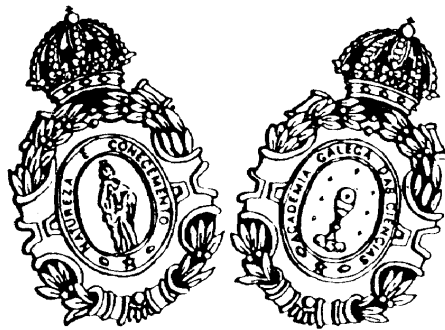


ISSN - 1135 - 5417

REVISTA REAL ACADEMIA GALEGA DE CIENCIAS

VOLUMEN XXXV



SANTIAGO DE COMPOSTELA

2016

Revista Real Academia Galega de Ciencias

COMITE EDITORIAL

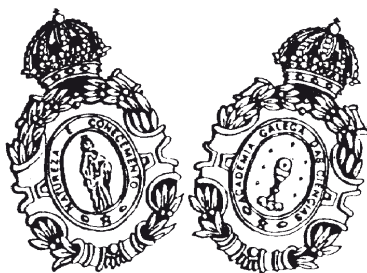
- D.F. ROBERTS. Dept. of Human Genetics. University. New Castle upon Tine.
- CHARLES SUSANNE. Vrije Universiteit Brussel. Bélgica.
- F. FRAGA. Instituto Investigaciones Marinas. Vigo.
- LIEVEN VANHECKE. Katholieke Universiteit Leuven.
- R. SALEMA. Centro de Citología Experimental. Universidade do Porto.
- JOCHEN KLEINSCHMIT. Niedersächsische Forstliche Versuchsanstalt, Escherode.
- F. NORONHA. Centro de Geologia. Universidade do Porto.
- M^a P. FERNÁNDEZ OTERO. Dpto. Fisiología Animal. Universidad de Navarra.
- R. TOJO SIERRA. Dept. de Pediatría. Facultad de Medicina. Santiago.
- ANDRÉ LEGUEBE. Institut Royal des Sciences Natureles de Belgique.

COMITE DE REDACCIÓN

- DR. TITO ANTONIO VARELA LÓPEZ
- DR. LUIS CORDERO REGO
- DR. ANTONIO BALLESTER ÁLVAREZ-PARDIÑAS
- DR. MIGUEL Á. RÍOS FERNÁNDEZ

R E V I S T A
REAL
ACADEMIA GALEGA DE CIENCIAS

VOLUMEN XXXV



SANTIAGO DE COMPOSTELA

2016

Real Academia Galega de Ciencias
<http://www.ragc.gal>
ragciencias@ragc.gal

ISSN - 1135 - 5417

© REAL ACADEMIA GALEGA DE CIENCIAS

Imprime: Graficolor Minerva, S.L.U.

Polígono Industrial do Tambre - Gutenberg, 5 - SANTIAGO, 2016

DEPÓSITO LEGAL: C - 277 / 84

Subvencionada por:

Fundación Barrié



XUNTA DE GALICIA
CONSELLERÍA DE ECONOMÍA,
EMPREGO E INDUSTRIA

ÍNDICE

Pág.

Influence of techno-science on society from a hermeneutic perspective,
Francisco José Francisco-Carrera, Anabel Paramá, Isabel Caballero, Juan R. Coca. 5

**Novos apuntamentos para a biografía de José Rodríguez González, o
matemático do Bermés,** Iván Fernández Pérez. 19

Galvanic replacement reactions in transition metal oxide nanoparticles,
Miguel Alexandre Ramos Docampo, Verónica Salgueiriños Maceira. 31

**Efectos celulares y moleculares de nanopartículas de magnetita en células
neuronales humanas,** Natalia Fernández-Bertólez, Gözde Kiliç, Carla Costa,
Fátima Brandao, Eduardo Pásaro, João Paulo Teixeira, Blanca Laffon,
Vanessa Valdíglesias. 65

Vida da Real Academia Galega de Ciencias

Memoria das actividades 107

Cursos de conferencias 108

Día da Ciencia en Galicia 2016 112

Premios Transferencia de Tecnoloxía 115

Premios Investigación 118

Incorporación de novos Académicos 119

Convenios..... 120

Composición da Real Academia 127

Instrucións para os autores 134

INFLUENCE OF TECHNO-SCIENCE ON SOCIETY FROM A HERMENEUTIC PERSPECTIVE

¹Francisco José Francisco-Carrera, ²Anabel Paramá, ²Isabel Caballero,
³Juan R. Coca

*GIR. Trans-Real Lab, Universidad de Valladolid,
Campus Duques de Soria, 42004, Soria, Spain*

*¹Departamento de Didáctica de la Lengua y la Literatura, ²Departamento de Didáctica de
las Ciencias Experimentales, Sociales y de la Matemática, ³Departamento de Sociología y
Trabajo Social*

*E-mail: franjose@dyl.uva.es, anabelparama@gmail.com, isabelcaballero@dce.uva.es,
juancoca@soc.uva.es*

Abstract

This article deals with the concept of progress, its development throughout recent history and how it can modify our perceptions by providing new guidelines to understand the world around us, especially once we are devoted to design a theoretical and scientific framework to discuss the idea of globalization. Moreover, a proposal to take a closer look to the concept of progress from the field known as Analogic Hermeneutics is presented, trying to overcome the love or hate dichotomy that the concept of progress usually arises when considered by different sectors of the academic world.

