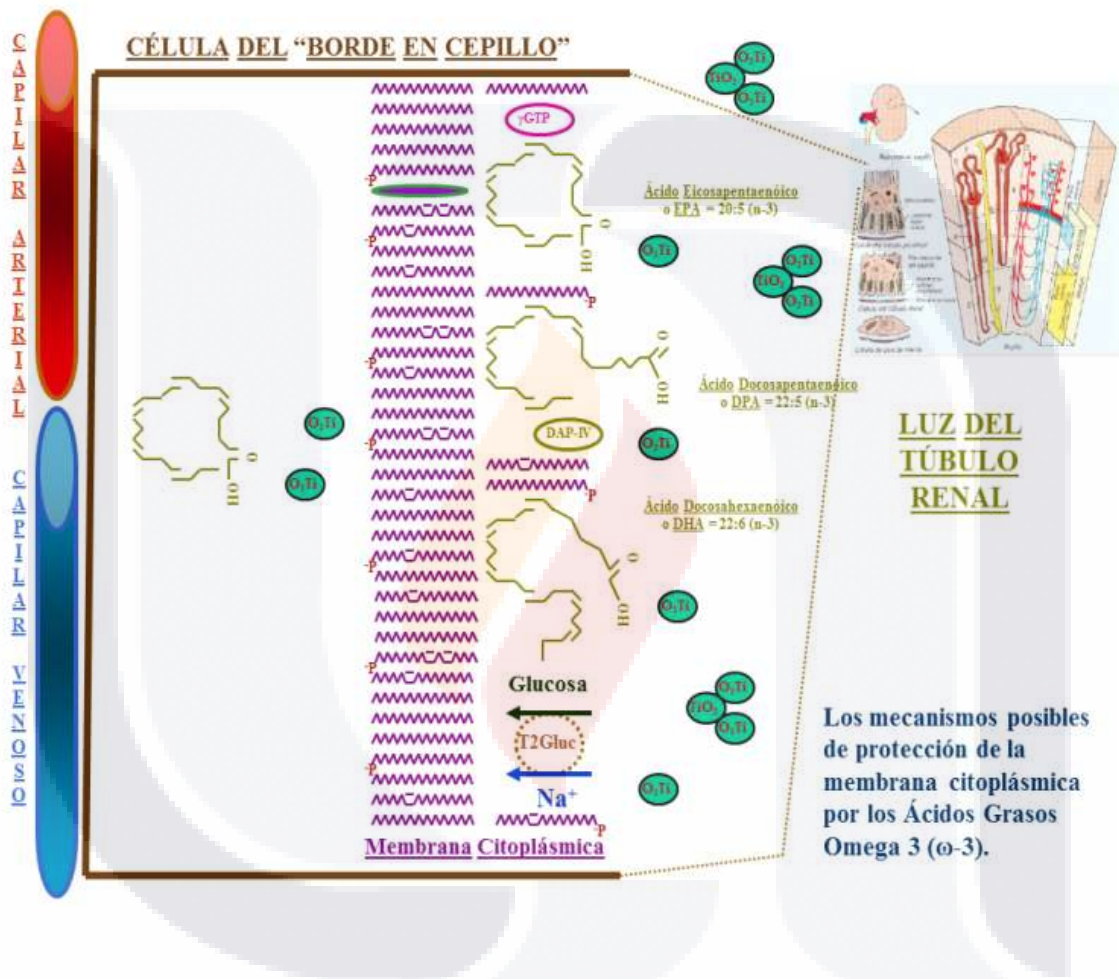
Carta de aceptación y artículo científico publicado denominado “Efectos renales de una dosis única intravenosa de nanopartículas de dióxido de titanio en ratas macho adultas”.











Los mecanismos posibles de protección de la membrana citoplásmica por los Ácidos Grasos Omega 3 (ω-3).



**Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.**  
Nicolás San Juan No. 1511 Colonia del Valle  
Delegación Benito Juárez C.P. 03100  
México D.F.  
Tel: 9183-2060  
www.afmac.org.mx

**Expediente: 528**

México, D.F. a 11 de junio de 2015

**Dr. Francisco A. Posadas del Río**  
Departamento de Fisiología y Farmacología, CCB  
Universidad Autónoma de Aguascalientes

Presente

Estimado doctor Posadas:

Tengo el agrado de comunicarle que el artículo perteneciente a la sección **Trabajo Científico** intitulado:

"Efectos renales de una dosis única intravenosa de nanopartículas de dióxido de titanio en ratas macho adultas"

de los autores *Carlos Enrique Escárcega González, María Luisa Rodríguez Vázquez, Fernando Jaramillo Juárez, Haydeé Martínez Ruvalcaba, Marcelo Silva Briano, Araceli Adabache Ortiz, Francisco Anibal Posadas del Río*, ha sido aceptado para su publicación en la *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* en el Vol. 46, No. 1 enero-marzo 2015.

La *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* está indizada a *Internacional Pharmaceutical Abstracts, Chemical Abstracts, EMBASE de Excerpta Medica, Latindex, Índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnología del CONACyT* (expediente No. 66688) y a la *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (Redalyc)*.

Esperando contar nuevamente con material de su autoría, quedo de usted.

Atentamente

Por la superación Técnica y Científica

  
Dra. Inés Fuentes Noriega  
Co-Editora

  
Dr. Vicente Jesús Hernández Abad  
Editor

F-ER-AFM-018

c.c.p. Dr. Vicente Jesús Hernández Abad Editor RMCF  
c.c.p. Archivo AFMAC

## Trabajo Científico

## Efectos renales de una dosis única intravenosa de nanopartículas de dióxido de titanio en ratas macho adultas

### The renal effects of a single and intravenous dose of titanium dioxide nanoparticles in adult male rats

Carlos Enrique Escárcega González, María Luisa Rodríguez Vázquez,<sup>1</sup> Fernando Jaramillo Juárez,<sup>1</sup> Haydeé Martínez Ruvalcaba,<sup>2</sup> Marcelo Silva Briano,<sup>3</sup> Araceli Adabache Ortiz,<sup>3</sup> Francisco Aníbal Posadas del Río<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad Autónoma de Aguascalientes

<sup>2</sup>Departamento de Microbiología, Universidad Autónoma de Aguascalientes

<sup>3</sup>Departamento de Biología del Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes

#### Resumen

Muchos organismos vivos están expuestos a nanomateriales. Los efectos renales de una dosis única intravenosa (5mg/kg) de dióxido de titanio en ratas Wistar macho adultas fueron obtenidos analizando muestras de orina de 0-5 h, 5-24 h, 24-48 h y 48-72 h, dando efectos tempranos significativos ( $p < 0.05$ ): a) Incremento de la actividad enzimática de  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa y dipeptidilaminopeptidasa en todos los tiempos evaluados. b) incremento de la concentración urinaria de sodio en todos los tiempos evaluados. c) Incremento en la concentración de glucosa y osmolaridad urinaria a las 5-24 h, 24-48 h y 48-72 h. Por consiguiente, las nanopartículas de dióxido de titanio producen efectos relacionados con el tiempo en ratas macho adultas. Estos resultados pueden ser usados como biomarcadores de exposición a nanopartículas.

