

“CONACYT, desarrollando cultura de ciencia, tecnología, innovación y calidad”

FINANCIAMIENTO DE BECAS DE INVESTIGACIÓN (PRIMERA CONVOCATORIA)

Ensayo de Citotoxicidad de nanopartículas de Hidroxiapatita con *Artemia salina*

Facultad Politécnica - UNA

Prof. Magna Monteiro, D.Sc. – mmonteiro@pol.una.py

RESUMEN

La *Artemia salina* es un género animal cuyo estado criptobiótico (quistes) están disponibles comercialmente de manera continua, como fuente de alimento para peces y crustáceos en acuicultura. La larva de *Artemia salina* viene siendo utilizada en estudios toxicológicos y eco-toxicológicos como un método práctico y económico para la determinación de bioactividad de compuestos sintéticos y productos naturales. El Grupo de Biomateriales de la Facultad Politécnica tiene como una de sus líneas de investigación la producción de biocerámicas de fosfatos de calcio nanoestructurados, en especial la hidroxiapatita y el beta-fosfato de calcio, para aplicaciones médicas-odontológicas y medio ambiental. Esta estancia tuvo como objetivo, determinar el grado de toxicidad de la biocerámica de hidroxiapatita y de la cerámica bifásica de fosfato de calcio (beta-TCP), utilizando pruebas in vivo con crustáceos *Artemia salina* (*Artemia* spp.), en el Laboratorio de biomateriales y materiales cerámicos de la Facultad de Ingeniería Metalúrgica y Materiales de la Universidad Federal de Ceará. Las actividades realizadas en esta estancia fueron muy importantes y los aportes fueron más allá de lo esperado, además de la práctica del ensayo de citotoxicidad usando la *Artemia salina*, fue posible tomar conocimiento de otras técnicas ecológicamente amigables y de fácil desarrollo, que podemos aplicar a las líneas desarrolladas por nuestros. Por medio de los resultados obtenidos, fue posible comprobar que el método de la *Artemia salina* es viable para estudiar la toxicidad de las nanopartículas de hidroxiapatita y que también, se podrá aplicar a otras nanopartículas, de materiales cerámicos, poliméricos y metálicos. Además, se pudo comprobar que estas nanopartículas podrán ser utilizadas para aplicaciones en salud humana y animal, así como para aplicaciones en procesos de remediación medio ambiental. Con la comprobación de que el material preparado en nuestro laboratorio no es tóxico al ser humano. Se espera, a futuro, la posibilidad de desarrollar productos que sean aplicados para el beneficio de personas expuestas a contaminantes, tanto a nivel industrial como doméstica.

OBJETIVOS

Determinar el grado de biocompatibilidad y citotoxicidad de la biocerámica de hidroxiapatita/beta-fosfato de calcio (fosfato de calcio bifásico - FCB), utilizando pruebas in vivo con larvas de camarón *Artemia salina* (*Artemia* spp.), en el laboratorio de biomateriales y materiales avanzados de la Universidad Federal de Ceará, Brasil. Además de fortalecer los vínculos entre ambas instituciones y la posibilidad de creación de un convenio marco para el desarrollo en temas de interés mutuo, en área de biomateriales y cerámica avanzadas.

APORTES DE LA INVESTIGACIÓN

Los aportes de la estancia fueron más allá de lo esperado, además de la práctica del ensayo de citotoxicidad usando la *Artemia salina*, fue posible tomar conocimiento de otras técnicas ecológicamente amigables y de fácil desarrollo, que podemos aplicar a las líneas desarrolladas por nuestros. Fue posible realizar contacto con otros investigadores para la participación de proyectos conjuntos a futuro. Se pudo concretar una cooperación de cotutora de una tesis de doctorado de una alumna de la institución de destino, de modo a fortalecer el link entre ambas instituciones.

ACTIVIDADES REALIZADAS

1. Preparación del medio de ensayo de citotoxicidad, que consistió en 3 litros de agua de mar artificial con concentraciones electrolíticas controladas, que fue usada para la eclosión de los huevos de *Artemia salina*, bajo condiciones estrictamente controladas de temperatura, salinidad, aireación e iluminación, metodología desarrollada por el laboratorio de biomateriales de la Universidad Federal de Ceará;