Keywords: Progress, techno-science, Analogic Hermeneutics, globalization.

Resumen

Este artículo se ocupa del concepto de progreso, su desarrollo a lo largo de la historia reciente y cómo puede modificar nuestras percepciones dándonos nuevas líneas de trabajo para entender el mundo a nuestro alrededor, especialmente al querer diseñar una estructura científica y teórica desde la que discutir la idea de globalización. Además nos proponemos ver con deteni-

miento el concepto de progreso desde el campo conocido como Hermenéutica Analógica, intentando así superar la dicotomía amor-odio que el concepto de progreso a veces produce cuando es considerado desde diferentes sectores del mundo académico.

Palabras clave: Progreso, tecno-ciencia, Hermenéutica Analógica, globalización.

1. Introduction

Throughout our most recent history, a phenomenon has been happening which can be related to the increasing economic and social interrelation in human-kind. This process has been properly referred to as globalization, having, in its origin, a strong economical significance, as such it is generally linked to the world-wide expansion of the market economy. Thus, this idea is closely related to the capacity of universality always expected to be derived from a capitalist view of the world. However, in spite of the obvious existence of this initial link, it cannot be followed that globalization should be considered either a reality or a merely economical concept (Altarejos et al. 2007). As a matter of fact, the idea of globalization as a lineal phenomenon, even though it could be understood to be false – as stated by de Sousa Santos (2006)-, is nowadays usually acknowledged. In this sense, one of the most generally accepted considerations about this concept of globalization has been declared by Stutz and de Souza (1998), who show that the globalization makes reference to a process of amplification which represents how both the world and the economic systems are structured. From this idea it becomes clear that we could reach a more integrated and independent society.

Stutz and de Souza's perspective gets significantly closer to the description of progress that is becoming apparent in our reality, although it maintains a certain degree of linearity as de Sousa Santos (2006) has pointed out. At the same time, it should be added that, as Moore et al. (2011) do, rather than a “flat” globalization process, what has been happening since World War II (although Hirst and Thompson (1999) consider that the first steps towards globalization were given just after World War I) is a more complex phenomenon that may be termed *neoliberal globalization*. This conspicuous process is neither static nor homogeneous and make possible, from the early 30s and up to the 60s, social-liberalism as a dominating force; in fact, it was not until the 1970s and the 1980s that the economical policies related to liberalism would definitely have a significant expansion and effect (Moore et al. 2011).

Tehrani and Ogden (1998), in a way, reveal as well this idea by stating that we are experiencing an increase in the number of scholars that have spe-

culated about the new structures which are rising up in the emergency of a global economy under the signature of this ‘post-industrial society’, ‘economy and society of information’, ‘post-fordian flexible accumulation’, ‘disorganized capitalism’, etc. However, Tehranian and Ogden broaden this vision towards the social and cultural environments by using words such as ‘community democracy’, ‘post-modernity’, etc. As a matter of fact, after analyzing the discourse developed about the world which is bound to come, the authors have established the existence of three major discursive transformative scenarios.

In the first significant scenario, Tehranian and Ogden (1988) include Kissinger, Waltz, Fukuyama, Barnett and Cavanagh and Fawcett and Hurrell. In this context of continuity, the future of the world system is meant to be accounted for by the adaptation to the new international circumstances of the categories and the geopolitical logic of the realist school of international affairs. The aforementioned realist school, as İşiksal (2004) or Feng and Ruizhuang (2006) has shown, presents the characteristics of a normative theory with a practical orientation which justifies the hegemonic policy of the USA. Additionally, this trend rejects any sense of harmony in international affairs, since all the States are in a constant motion to increase their sense of power, therefore any possible moral principle within an abstract realm of ideas could not be put into practice as a concrete political action, and this is so because of the true nature of these characteristics in international relations.

The second macro scenario was exposed by Tehranian and Ogden (1998) and characterized by a discourse about the so-called collapse scenarios. Here, we find Attali, Huntington and Kaplan, and a sense of euphoria is presented as a common feature derived from the end of the Cold War and a fast-increasing sense of alarm due to a clear lack of responsibility as far as the human needs of the species go; this is evident when we observe both the force of the global capital and the fast-growing industrialization that pervades our societies. In this scenario the idea of a catastrophe or a (*quasi*) eschatological consideration of the human future is a recurrent feature. This absence of preoccupation as far as the human needs are concerned, has brought along, for some of the authors in this scenario, a process of protest from the peripheral or semi-peripheral population against the power centers. Thus, the authors of this context consider plausible an ever-increasing potential risk of violence.

The third scenario to be discussed here is the one concerning the “transformation scenarios”. Here we find the Anarchists, the Libertarians, the Marxists, Tinbergen and Tehranian himself, among many others. This notorious global event is based on the idea of a fundamental transformation of the international system. Put other words, this group stands for a deep metamorphosis of the international context, theorized from a more normative and optimistic

perspective than the others. The change expectations are backed up by a policy reformation, not forgetting as well to consider a revision of the strategies, the economy, the culture and, finally, the ecological conditions. In this environment, along with those other realms placed outside the scholar scope, we may find the Spanish social movement of “los indignados” (the outraged), so relevant these days internationally.