#### Abstract

Most living organisms are exposed to nanomaterials. The renal effects of a single and intravenous dose (5 mg/kg) of titanium dioxide nanoparticles to male adult Wistar rats were obtained analyzing urine samples at 0-5 h, 5-24 h, 24-48 h and 48-72 h, giving as the earliest and significant ( $p < 0.05$ ) effects: a) increase of the enzymatic activity of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase, and dipeptidylaminopeptidase at all times tested b) increase the concentration of urinary sodium at all times tested c) Increase the concentration of urinary glucose and the urine osmolarity at 5-24 h, 24-48 h, and 48-72 h. Thus, the titanium dioxide nanoparticles produced time-related effects in adult male rats. These renal effects could be used as another biomarker of exposure to nanoparticles.

**Palabras clave:**  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa, dipeptidilaminopeptidasa IV, glucosa, osmolaridad, sodio.

**Key words:**  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase; dipeptidylaminopeptidase IV; glucose; osmolarity; sodium.

#### Correspondencia:

Dr. Francisco A. Posadas del Río  
Departamento de Fisiología y Farmacología  
Centro de Ciencias Básicas  
Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Av. Universidad No. 940, 20100 Aguascalientes, Ags., México  
Teléfono: (524) 49910-345. Fax: (524) 49910-8401  
e-mail: fposadas@correo.uaa.mx

Fecha de recepción: 04 de marzo de 2015

Fecha de recepción modificaciones: 25 de mayo de 2015

Fecha de aceptación: 11 de junio de 2015

## Introduction

Natural nanoparticles (NPs) have existed in environment since the beginning of Earth's history as volcanic dust, most natural waters, soils, and sediments; they are generated by geological and biological processes, and while some can be toxic, organisms have evolved in an environment containing them.<sup>1,2</sup> Nanotechnology represents the design, production and application of materials at atomic, molecular and macromolecular scales, in order to produce new nanosized materials. Nanomaterials are defined as materials containing man-made nanoparticles or having nanostructured surface topography. Manufactured NPs have complex colloid and aggregation chemistry, affected by particle shape, size, surface area and surface charge, as well as their adsorption properties; on the other hand, pH, ionic strength, water hardness, and organic matter alter aggregation and influence their toxicity.<sup>3-8</sup> Most living organisms are exposed to NPs through the gastrointestinal tract, the lungs, and the skin. Once into the body, NPs interact with macromolecules of the cell organelles, mainly with proteins and nucleic acids, establishing biological interfaces that depend on colloidal forces as well as dynamic biophysicochemical interactions.<sup>9</sup>

TiO<sub>2</sub>-NPs are a fine white powder, often used as pigments or additives for ceramics, paints, paper, plastics, food, sunscreens, and toothpaste.<sup>10</sup> Thus, organisms are exposed to TiO<sub>2</sub>-NPs and may develop toxic effects.<sup>8, 11</sup> To study their toxicity, they are administered by the oral,<sup>12</sup> intravenous,<sup>13-15</sup> intraperitoneal<sup>16, 17</sup> and inhalation<sup>18</sup> routes in mice and rats. The toxicity of TiO<sub>2</sub>-NPs has mainly been studied *in vitro*.<sup>19-22</sup>

The main function of kidneys, in mammals, is the excretion of metabolic end products from the body, and the regulation of extracellular fluid volume and electrolyte composition.<sup>23</sup> Their high blood flow, combined with their ability to concentrate solutes, exposes them to high concentration of xenobiotics present in the systemic circulation. Because of the rich blood supply of the kidneys, in relation to their mass, this organ is particularly liable to damage by toxic substances. Xenobiotics are physiologically concentrated in the renal tissue leading to its functional impairment.

Since the studies on renal effects of TiO<sub>2</sub> nanoparticles (NPs) are relatively scarce, we decided to investigate the *in vivo* effects with the hypothesis that administration of a single dose of TiO<sub>2</sub>-NPs would produce some of the effects of these NPs, in the kidneys of adult male rats. These studies would help to reinforce assessment to the risk of exposure to living beings, since nanomaterials are found in the environment,<sup>24-27</sup> in food and consumer products,<sup>28-32</sup> at work,<sup>33-36</sup> and even from implant release.<sup>37</sup>

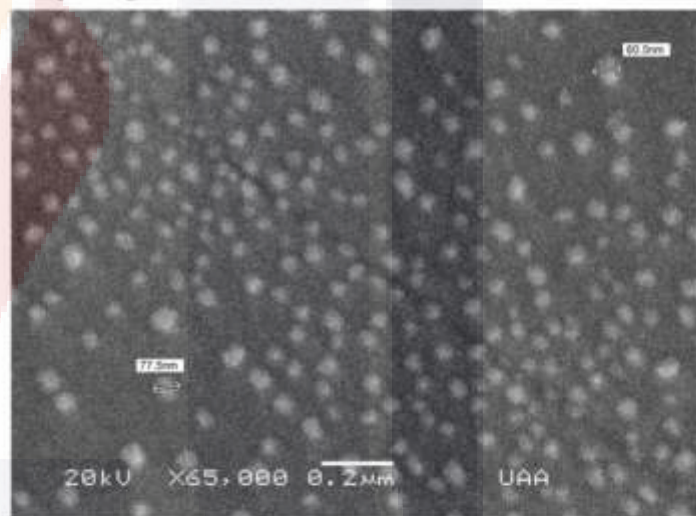
## Materials and methods

### Animals

Male adult Wistar rats (270 ± 17g) were used and maintained in stainless steel cages with a 12 h light/dark regime. We used 6 animals per experimental group (n = 6). The rats were handled according with the *Guiding Principles in the Use of Animals in Toxicology*.