2. Realización de las pruebas con las *Artemia salina*, fueron realizados dos lotes de experimentos, uno con las *Artemia* en la etapa de nauplio 1 (tiempos de 24 y 48 horas) y otra en nauplio 2 (tiempos 24 y 48 horas) y dos muestras de control positivo (con dicromato de potasio, en el cual todas las muestras mueren) y negativo, donde teóricamente todos deben sobrevivir), todos los experimentos fueron realizados por triplicado, en total fueron testeadas 30 muestras y 6 controles. Cabe resaltar que la eclosión de los huevos se da pasado las 24 horas, luego, se da inicio a los experimentos. 3. Contabilizar el grado de mortandad de la *Artemia* fueron realizadas bajo lupa estereoscópica, en los tiempos de 24 y 48 horas de contacto con la solución de hidroxiapatita. 4. Caracterización de la estructura corpórea de las *Artemia* fue realizada bajo microscopia óptica. Luego de esta caracterización, las muestras fueron depositadas en la central analítica para las observaciones al microscopio electrónico de barrido. Los asociados se comprometieron a enviar los resultados dentro de 60 días. 5. Actividades post estancia: elaboración del artículo científico, que se encuentra en proceso con los resultados previos a la estancia y con los de las muestras que fueron enviadas a los asociados de Rio de Janeiro.



(a)



(b)

Figura 1. (a) Sal para preparación de la solución salina sintética. (b) Preparación del experimento para la eclosión de los huevos de la *Artemia salina*.

RESULTADOS OBTENIDOS

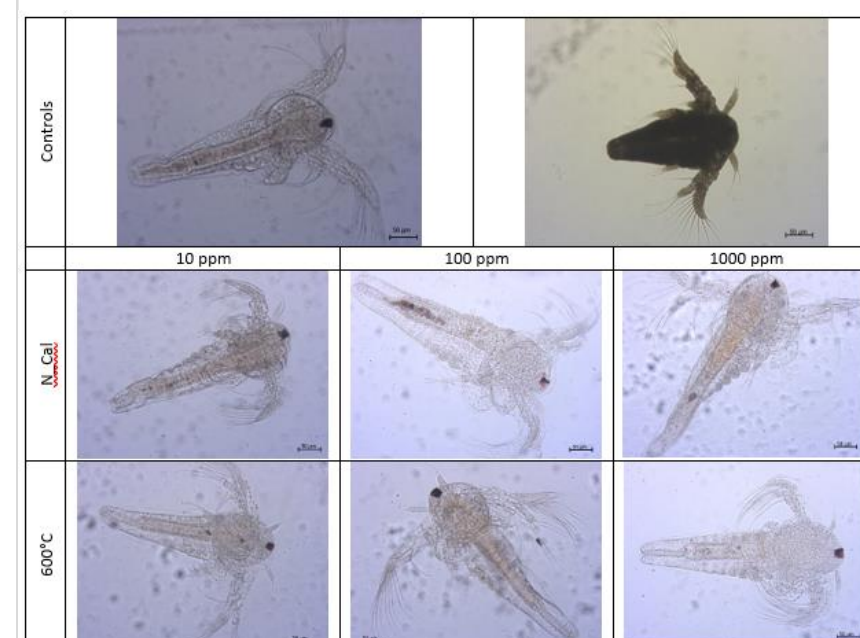


Figura 2 – Resultados parciales de las observaciones por microscopia óptica. *Artemia salina* en soluciones controles y medio de nanopartículas de Hap.

Tabla 1 – Modelo de planilla para reportar los números de muertes.

pruebas	Controles		NOMBRE DE LA MUESTRA (ppm) ¹		
	Positivo ²	Negativo ³	10	100	1000
Triplicado – 1					
Triplicado – 2					
Triplicado – 3					
Total de muertes					
Promedio					
Desvío					

1. Las columnas “NOMBRE DE LA MUESTRA” se incluye de acuerdo a las cantidades de muestras a ser ensayadas;

2. El pozo positivo resulta en 100% de muertes;

3. El pozo negativo dependerá de la resistencia de las *Artemias*.

Figura 3 – Planilla modelo de registro de datos de los ensayos con *Artemia salina*.

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos fue posible comprobar que el método de la *Artemia salina* es viable para estudiar la toxicidad de las nanopartículas de hidroxiapatita. Además, se pudo comprobar que estas nanopartículas podrán ser utilizadas para aplicaciones en salud humana y animal, así como para aplicaciones en procesos de remediación medio ambiental.

VISIÓN Y PLANES FUTUROS

Así como lo esperado, con esta estancia fue posible comprobar que el material preparado en nuestro laboratorio no es tóxico al ser humano. Con esto, se espera, desarrollar productos que sean aplicados para el beneficio de personas expuestas a contaminantes, tanto a nivel industrial como doméstica.