Hence, we may therefore declare that to talk about globalization and the consequences it creates in the new world means to make a clear reference to communication, social and personal relations, the new structures of power, as well as many of the most conspicuous changes within a very diverse array of fields (demographic, technological, political, social, cultural, religious, etc). (de Sousa Santos 2006).

Globalization, being as such both *immersed in* and *a basic part of* what Zygmunt Bauman has suggestively termed “liquid society”, becomes paradoxical and dangerous at the same time since it has turned into a sort of ideological and political movement. In this sense, as indicated by de Sousa Santos (2006), it has put forward a deterministic fallacy which consists in transforming the causes of globalization in its effects, putting forward the idea of the globalization as a spontaneous, automatic, inevitable and irreversible process. On the other hand, another fallacy has been gaining ground: that of the disappearance of the South, this of course implies that there is no difference between North and South, or among centre, periphery and semi-periphery in the world system.

This misleading discourse implies, up to a certain extent, the vanishing of the process of “situatedness” and the lost of identity within this big macro-sociologic frame that globalization has become these days. It is worthy of note to remember that the concept of “place” makes reference to this particular space (geographical, social and cultural) we identify with and which allows us to create and recreate the feeling of “being at home”. As such, this “situatedness” is countered, then, with those processes derived from globalization itself, processes which tend to erase the singularity of both places and people alike, or to increase the value of equality as opposed to diversity and, by so doing, “getting rid of” those peculiarities of the vernacular in local territories (González Cruz 2004). Therefore, it seems that globalization and its fallacies, those ones Santos referred to, show as well a certain kind of connection with what García Canclini (2006) has defined as stimulated subjects.

This new conception of the people as stimulated beings has a lot to do with the present techno-scientific developments, since the most radical deconstruction of the subjectivity, in García Canclini’s point of view, is being undertaken by socio-communicative and genetic procedures that boost up the stimulations mentioned above. In this sense, we have to bear in mind issues

such as robotics, cloning, trans-sexuality or the fictionalizations of personality in video games, in such a way that the real meaning of being a person is facing the *maelstrom* of the techno-scientific and globalizing dissolution (García Canclini 2006). This new configuration of the human-kind must be related, it should be fairly obvious by now, to our scientific and technological progress.

2. The scientific-technological or techno-scientific progress.

Throughout history, the concept of progress has undergone a great deal of transformations. As a matter of fact, until half-way through the XVIII century it was considered as a sort of accumulation of truths. However, from the XVII century onwards a new conception started to take shape. This new conception was based on the consideration of progress as the search for truth. This tradition has made it into the XX century, where different philosophers and thinkers have advocated the concept of progress as the search for truth. One of the most outstanding names is of course that of Popper, who in *Objective Knowledge*, declared that our preoccupation as far as science and philosophy were concerned should, of course, be the search for truth (Popper 1972). Do bear in mind, of course, that scientists develop and evaluate fallible hypotheses that must be tested in the framework of a particular theory. Some of these hypotheses will be therefore fallible and thus it follows that new ones should be developed which will be of course subjected to new tests and trials. Therefore, it will never be possible to state categorically that a certain theory is completely true or false, the point is that it does not really matter how long this theory has managed to be of value after being put to test by the different tools of the scientific community. However, it is obvious that some theories and not others will be able to keep their validity as long as they have the capacity to overcome the fallibility tests to which they will be exposed to over and over again. As a matter of fact, science, according to this thinker, is an insatiable search, since the approach towards truth is asymptotic, and therefore we will always be in a never-ending search for this “true truth”.

Besides Popper, many other authors, such as Lakatos, Bunge, Van Fraassen, etc. have considered as well, in one or another way, that science is the search for truth. However, it seems that nowadays this conception of the techno-scientific progress has fallen out of grace and not many voices are heard declaring that science is the search for truth. Therefore, other scientific conceptions about progress have emerged, some of them proclaiming that progress is based on what has been termed as problem resolution procedures. This premise is backed up by authors such as Kuhn, in *The Structure of Scientific Revolutions*, and Laudan, in *El progreso y sus problemas*. In this sense

Kuhn affirms that the later scientific theories are better than the previously stated to solve problems (Kuhn 1970). On the other hand, Laudan (1986) says that his conception of progress implies preferring that theory that gets closer to solving the greatest number of empiric important problems (Laudan, 1986). Laudan is therefore aware of the fact that the coexistence of rival theories is by no means an exceptional phenomenon, rather the contrary as a matter of fact. The usual way for the scientific progress to behave implies a fundamental cohabitation of diverse rival theories. Thus, the true development of science is closer to the coexistence of rivals and to the permanent presence of the conceptual debate than to the idea of normal science stated by Khun (Laudan 1986). Moreover, Laudan declares that the task of specifying the objects of science is something merely academic and that the characterization of the scientific development in terms of transcendental features such as truth or apodictic certainty makes science to become something non-progressive. From here it must follow the fact that Laudan finally assumes that only by fixing attainable goals for science can we keep hope in backing up truly the progressive character of science (Laudan 1986).

Another important author who has been working in this issue is Niiniluoto (1984) for whom there are two different types of progress: the *progress as accumulation* (the basic idea of this conception implies that the scientific knowledge grows by a permanent accumulation of information) and the *progress as approximation to the truth* (this way of understanding progress is founded on the belief that scientific knowledge is always correctible, subjected to a permanent revision and, potentially, false).