### Chemicals

γ-L-glutamyl, L-glycylprolyl, and L-alanyl *p*-nitroanilides were of analytical grade and were purchased from Sigma Chemical (St. Louis, MO). Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NPs) of less than 100 nm were obtained from (Sigma-Aldrich). Particle size and morphology were measured using scanning electron microscopy (JEOL LV 5900), operating at 20 kV. An image of the TiO<sub>2</sub>-NPs used in this study is shown in Figure 1. A stock suspension of TiO<sub>2</sub>-NPs was prepared in distilled water (30 mg/mL) and, before administration, it was diluted to desired concentration also in distilled water. All other reagents were of analytical grade.



**Figure 1.** The SEM image with morphology and size of TiO<sub>2</sub> nanoparticles (56000x).

### Experimental Design

**Treatment.** The rats were divided in two groups: one group was treated with a single and intravenous dose of TiO<sub>2</sub>-NPs (5 mg/kg of body weight) and other group with an equivalent dose of sodium chloride (control rats). The dose used in our study (5 mg/kg of body weight) and the administration route (intravenous) are the same as used in other study in 2008,<sup>38</sup> and is equivalent to the 8.5% of the Lethal dose 50, also by the intravenous route for rats.<sup>39,40</sup> The highest concentration of TiO<sub>2</sub>-NPs was found in liver, spleen, lung and kidney at 24 hours after intravenous injection, and returned to control values by day 14 (kidneys).<sup>38</sup>

The groups were kept in metabolic cages with food and water *ad libitum*, and at room temperature ( $24 \pm 1$  °C). The urine was continuously collected, in vessels attached to the metabolic cages, from 0 to 5 h, from 5 to 24 h, from 24 to 48 h, and from 48 to 72 h. The sampling times were selected mainly to evaluate renal biomarkers of early damage. Furthermore these sampling times are based in the high concentration of TiO<sub>2</sub> NPs that the rats kidneys present at 24 hours post-administration *i.v.*<sup>38</sup>

**Biochemical assays.** All parameters studied were measured in the collected urine. The specific activity of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (EC 2.3.2.2) was determined in 50 mM Tris-HCl, pH 9.0, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, with 20 mM glycylglycine and  $\gamma$ -glutamyl-p nitroanilide as substrate, in a spectrophotometer at 405 nm.<sup>41</sup> The specific activity of dipeptidylaminopeptidase-IV (EC 3.4.14.5) was assayed in 50 mM Tris-Cl, pH 8.0, with glypro-p-nitroanilide as substrate, also at 405 nm<sup>42</sup> in a spectrophotometer. The enzymatic activities were carried out at room temperature ( $25 \pm 1$  °C). These assays were carried out in 0.5 mL final incubation volume. The initial enzymatic rates were calculated from continuous recording, in duplicate, in a UV/VIS spectrophotometer (Varian-DMS 80).

Protein was measured with the Folin phenol reagent using bovine serum albumin as standard.<sup>43</sup> We also measured: the volume, the concentration of creatinine,<sup>44</sup> the pH in a pH meter, the osmolality in a microsmometer ( $\mu$ Osmette), the concentration of glucose in a spectrophotometer (Trinder, 1969) and the concentration of sodium with a flame photometer (Corning Flame Photometer 410).

### Statistical analysis

We calculated the significance of the differences between group means with the two-tailed Student's *t*-test for grouped data with ANOVA pos-test of the urinary parameters, using the software Prism 4 (GraphPad Software Inc.); graphs were produced using Slide Write Plus version 4.0 for Windows (Advanced Graphics Software Inc).

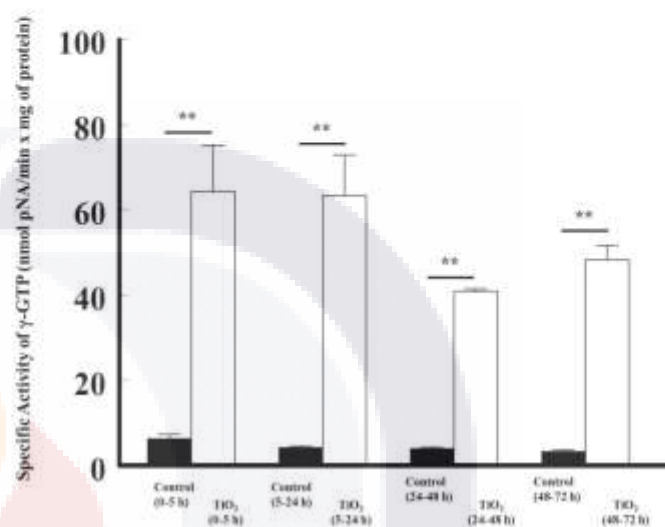
## Results and Discussion

In the last decade, most of the nanotoxicity studies have generally focused on culture cells and, among them, in kidney cells.<sup>45-48</sup> However, there is a growing need for *in vivo* research on the effects of nanoparticles.<sup>49,50</sup>

In this study the administration of a single dose of TiO<sub>2</sub>-NPs (5 mg/kg, intravenous) altered the following parameters, as a reflection of their renal effects:

### The effects of TiO<sub>2</sub>-NPs on the enzymatic activity of $\gamma$ -glutamyltranspeptidase in the urine of rats

Titanium dioxide nanoparticles increased significantly ( $p < 0.05$ ) the specific activity of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase by  $6.4 \pm 1.0$  vs  $64.4 \pm 10.7$  (0 to 5 h);  $4.3 \pm 0.2$  vs  $63.3 \pm 9.6$  (5 to 24 h);  $4.1 \pm 0.2$  vs  $40.9 \pm 0.6$  (24 to 48 h), and  $3.4 \pm 0.3$  vs  $48.3 \pm 3.4$  nmol p-nitroanilide/min x mg of protein (48 to 72 h), respectively, compared with the control group, as depicted in Figure 2.



**Figure 2.** The effects of the intravenous administration of titanium dioxide (5 mg/kg) on the enzymatic activity of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase in the urine of rats, at different time periods, compared with control rats. The enzymatic activity is presented as nmol p-NA/min x mg of protein. The values represent the mean  $\pm$  SEM, n = 6. The significance level is: \*\* =  $P < 0.01$ ; pNA: p-Nitroanilide.