These two conceptions of scientific progress are overcome by the following idea: progress is based on an increase of verisimilitude. For Niiniluoto, the aim of science must be structured upon the belief of knowing the unknown, and our real progress depends on our distance to that aim (Niiniluoto 1987). However, the Finnish author is aware of the fact that truth is a goal never to be achieved, but we may know if we are getting any closer to it with our theoretical frameworks. As a matter of fact, he states that science progresses by achieving information which is closer and closer to what is consider to be the truth (Niiniluoto 1987).

This proposal, progress as an increasing of verisimilitude is, from our point of view, extremely thought-provoking, but it lays out the problem of incorporating the social perception as a limiting element in the aforementioned process of verisimilitude. Therefore, the conception of progress as resolution of problems and not as a means to get closer to the truth, or as an increasing of the verisimilitude, seems to match rather well our real world, since the concept of truth always becomes a kind of problematic term to refer to in the social sciences and, especially, in the case of sociology. This is due to the

fact that, the assumption of the existence of a unique truth towards which we are moving epistemically lays down the scientific development as something rather static.

From a historical perspective, Bird (2007) has proved that there are three different approaches when dealing with the issue of the progress and, more specifically, when we want to characterize scientific advances; namely: (i) the epistemic approach, (ii) the semantic approach, (iii) the functional-internalist approach. For Bird, the epistemic approach implies to be able to develop that kind of knowledge about progress we need to understand its true nature. The semantic approach, secondly, sets truth (or rather, verisimilitude) as the central element in the definition of progress. And, last but not least, the functional-internalist approach argues that the advance that is achieved when a scientific development is successful is so if this plays a specific role (for instance, the resolution of a scientific problem). Of course, the function must be understood in such a way that the scientific agents are in a certain position to judge if the function has been validated or not.

There again, and as well from a historical perspective, Böhme (1990) considers that it is possible to state that the emergency of the concept of progress is due to the following factors: 1) the modern idea according to which progress implies a never-ending horizon; 2) the fact that progress does not imply the approximation to a well-known ideal of “completeness”, but rather it finds its measure in the present *status quo*; 3) the belief in progress itself putting forward some increasing value of what presently is; 4) the idea of progress becoming a historical principle and 5) the craftsmanship and technology, as well as the ensuing sciences, taking an essential place as far as the constitution of the progress of modernity is concerned.

The foundations of Bird and Böhme are coincidental, in a way, although to our better judgment, the statements put forward by Böhme are of a broader scope, since the author puts a huge emphasis in the socio-historic element; something that Bird seems to ignore. However, it is necessary to make clear that Böhme (1990) refers to the modernity and we may come to think that, in the postmodernity, the situation has been modified. But that is not really the case. The present reality shows us that the concept of progress, emerged from the modernity, manages to keep the same features. As a matter of fact, Agazzi (2011), in reference to the development of the techno-scientific system, says that the present process of globalization becomes the tool for the systemic elements to be generalized, in such a way that it seems to have been an unstoppable globalizing determinism that may bring about with it a concept of progress somehow different, although in essence it would keep its incompleteness, its non-finalization, its historicity and its scientific or, if one prefers, techno-scientific conditioning. Before proceeding we may briefly pause to

make clear that this unavoidable sense inherent in the globalization processes forces us to talk about it whenever progress is mentioned. Thus, in reference to the techno-scientific conditioning of globalization we may see that Dreher et al. (2010) declare that the technological innovation (and, in our words, the technological progress as well) is the machine that makes globalization work. However, and according to the essence of the progress, Agazzi has offered a beautifully thought-provoking turn of the screw by proposing that “the progress is not something to believe in, but something in which you can and must have hope for” (Agazzi, 1996). To this, he goes further by adding that having hopes means, especially, to bear in mind that final state which is considered to be good, desirable and valid. Our compromise for a better future has all the characteristics of a hope (Agazzi, 1996).

We are right in the middle of a context quite difficult to be measured and limited by a quantitative analysis: that of the imaginaries and volition. It logically follows that one of the options naturally relevant to apprehend the imaginary and the human volitions is hermeneutics. It must be remembered that hermeneutics can be understood as the art of interpretation. This interpretative process is based on the establishment and delimitation of a *text* (the idea of progress) that will be developed by a particular *author* (the scientific-technological system), this text will be “read” by a *reader* (society in general). In this reading, it will be usually understood that the scientific-technological progress is, without further enquiries, positive, since it makes life for the society easier (meaning “more comfortable”) and, besides, it gives answers and solutions for a great deal of problems. The issue here is, of course, much more complex than a first reading could give away. Let’s try to state it clearly. The problem that poses this interpretation, understood from a reductionist perspective and not as Agazzi does (1996), comes from an element of notorious simplification of the concept we are dealing with (Rescher, 1999); this is due to the fact of making more complex the phenomenon of comprehension of the scientific-technological innovations. As a matter of fact, the technological progress makes life a much more complex process since it multiplies both elections and opportunities (Rescher, 1999). However, the sociological concept of progress is reduced to a consideration of the implementation and development of those vital elements that the collective imaginary assumes as positive.

That is why the development of hermeneutic matrix is a necessary condition to allow for the study and research of the progress. In so doing we will be able to analyze those results achieved after having reached the goals offered by the description and interpretation of a particular phenomenon, as well as to evaluate the elections, opportunities and risks it generates. The application of the above mentioned matrix, as it is obvious and taking Niiniluoto (1984)

as the essential theoretical reference here, will depend on the degree of verisimilitude that it gets, and it will imply the establishment of hermeneutical elements that entail regularities (past facts, *postdiction*, o future facts, *prediction*) and that can explain the phenomena that are brought about. These hermeneutic elements demand that all scientific activity be considered as a potentially interpretable text. In such a way the scientific activity we may call *A* will generate a series of positive elements we will term *p*, being the negative elements called *n*. Additionally, there is a certain type of potentially positive (pp) and negative (pn) elements that we must detect to be able to elaborate the hermeneutic analysis of this progress. Do bear in mind here that *p* and *n* are postdictive elements and *pp* and *pn* are predictive. In such a way we would be able to establish a hermeneutic matrix that will allow us to rationalize our scientific activity.

As it is obvious, the knowledge that gives foundation to our postdictions is clear, whereas the one which allows us to establish the predictions presents a certain degree of diffusivity. However, Niiniluoto (2001) gives a solution to this problem considering that this postdictions are the *evidences* we may use in our historical studies, but, also, they are as well indispensable in our studies about the future (predictions) (Niiniluoto 2001). The objects of future studies can be conceived as a tree with long branches structured in a densely laid out pattern. By so doing, our researcher shows us how the future remains open. Therefore, the studies about the future must (i) constitute possible future alternatives and, thus, be of a realistic nature, (ii) establish the probability of future alternatives and (iii) evaluate the preference or the desire of the future alternatives (Niiniluoto 2001).

Following Pohl (2011) in a way, we can consider that the interpretation of the progress requires a transdisciplinary approach that will consist in the comprehension of the complexity of the analyzed topic, in the analysis of the different perspectives about the topic, in the increasing of the abstract knowledge and the one about case-study knowledge, and finally the oriented approximation, normative and directed to the *praxis*. Therefore, Pohl states that it is highly needed the participation of the representatives of the different disciplines of knowledge, the public opinion, the private sector and the collaboration of the civil society throughout its representatives.

The aforementioned interpretations of progress (based on postdictions and predictions) leads to suppose the comprehension of the contingent reality of the present, the contingent reality of the past and the contingent reality of the future. By which it is needed to observe and conceptualize the present, remember and interpret the past and conceive and evaluate the future (Malaska 2001).

This conception of the scientific progress is both more democratic and participative and it may bring about the minimization of the damaging effects of the globalization we have been discussing from the beginning of the text.

3. Globalization and techno-scientific progress

The applied techno-science is the part of the techno-scientific system that shows a bigger predictive component. Of course, this does not mean that the basic techno-science does not present a predictive component as well. What happens here is that the techno-scientific artifacts with the biggest immediate applicability do allow us to foresee more easily the social consequences derived from its use. Furthermore, both techno-sciences have an important element of design that makes them become processes, so to speak, with a clear and relatively automatic drive.

This idea of the automatism of the techno-scientific progress makes necessary the socio-political control of the scientific-technological progress, this is to avoid the fact of the neoliberal globalization developing a techno-scientific activity lacking any kind of humanistic values and views. Bear in mind here that, under the neo-liberalism, economy has been characterized by free market policies; this fact presents an internal logic and it obviously generates its own set of rules which operate outside of the human direction (Moore et al. 2011). As a matter of fact, “the intensification and expansion of scientization is broadly evident in the global knowledge economy, where firms and governments increasingly rely on science and technology to achieve, maintain, and strengthen their competitive positions” (Moore et al. 2011).

Put other words, the diverse techno-scientific advances that are being produced are expected to be correctly managed and evaluated, by so doing we are trying to avoid a dangerous drifting off the humanistic route that may be found in the globalization process. Moreover, we are already the spectators of a kind of marketing of the techno-scientific knowledge which forces those regions with a weak economical potential to be in the periphery of the techno-scientific system. This fact sets the ground for the techno-scientific materialization of the *fallacy of the disappearance of the South*, in which academic institutions reject or underestimate the research stays and Fellowships, research projects, etc. which are undertaken in collaboration with the South; of course that is the case when the research does not imply the techno-scientific neo-colonization of the *target* country. According to this, de Sousa Santos (2006) declares that the globalization presupposes the localization in the most powerful regions. That is why the techno-scientific researchers are currently looking for undertaking their academic careers in the centre of the globalized techno-scientific system. In this way the techno-scientific globalization res-

tricts the taking of decisions to the interconnection among the international agents of the world-wide techno-scientific system located right in the centre of the already mentioned system.

With respect to the development of the globalization, understood from a general perspective, de Sousa Santos (2006) affirms that a second way of producing the globalization named *insurgent cosmopolitanism* is being created. This consists in the generation of a transnationally organized resistance concerned in taking to the front the inequities produced or intensified by the globalization itself.