### The effects of TiO<sub>2</sub>-NPs on the enzymatic activity of dipeptidylaminopeptidase-IV in the urine of rats

TiO<sub>2</sub> nanoparticles also increased significantly the specific activity of dipeptidylaminopeptidase-IV (DAP-IV):  $4.8 \pm 0.6$  vs  $11.1 \pm 0.9$  from 0 to 5 h;  $2.3 \pm 0.2$  vs  $9.8 \pm 0.5$  from 5 to 24 h;  $2.9 \pm 0.2$  vs  $8.1 \pm 0.7$  from 24 to 48 h, and  $3.0 \pm 0.4$  vs  $8.5 \pm 0.3$  nmol p-nitroanilide/min x mg of protein from 48 to 72 h, respectively, compared with the control group (Figure 3).

We found that the earliest renal effects, on male and adult Wistar rats, were increases of the enzymatic activities of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase and dipeptidylaminopeptidase IV. These enzymes are predominantly located on the apical membrane (brush border) of proximal cells.<sup>51-54</sup> On the other hand, enzyme activities in serum, plasma or urine are the most widely used markers of organ damage in human or experimental animals in toxicology.<sup>55-57</sup> We believe that these effects are mainly due to a direct interaction of the TiO<sub>2</sub>-NPs with the cytoplasmic membrane of the brush border cells, that line the luminal side of proximal convoluted tubules. We believe that

the observed effects are mainly and initially produced by an direct interaction among TiO<sub>2</sub> NPs–cytoplasmic membrane, of the brush border cells that line the luminal side of renal tubules, due to their small size and the lack of electric charge, making it easier to absorb and therefore, the interaction and disruption is produced on the cytoplasmic membranes. This interpretation is supported by the effects of cationic NPs and TiO<sub>2</sub> NPs described in model membranes<sup>58-67</sup> and in intact cells.<sup>68-73</sup> These authors describe their findings as related to the physical disruption of model biological membranes and living cell membranes, at nanoscopic scale, by the chemical properties of nanomaterials that generate “nanoholes” in the membranes and decrease their stability. These interactions are established with the biological interfaces and depend on colloidal forces as well as dynamic biophysicochemical parameters.<sup>8,9</sup>

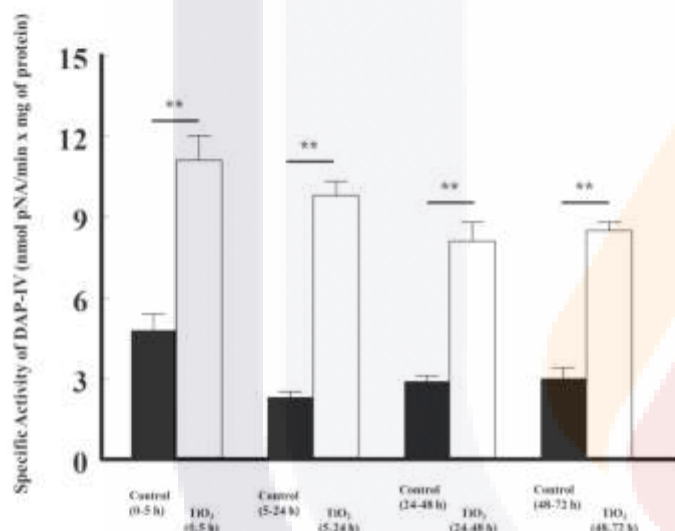


Figure 3. The effects of TiO<sub>2</sub> (5 mg/kg, intravenous) on the enzymatic activity of dipeptidylaminopeptidase-IV in the urine of rats, at different time periods, compared with control rats. The enzymatic activity is shown as nmol p-NA/min x mg of protein. The values represent the mean ± SEM, n = 6. The significance level is: \*\* = P<0.01; pNA: p-Nitroanilide.

**The effects of TiO<sub>2</sub>-NPs on the concentration of glucose in the urine of rats**

TiO<sub>2</sub> nanoparticles increased significantly the glucose concentration: 29.2 ± 3.2 vs 2.1 ± 0.3 from 5 to 24 h; 14.2 ± 4.6 vs 1.9 ± 0.4 from 24 to 48 h, and 19.1 ± 3.5 vs 1.9 ± 0.3 mg/dl from 48 to 72 h, respectively, compared with the control group (Figure 4).

**The effects of TiO<sub>2</sub>-NPs on the concentration of sodium in the urine of rats**

TiO<sub>2</sub> nanoparticles increased significantly the concentration of urinary sodium by 35 ± 3 vs 85 ± 17 (5 to 24 h), 31 ± 3 vs 104

± 9 (24 to 48 h), and 35 ± 6 vs 126 ± 8 mEq/l (48 to 72 h), respectively, compared with the control group, as shown in Figure 5.

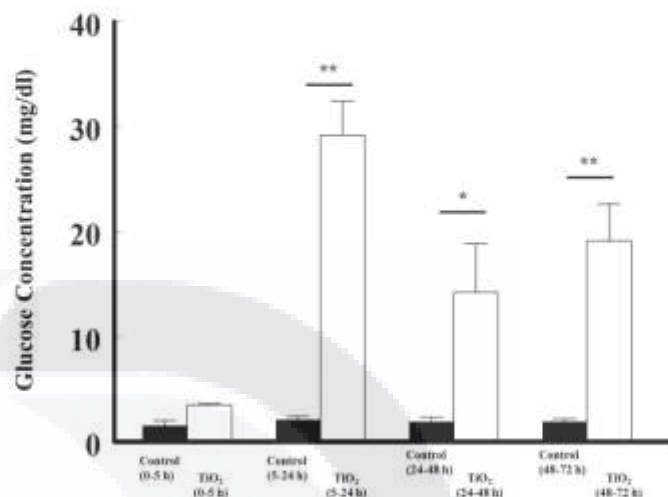


Figure 4. The effects of titanium dioxide (5 mg/kg, intravenous) on the concentration of glucose in the urine of rats, at different time periods, compared with control rats. The glucose concentration is presented as mg/dl. The significance levels are: \* = P<0.05, \*\* = P<0.01.