This “revolutionary” process allows us to have a clear view about the fact that the globalizing process, and its resulting consequences for the techno-scientific progress, may assume the possibility of a phenomenon which may create a new insurgent cosmopolis. In it the hermeneutics of the possible breaks up with the determinism of the imposed reality. As a matter of fact, this insurgence rejects the supposed deterministic objectivity of the globalization assuming a relativist unconditioned subjectivity. This affirmation may be backed up using the arguments exposed within the insurgent movements. In this sense, the 15M Movement (Movimiento 15M 2011) states in its manifesto that: “the priorities of every advanced society must be equality, progress, solidarity, open access to culture, ecological sustainability and development, the welfare and happiness of people”. Ecologists in action expose in a hyper-brief text entitled *Los mitos del progreso técnico* some poignant views, for instance it is said that: “Progress is without the shadow of a doubt a reality, especially when describing this evolution, but it is also an ideology, that is to say, a set of opinions and beliefs more or less stable, most of them unconscious, which have an influence on our behaviors” (Ecologistas en acción 2008).

The above mentioned statements show us that the ideal of progress is still assumed by the *alter-world* movements, but it involves a reclaiming for new conceptualizations of the term. This insurgence conceives a progress always in search for the epistemic equity. Put other words, the conventional techno-scientific progress has, from this perspective, a clear ethnocentric drive that is implied in the consideration of that which does not belong to the Western frame of thought as pre-scientific, mythic and pre-rational.

4. Conclusion: Towards an Analogical Hermeneutics of Progress.

If we suppose that we are designing the future and, hence, we come to think in our progress in general and in our techno-scientific progress in particular, it seems compulsory to interpret the corresponding rules of a future situation we may term *B*. However this is not as simple as it may seem to be. Starting from a given situation (let’s call this *A*), many different possible *B*-situations

may emerge, this implies the “ontological assumption that future exists as alternative, futures instead of the future, is commonly accepted among futurists” (Malaska 2001). As a matter of fact, the *B*-goal could be the realization of some kind of more desirable future state or even the avoidance of some undesired threat. The problem springs forth when the election of *B* can detonate a political, social or economical controversy in the initial *A*-State. Facing this possibility we have two general options according to Niiniluoto (2001): reaching for the consecution of some *conservative* (as in the preservation of the *status quo*) or *emancipating* (as in a radical change or a new alternative tendency) aims. Be aware of the fact that, for a non-conservative goal, there is no action *X* to be evaluated other than the elaboration of a hermeneutics of the future. If finally the utopia is preferred, as has been the case as far as the alter-world Spanish movements are concerned in recent times, the recommended actions in the set referred to as $X = \{X_1, X_2, \dots, X_n\}$ (related to *A* and *B*) become the necessary means to express the achievement of the desired goals. The consequences are, thus, constituted by the creation of alternative scenarios for the future (Niiniluoto 2001).

In occasions, the excess of subjectivism produced by the hypertrophy of the utopia brings about a destruction of the movement itself or a kind of social blindness carried out by the fact of struggling quite seriously against some of the basic principles which regulate the life of a society. This can be observed, for instance, in the general rejection that Spain has experienced in recent times against the use of biofuels or the implantation of the electric car.

Having all this in mind, our final proposal relies on undertaking an analogic hermeneutics of the techno-scientific progress. What we mean by that is very clear, we are in for an interpretation covering both ends, the objective and subjective, of information and by so doing creating a never-ending dialogue between both sides. Put other words, and following in a way Niiniluoto (2001) or Malaska (2001) among others, it seems compulsory for us to be based on the information we already have in the present in order to figure out possible futures we may encounter and, therefore, choose from this array of futures some concrete realization of one of them (of course, this supposes the adoption of a clear criterion as far as decisions are concerned, but we shall not give this consideration much thought in the present pages). Besides having as one of our main sources of research objective information, it is as well important to introduce some degree of subjectivity in the process. This implies the increase of creativity and the development of the imagination in the hermeneutic process, but of course this drive presents its own set of risks, since it definitely can produce a sense of illusion than will never be materialized into the world of shapes and matter. We are aware of the fact that this idea poses serious problems in order to be incorporated within the techno-

scientific system, but it could be viable as long as the political system assumes the high importance of these elements generating, then, suitable criteria for encouraging the already mentioned creativity. These days, the main criterion used is that of the innovation, which is of course relevant but can be as well a bit unsatisfactory since, most of the times, it is of a rather conservative nature.

It is necessary, then, to have some well-determined goals, from a relatively realistic perspective and, hence, some relatively utopian goals as well (for a utopian goal there shall be no evaluable X-action) in order to impose a limit to the possibility of our hermeneutics of the techno-scientific progress. Having reached this point in our discourse, we would like to add that our work on the hermeneutics of the techno-scientific progress does not end here, in fact our working team is at the moment developing new research lines in the field with every intention of implementing a more concrete and systematical proposal to back up even further the present pages.

References

- Agazzi E (1996) El bien, el mal y la ciencia. Las dimensiones éticas de la empresa científico-tecnológica. Tecnos, Madrid
- Agazzi E (2011) La ciencia y el alma de occidente. Tecnos, Madrid
- Altarejos F, Rodríguez A, Fontrodona J (2007) Retos educativos de la globalización. Hacia una sociedad solidaria. Pamplona, Eunsa
- Bird A (2007) What Is Scientific Progress? *NOÛS* 41: 64-89
- Böhme, G. (1990): An end to progress? *Science studies* 1: 37-45
- Bunge, M. (1966): Technology as Applied Science. *Technology and Culture* 7: 329-349
- de Sousa Santos, B (2006) Globalizations. *Theory, culture and society* 23: 393-399
- Dreher A, Gaston N, Martens P (2010) Measuring Globalisation. Gauging its Consequences. Springer, New York
- Ecologistas en acción (2008) Los mitos del progreso técnico, Ecologistas en Acción, Barcelona
- Accesible en: <http://ecowiki.ecologistasenaccion.org/images/a/a2/Broch-progres-ESP-081021-A5livret.pdf> Acceso: 10 de Octubre de 2012
- Feng L, Ruizhuang Z (2006) The Typologies of Realism. *The Chinese Journal of International Politics* 1:109-134
- García Canclini N (2006) Diferentes, desiguales y desconectados. Mapas de la interculturalidad. Barcelona, Gedisa.
- González Cruz F (2004) Lugarización, globalización y gestión local. *Documentación social* 133: 11-30
- Hirst P, Thompson G (1999) Globalization in question: The international economy and the possibilities of governance. Malden: Blackwell/Oxford.
- İşiksal H (2004) To What Extend Complex Interdependence Theorists Challenge to Structural Realist School of International Relations? *Alternatives. Turkish Journal of International Relations* 3: 130-156.
- Kuhn TS (1970) The Structure of Scientific Revolutions. Ed. Chicago University Press, Chicago.
- Laudan L (1986) El progreso y sus problemas. Ed. Encuentro, Madrid
- Malaska P (2001) A futures research outline of a post-modern idea of progress. *Futures* 33: 225-243
- Movimiento 15 M (2011) Manifiesto Movimiento 15M - ¡Democracia real ya!. ¡Democracia Real YA!. Acceso: <http://movimiento15m.org/manifiesto-movimiento-15m-%C2%A1democracia-real-ya/> Acceso: 10 de Octubre de 2012

- Moore K, Kleinman DL, Hess D, Frickel S (2011) Science and neoliberal globalization: a political sociological approach. *Theory & Society* 40: 505-532
- Niiniluoto I (1984) *Is Science Progressive?* Riedel, Dordrecht.
- Niiniluoto I (1987) Progress, Realism, and Verisimilitude. En: Weingartner P, Schurz G (Eds.) *Logik, Wissenschaftstheorie und Erkenntnistheorie*. Verlag Hölder-Pichler-Tempsky, Vienna: 151-161.
- Niiniluoto I (2001) Futures studies: science or art?. *Futures* 33: 371-377
- Pohl C (2011) What is progress in transdisciplinary research?. *Futures* 43: 618-626
- Popper KR (1972) *Objective Knowledge*. Ed. Oxford University Press, London
- Rescher N (1999) *Razón y valores en la Era científico-tecnológica*. Paidós-ICE/UAB, Barcelona
- Stutz FP, de Souza AR (1998) *The World Economy. Resources, Location, Trade and Development*. Prentice Hall. New Jersey
- Tehrani M, Ogden M R (1998) Uncertain futures. *Changing paradigms and global communications*. *Futures* 30: 199-210

NOVOS APUNTAMENTOS PARA A BIOGRAFÍA DE JOSÉ RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, O MATEMÁTICO DO BERMÉS

Iván Fernández Pérez

*Observatorio Astronómico Ramón María Aller (OARMA), Universidade de Santiago de
Compostela, Avda. das Ciencias s/n. Campus Vida 15782, Santiago de Compostela
Correspondencia: ivan.fernandez@usc.es*

Resumo

A pesares dos diversos traballos publicados sobre a figura de José Rodríguez González, e tamén dos esforzos realizados nos últimos tempos a prol do recoñecemento deste persoeiro, aínda quedan aspectos inéditos por tratar e segue a ser necesario completar a súa biografía e reivindicar a repercusión histórica das achegas deste matemático galego do século XIX. Pretendemos neste artigo, contribuír con novos apuntamentos para unha pendente biografía completa, unha vez analizados polo miúdo documentos de arquivo existentes nas universidades de Santiago de Compostela e de Gotinga.

Dividiremos este traballo, en dúas partes. A primeira relacionámola coa obtención da cátedra de Matemáticas da Universidade de Santiago de Compostela, que serviulle de pulo para que anos máis tarde pasase a Francia para formarse cos mellores científicos da época e lle permitise participar na medición do arco meridiano e triangulación das Illas Baleares, o que lle deu sona internacional.

A segunda parte está en relación coa súa estadía en Alemaña, onde podemos confirmar a relación que tivo Rodríguez con Carl Friedrich Gauss, un dos matemáticos máis sobranceiros de todos os tempos.

Palabras chave: Carl Friedrich Gauss , José Rodríguez González, Universidade de Santiago de Compostela, Xeodesia século XIX.

Abstract

Despite the various works published on the figure of Jose Rodríguez-González as well as the efforts made in recent times concerning his recognition, much remains to be considered to complete his biography and vindicate the impact of the historical contributions of this Galician mathematician of the nineteenth century. We try to contribute new relevant notes once we have analyzed the file documents at the Universities of Santiago de Compostela and Göttingen.

The article is divided into two parts. The first one is related to get the position of Full Professor of Mathematics at the University of Santiago de Compostela, which later motivated him to move to France in order to train with the best scientists of that time. This allowed him to participate in the measurement of the meridian arc and the triangulation of the Balearic Islands, which made him internationally famous.