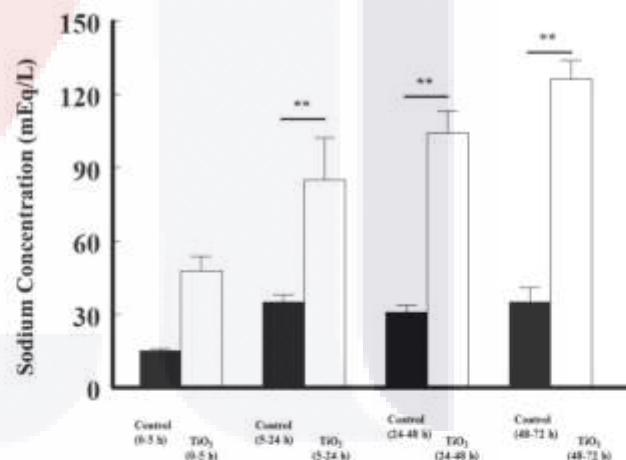
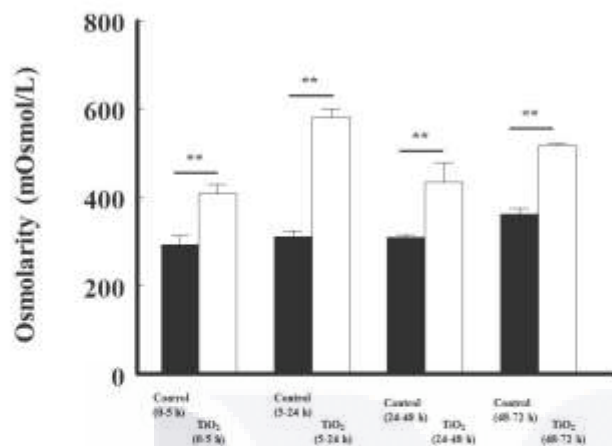


Figure 5. The effects of the intravenous administration of TiO<sub>2</sub> (5 mg/kg) on the concentration of sodium in the urine of rats, at different time periods, compared with control rats. The sodium concentration is presented as mEquivalents of Na<sup>+</sup>/liter. The significance level is: \*\* = P<0.01.

**The effects of TiO<sub>2</sub>-NPs on urinary osmolarity of rats**

Titanium dioxide nanoparticles increased significantly the osmolarity of urine by 311 ± 13 vs 580 ± 19 (5 to 24 h), by 309 ± 6 vs 434 ± 44 (24 to 48 h), and by 361 ± 14 vs 516 ± 7 mOsmol/l (48 to 72 h), respectively, compared with the control group, as shown in Figure 6.



**Figure 6.** The effects of TiO<sub>2</sub> (5 mg/kg, intravenous) on urinary osmolarity of rats, at different time periods, compared with control rats. The osmolarity is shown as mOsmoles/liter. The significance level is: \*\* = P<0.01.

Briefly, sodium reabsorption takes place in various nephron segments. The proximal tubule is responsible for reabsorption of about 67 % of the filtered sodium load. Sodium enters the proximal tubular cell via a series of carriers that also transport other solutes.<sup>74</sup> Thus, there are specific sodium-glucose, sodium-phosphate, and several different sodium-amino acid cotransporters. In the thick limb ascending of Loop Henle, the sodium is reabsorbed (25 %) by Na-K-2Cl co-transporter (symporter) across the membrane of the lumen. In the distal convoluted tubule sodium is transported and reabsorbed (5 %) against an electrochemical gradient by Na-Cl symporters.<sup>75</sup>

The disruption of the cytoplasmic membrane by TiO<sub>2</sub>-NPs would alter the function of the cotransporters of sodium-glucose<sup>76,77</sup> mainly the rat rSGLT2<sup>78</sup> and SGLT-5 in humans,<sup>79</sup> as well as ion cotransporters mainly the Na-K-Cl cotransporter<sup>80-85</sup> mainly the Na-K-Cl cotransporter.<sup>86</sup> These transporters are the major participants in urine osmolarity.<sup>87</sup> Those time-related effects of TiO<sub>2</sub> NPs were detected after the enzymuria, as increased concentration of the urinary glucose (glucosuria), and increased concentration of the urinary sodium (hipematriuria), along with increased of urine osmolality. The effects would be due to dysregulation of these nephron cotransporters

We do not rule out the participation of oxidative stress on the renal effects generated by TiO<sub>2</sub> that have been reported.<sup>88-91</sup> However, we believe that oxidative stress by titanium dioxide would be generated at later times, as described by Escárcega-González.<sup>92</sup>

**The effects of titanium dioxide on other urinary parameters**  
TiO<sub>2</sub> did not modify significantly the concentration of protein,

the concentration of creatinine, the volume nor the pH of urine; likewise, titanium dioxide did not modify significantly the water and food intakes nor the body weigh, as depicted in Table 1.

Parameter	0 - 5 h	5 - 24 h	24 - 48 h	48 - 72 h
<b>Protein (mg/ml)</b>				
Control	4.5 ± 0.3	8.8 ± 0.4	8.2 ± 0.2	8.8 ± 0.2
Treated	5.3 ± 0.5	5.6 ± 0.3	6.9 ± 0.3	7.8 ± 0.1
<b>Volume (ml)</b>				
Control	4.0 ± 0.5	8.7 ± 0.7	8.7 ± 0.5	13.7 ± 1.4
Treated	3.0 ± 0.15	9.0 ± 1.0	9.0 ± 1.0	9.0 ± 1.0
<b>Total Creatinine (mg/dl)</b>				
Control	57 ± 2.1	87 ± 1.7	77 ± 2.7	62 ± 5.1
Treated	47 ± 1.5	77 ± 1.3	83 ± 2.8	84 ± 6.5
<b>pH</b>				
Control	7.6 ± 0.2	7.4 ± 0.3	7.3 ± 0.3	6.9 ± 0.4
Treated	6.3 ± 0.3	6.5 ± 0.3	6.8 ± 0.2	6.3 ± 0.2
<b>Water consumption (ml in 19 or 24 h)</b>				
Control		35 ± 3.4	32 ± 3.0	35 ± 2.0
Treated		35 ± 5.0	32 ± 4.0	30 ± 4.0
<b>Food consumption (g in 19 or 24 h)</b>				
Control		18.5 ± 1.3	19.3 ± 0.7	20.8 ± 1.4
Treated		19.0 ± 1.0	16.0 ± 1.0	15.0 ± 1.0
<b>Body weight (g in 19 or 24 h)</b>				
Control		247 ± 15	240 ± 11	256 ± 13
Treated		227 ± 13	237 ± 14	266 ± 16

Values represent the mean ± scm (n = 6).

**Table 1.** The effects of titanium dioxide (5 mg/kg body weight) on other urinary and general parameters studied.

Figure 7 summarizes the possible mechanisms of disruption in the cytoplasmic membrane of apical cells. Along the renal tubules, TiO<sub>2</sub>-NPs might change the molecular environment of the two enzymes (dipeptidylaminopeptidase IV and γ-glutamyltranspeptidase) as well as of the cotransporters of Na-glucose and Na-K-Cl, and consequently, the urinary osmolality. Thus, the TiO<sub>2</sub> NPs increase the release of the peptidases from cytoplasmic membrane reflected as their increase of activity in urine. Furthermore, the TiO<sub>2</sub> NPs alter the function of the cotransporters and increase the urinary amount of glucose, sodium and probably other ions. This proposed mechanism, may explain the increase on the specific activity of γ-GTP y DAP-IV, similar to the studies on model membranes and nanoparticles.<sup>64, 58</sup>

Finally, these renal effects of TiO<sub>2</sub>-NPs could be used as another biomarker of exposure to living beings, because nanomaterials are found in the environment, in food and consumer products, at work, and in humans, even from implant release.



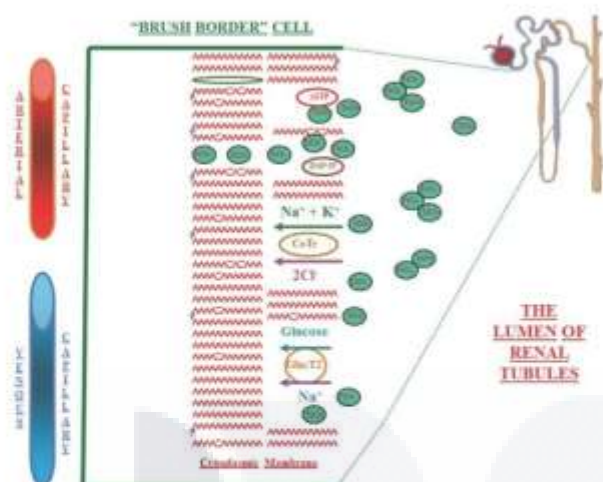


Figure 7. Drawing of the possible mechanisms of cytoplasmic membrane disruption by titanium dioxide nanoparticles at the luminal side of the brush border cells, all along the renal tubules of rat kidneys.  $\gamma$ GT:  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase, DAP-IV: dipeptidylaminopeptidase IV, CoT: electroneutral Na-K-Cl cotransporter, and Gluc T2: Glucose-Na cotransporter 2

## Conclusions

The administration of a single dose (intravenous) of  $\text{TiO}_2$ -NPs (5 mg/kg), to adult male rats, produced a disruption on the apical surface of the nephron cells, and allow us to dissect, timewise, initial effects (0 to 5 h) on the proximal convoluted tubule of kidneys, reflected as the urinary increase in activity of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase and dipeptidylaminopeptidase IV. These effects were followed (5 to 24 h) by the urinary increase in glucose and sodium concentration, and osmolarity. All effects remained, at least, for four days. To our knowledge we believe that this work is the first in vivo study related to early effects of  $\text{TiO}_2$  on the kidneys of rats. These renal effects could be used as another biomarker of exposure to these nanoparticles in organisms including human beings.

## Acknowledgements

The authors acknowledge the doctoral fellowship to M. en C. Carlos Enrique Escárcega-González (CONACYT-CVU: 377051), and the research funding for our Academic Group from PROMEP-SEP (UAA CA25) to the Universidad Autónoma de Aguascalientes.

## References

- Handy RD, Owen R, Valsami-Jones E. The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: Current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. *Ecotoxicol.* 2008; 17(5):315-325.

- Peralta-Videa JR, Zhao L, Lopez-Moreno ML, de la Rosa G, Hong J, Gardea-Torresdey GL. Nanomaterials and the environment: A review for the biennium 2008-2010. *J Hazard Mater.* 2011; 186(1):1-15.
- Bruno ME, Tasat DR, Ramos E, Paparella ML, Evelson P, Rebagliati RJ, Cabrini RL, Guglielmotti MB, Olmedo DG. Impact through time of different sized titanium dioxide particles on biochemical and histopathological parameters. *J Biomed Mater Res A.* 2013; 102(5):1439-1448.
- Chaudhry Q, Groves K. Nanotechnology applications for food ingredients, additives and supplements. In: Chaudhry Q, Castle L, Watkins R, eds. *Nanotechnologies in Food.* Cambridge, UK: RSC Publishing; 2010, p. 69-85
- Hagens WI, Oomen AG, de Jong WH, Cassee FR, Sips AJAM. What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body? *Reg Toxicol Pharmacol.* 2007; 49(3):217-229.
- Rivera Gil P, Oberdörster G, Elder A, Puentes V, Parak WJ. Correlating physico-chemical with toxicological properties of nanoparticles: The present and the future. *ACS Nano.* 2010; 4(10):5527-5531.
- Shi H, Magaye R, Castranova V, Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: A review of current toxicological data. *Part Fibre Toxicol.* 2013; 10:15.
- Shvedova AA, Kagan VE, Fadeel B. Close encounters of the small kind: Adverse effects of man-made materials interfacing with the nano-cosmos of biological systems. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2010; 50:63-88.
- Nel A, Mädler L, Velegol D, Xia T, Hoek E, Somasundaran P, Klaessig F, Castranova V, Thompson M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat Mater.* 2009; 8(7):543-557.
- Chen X, Mao SS. Titanium dioxide nanomaterials: Synthesis, properties, forms, and applications. *Chem Rev.* 2007; 107(7):2891-2959.
- Feng W, Wang B, Zhao Y. Chapter 13. Nanotoxicity of metal oxide nanoparticles in vivo. In Sahu SC, Casciano DA, eds. *Nanotoxicity.* Chichester, UK: John Wiley & Sons; 2009, p. 247-269.
- Cho W-S, Kang B-C, Lee JK, Jeong J, Che J-H, Seok SH. Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration. *Part Fibre Toxicol.* 2013; 10:9.
- Sugibayashi K, Todo H, Kimura E. Safety evaluation of titanium dioxide nanoparticles by their absorption and elimination profiles. *J Toxicol Sci.* 2008; 33(3):293-298.
- Xie G, Wang C, Sun J, Zhong G. Tissue distribution and excretion of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles. *Toxicol Lett.* 2011; 205(1):55-61.
- Xu J, Shi H, Ruth M, Yu H, Lazar L, Zou B, Yang C, Wu A, Zhao J. Acute toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in mice. *PLoS ONE.* 2007; 8:e70618.

16. Chen J, Dong X, Zhao J, Tang G. In vivo acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles to mice after intraperitoneal injection. *J Appl Toxicol.* 2009; 29(4):330-337.
17. Olmedo DG, Tasat DR, Evelson P, Rebagliatti R, Guglielmotti MB, Cabrini RL. In vivo comparative biokinetics and biocompatibility of titanium and zirconium microparticles. *J Biomed Mater Res A.* 2011; 98(4):604-613.
18. Liang G, Pu Y, Yin L, Liu R, Ye B, Su Y, Li Y. Influence of different sizes of titanium dioxide nanoparticles on hepatic and renal functions in rats with correlation to oxidative stress. *J Toxicol Environ Health A.* 2009; 72(11-12):740-745.
19. Arora S, Rajwade JM, Paknikar KM. Nanotoxicology and in vitro studies: The need of the hour. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012; 258(2):151-165.
20. Barillet S, Simon-Deckers A, Herlin-Boime N, Mayne-L'Hermite M, Reynaud C, Cassio D, Gouget B, Carriere M. Toxicological consequences of TiO<sub>2</sub>, SiC nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes exposure in several mammalian cell types: An in vitro study. *J Nanopart Res.* 2010; 12(1):61-73.
21. Iavicoli I, Leso V, Fontana L, Bergamaschi A. Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: A review of in vitro mammalian studies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2011; 15(5):481-508.
22. Jin C, Tang Y, Yang FG, Li XL, Xu S, Fan XY, Huang YY, Yang YJ. Cellular toxicity of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in anatase and rutile crystal phase. *Biol Trace Elem Res.* 2011; 141(1-3):3-15.
23. Geiser M, Rothen-Rutishauser B, Kapp N, Schürch S, Kreyling W, Schulz H, Semmler M, Im Hof V, Heyder J, Gehr P. Ultrafine particles cross cellular membranes by nonphagocytic mechanisms in lungs and in cultured cells. *Environ Health Perspect.* 2005; 113(11):1555-1560.
24. Baalousha M, Lead JR, Von der Kammer F, Hofmann T. Natural colloids and nanoparticles in aquatic and terrestrial environments. In *Environmental and Human Health Impacts of Nanotechnology*. JR Lead, E Smith eds. New York: Wiley; 2009, p.109-161
25. Farre M, Sanchis J, Barcelo D. Analysis and assessment of the occurrence, the fate and the behavior of nanomaterials in the environment. *Trend Anal Chem.* 2011; 30(3): 517-527.
26. Menard A, Drobne D, Jemec A. Ecotoxicity of nanosized TiO<sub>2</sub>. Review of in vivo data. *Environ Pollut.* 2011; 159(3): 677-684.
27. Richardson SD, Ternes TA. Water analysis: Emerging contaminants and current issues *Anal Chem.* 2011; 83(12): 4614-4648.
28. Blasco C, Picó Y. Determining nanomaterials in food. *Trend Anal Chem.* 2011; 30(1): 84-99.
29. Calzolari L, Gilliland D, Rossi F. Measuring nanoparticles size distribution in food and consumer products: A review. *Food Addit Contam.* 2012; 29(8): 1183-1193.
30. Nohynek GL, Antignac E, Re T, Toutain H. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. *Toxicol Appl Pharm* 2010; 243(2): 239-259.
31. Weir A, Westerhoff P, Fabricius PL, Hristovski K, von Goetz N. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ Sci Technol.* 2012; 46(4): 2242-2250.
32. Yang Y, Doudrick K, Bi X, Hristovski K, Herckes P, Westerhoff P, Kaegi R. Characterization of food-grade titanium dioxide: The presence of nanosized particles. *Environ Sci Technol.* 2014; 48(11): 6391-6400.
33. Helland A, Scheringer M, Siegrist M, Kastenholz HG, Wiek A, Scholz RW. Risk assessment of engineered nanomaterials: A survey of industrial approaches. *Environ Sci Technol.* 2008; 42(2): 640-646.
34. Kuhlbusch TA, Asbach C, Fissan H, Göhler D, Stintz M. Nanoparticle exposure at nanotechnology workplaces A review. *Part Fibre Toxicol.* 2011; 8: 22, 2011.
35. Lee JH, Lee SB, Bae GN, Jeon KS, Yoon JU, Sung JH, Lee BG, Yang JS, Kim HY, Kang CS, Yu JJ. Exposure assessment of workplaces manufacturing nanosized TiO<sub>2</sub> and silver. *Inhal Toxicol.* 2010; 22(5): 369-381.
36. Reijnders L. Human health hazards of persistent inorganic and carbon nanoparticles. *J Mater Sci.* 2012; 47(13): 5061-5073.
37. Nuevo-Ordóñez Y, Montes-Bayón M, Blanco-González E, Paz-Aparicio J, Diánez Raimunde J, Tejerina JM, Peña MA, Sanz-Medel A. Titanium release in serum of patients with different bone fixation implants and its interaction with serum biomolecules at physiological levels. *Anal Bioanal Chem.* 2011; 401(9): 2747-2754.
38. Fabian E, Landsiedel R, Ma-Hock L, Wiench K, Wohlleben W, Van RB. Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats. *Arch Toxicol.* 2008; 82(3):151-157.
39. Šebeková K, Dušinská M, Simon Klenovics K, Kollárová R, Boor P, Kebis A, Staruchová M, Vlková B, Celec P, Hodosy J, Bačiak L, Tušková R, Beňo M, Tulinská J, Prbojová J, Bilaničová D, Pojana G, Marcocchini A, Volkovová K. Comprehensive assessment of nephrotoxicity of intravenously administered sodium-oleate-coated ultra-small superparamagnetic iron oxide (USPIO) and titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles in rats. *Nanotoxicology* 2014; 8(2):142-157.
40. Volkovová K, Uličná O, Kucharska J, Handy R, Staruchova M, Kebis A, Prbojova J, Tulinska J, Dusinska M. Health effects of selected nanoparticles in vivo: Liver function and hepatotoxicity following intravenous injection of titanium dioxide and Na-oleate coated iron oxide nanoparticles in rodents. *Nanotoxicology* in press, 2014.
41. Orlowski M, Meister A.  $\gamma$ -Glutamyl-p-nitroanilide: A new convenient substrate for determination of L- and D- $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase activities. *Biochim Biophys Acta.* 1963; 73:679-681.

42. Yoshimoto T, Fischl M, Orlowski RC, Roderich W. Post-proline cleaving enzyme and post-proline dipeptidyl aminopeptidase. Comparison of two peptidases with high specificity for proline residues. *J Biol Chem.* 1978; 253:3708-3716.
43. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193:265-275.
44. Jaffe M. Uber den niederschlag, welchen pikrinsaure in normalen harn erzeugt und uber eine neue reaction des kreatinins. *Z Physiol Chem.* 1886; 10:391-400.
45. Choi CM, Zuckerman JE, Webster P, Davis ME. Targeting kidney mesangium by nanoparticles of defined size. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108(16):6656-6661.
46. Ismagilov ZR, Shikina NV, Mazurkova NA, Tsikoza LT, Tuzikov FV, Ushakov VA, Ishchenko AV, Rudina NA, Korneev DV, Ryabchikova EI. Synthesis of nanoscale TiO<sub>2</sub> and study of the effect of their crystal structure on single cell response. *Sci World J.* 2012; Article ID 498345.
47. L'Azou B, Jorly J, On D, Sellier E, Moisan F, Fleury-Feith J, Cambar J, Brochard P, Ohayon C. In vitro effects of nanoparticles on renal cells. *Part Fibre Toxicol.* 2008; 5:22.
48. Pujalté I, Passagne I, Brouillaud B, Tréguer M, Durand E, Ohayon-Courtès C, L'Azou B. Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Part Fibre Toxicol.* 2011; 8:10.
49. Fischer HC, Chan WC. Nanotoxicity: The growing need for in vivo study. *Curr Opin Biotechnol.* 2007; 18(6):565-571.
50. Iavicoli I, Leso V, Bergamaschi A. Toxicological effects of titanium dioxide nanoparticles: A review of in vivo studies. *J Nanomater.* 2012; Article ID 964381
51. Guder WG, Ross BD. Enzyme distribution along the nephron. *Kidney Int* 1984; 26:101-111.
52. Lambair AM, Durinx C, Scharpe S, De Meester I. Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside: An update on structural properties, functions, and clinical aspects of the enzyme DPP IV. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003; 40(3):209-294.
53. Kim YB, Kopcho LM, Kirby MS, Hamann LG, Weigelt CA, Metzler WJ, Marcinkeviciene J. Mechanism of Gly-Pro-pNA cleavage catalyzed by dipeptidyl peptidase-IV and its inhibition by saxagliptin (BMS-477118). *Arch Biochem Biophys* 2006; 445(1):9-18.
54. Smith TK, Ikeda Y, Fujii J, Taniguchi N, Meister A. Different sites of acivicin binding and inactivation of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92(6):2360-2364.
55. Braun JP, Aktas M, Lefebvre H, Rico AG, Toutain PL. Clinical enzymology for the assessment of organ damage: Interspecific differences. *Comp Haematol Int.* 1993; 3(1):27-32.
56. Trevisan A, Giraldo M, Borella M, Maso S. Historical control data on urinary and renal tissue biomarkers in naive male Wistar rats. *J Appl Toxicol.* 2001; 21(5):409-413.
57. Zhou Y, Vaidya VS, Brown RP, Zhang J, Rosenzweig BA, Thompson KL, Miller TJ, Bonventre JV, Goering PL. Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium. *Toxicol Sci.* 2008; 101(1):159-170.
58. Aillon KL, Xie Y, El-Gendy N, Berkland CJ, Forrest ML. Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 60(3):457-466.
59. Chen KL, Bothun GD. Nanoparticles meet cell membranes: Probing nonspecific interactions using model membranes. *Environ Sci Technol.* 2014; 48(2):873-880.
60. Gkeka P, Sarkisov L, Angelikopoulos P. Homogeneous hydrophobic-hydrophilic surface patterns enhance permeation of nanoparticles through lipid membranes. *J Phys Chem Lett.* 2013 4(11):1907-1912.
61. Hong S, Hessler JA, Banaszak Holl MM, Leroueil PR, Mecke A, Orr BG. Physical interactions of nanoparticles with biological membranes: The observation of nanoscale hole formation. *J Chem Health Saf.* 2006; 13(3):16-20.
62. Leroueil PR, Hong SY, Mecke A, Baker JR, Orr BG, Holl MMB. Nanoparticle interaction with biological membranes: Does nanotechnology present a janus face? *Acc Chem Res.* 2007; 40(5):335-342.
63. Lesniak A, Salvati A, Santos-Martinez MJ, Radomski MW, Dawson KA, Aberg C. Nanoparticle adhesion to the cell membrane and its effect on nanoparticle uptake efficiency. *J Am Chem Soc.* 2013; 135(4):1438-1444.
64. Li S, Malmstadt N. Deformation and poration of lipid bilayer membranes by cationic nanoparticles. *Soft Matter.* 2013; 9(20):4969-4976.
65. Moghadam BY, Hou WC, Corredor C, Westerhoff P, Posner JD. Role of nanoparticle surface functionality in the disruption of model cell membranes. *Langmuir.* 2012; 28(47):16318-16326.
66. Negoda A, Liu Y, Hou W-C, Corredor C, Moghadam BY, Musolf C, Li L, Walker W, Westerhoff P, Mason AJ, Duxbury P, Posner JD, Worden RM. Engineered nanomaterial interactions with bilayer lipid membranes: Screening platforms to assess nanoparticle toxicity. *Int J Biomed Nanosci Nanotechnol.* 2013 3(1/2):52-83.
67. Wu YL, Putcha N, Ng KW, Leong DT, Lim CT, Loo SCJ, Chen X. Biophysical responses upon the interaction of nanomaterials with cellular interfaces. *Acc Chem Res.* 2013; 46(3):782-791.
68. Andreozzi P, Martinelli C, Carney RP, Carney TM, Stellacci F. Erythrocyte incubation as a method for free-dye presence determination in fluorescently labeled nanoparticles. *Mol Pharmacol* 2013; 10(3):875-882.