The second part is related to his stay in Germany where we can confirm the relationship that he had with Carl Friedrich Gauss, one of the most important mathematicians of all time.

Keywords: Carl Friedrich Gauss , Geodesy XIX century, José Rodríguez-González, University of Santiago de Compostela.

Rodríguez e a cátedra de Matemáticas da Universidade de Santiago de Compostela

Sobre este asunto, que tamén foi tratado por María Ángeles Varela en 1999, consérvase no arquivo histórico da Universidade de Santiago de Compostela o expediente para a provisión da cátedra de Matemáticas, vacante nesta, por ascenso de Luís Marcelino Pereira.

O expediente comeza cunha Orde do Real e Supremo Consejo de Castilla, asinada en Madrid o 18 de outubro de 1799. Neste documento, fálase das vicisitudes acontecidas coa substitución da cátedra dende 1792, en especial de distintos recursos formulados por Lucas Labrada e por Cristóbal Pecul, e ordénase que se provea dita cátedra por oposición, admitíndose a ela todos aqueles que se presenten sen necesidade de obstar grao académico algún, e que se nomeen xuíces da oposición sen distinción de facultades.

O Claustro da Universidade de Santiago de Compostela, celebrado o 8 de novembro de 1799, veu a Orden anteriormente citada, declarou vacante

a cátedra e acordou sacala a oposición seguindo as indicacións dadas polo Consejo de Castilla.

O catedrático debía impartir dúas horas pola mañá e unha hora e media pola tarde, e presidir, en cada curso, un acto maior de conclusións Pro Cathedra cun salario de 6 mil reais de vellón, baixo a pena de perder a terceira parte do salario do ano de non cumprir coas súas obrigas de docencia diaria.

Na Biblioteca Dixital de Galicia, atopamos unha destas conclusións, que transcribimos a continuación:

D. JOSEPHUS RODRIGUEZ GONZALEZ Pro-Moderator Mathematices hujus Universitatis, ex ejusque Discipulis D. Michael Maquieira, D. Dominicus Garcia, D. Joannes Filgueira, D. Joannes Stanislaus Rivera, et DD. Hieronymus, ac Jacobus Piñeyro y de las Casas, MELITENSIS ORDINIS, publicae offerunt demonstrationi sequentes duas Propositiones totam Trigonomerian planam amplectentes, quas idiomate latino, & hispano proponuntur, ut aliqui ex supra dictis latinum ignorantes quaesitis satisfacere queant.

1ª Datis tribus ex iis quae in quocumque triangulo considerantur, scilicet tria latera, et tres anguli, alia tria inveniemus, eorumque applicationem dabimus ad distancias, et altitudines objectorum ope grafometri determinandas.

2. Dabimus etiam formulas logaritmo-numericas trigonométrico-lineares naturales, et artificiales hyperbolicas sive tabulares, quorum ope summa cum facilitate tabulae usuales numericae, logaritmo-trigonometricae que formari valent.

1º Dadas seis de las tress cosas¹ que componen un triangulo qualquiera, a saber: lados, y angulos, hallar el valor de las otras tres; manifestando al mismo tiempo su aplicación en el manejo del grafómetro para la medida de las distancias y alturas.

2º Demostraremos también las formulas logaritmo-numericas, y las que dan los valores de las líneas trigonométricas en partes del radio igualmente que sus logaritmos hyperbolicos, ó tabulares, independientemente de dichos valores, por cuyo medio se pueden formar con grande facilidad las tablas comunes, asi de los números, como de los logaritmo-senos, cosenos, tangentes.
Die 30. Mensis Maij ann. 1799. Manè hora 8. Vesp.3.

¹ Nota do autor: Debería dicir “Dadas tres de las seis cosas...”

Seguindo cos documentos pertencentes ao expediente da cátedra, estes danos unha ollada sobre cómo eran as oposicións a cátedra naquela época, moi distintas a cómo son agora. Así, a oposición consistía nunha disertación por parte do opositor (dunha media hora) sobre un de tres teoremas de xeometría sacadas ao chou. Finalizada a disertación, sobre a demostración do teorema así como dos seus usos e aplicacións, os opositores tiñan que someterse (“sufrir” dise literalmente nos documentos) ás preguntas que lle formulaban o resto dos opositores (“contrincantes”) durante unha media hora, e despois durante unha hora e media sometíanse a un exame de carácter privado cos xuíces do concurso, de acordo coas Reais Ordes, Estatutos e Plan de Estudos da Universidade.

O Edicto pola que se convoca a cátedra de matemáticas a concurso está asinado o 8 de marzo de 1800 polo escribán Francisco Javier Gándara Espantoso, fixándose un prazo de 90 días para a presentación de candidaturas, que fixouse na porta principal da Universidade. Outros exemplares deste edicto foron enviados ás universidades de Salamanca, Valladolid, Alcalá, Oviedo e Sevilla, así como aos departamentos marítimos de Ferrol, Cádiz e Cartaxena.

Finalmente, as persoas que se presentaron á oposición foron Domingo José García Louzao, Joaquín Cordon Villadiego e José Rodríguez González, en cartas dirixidas ao Reitor con datas 24 de maio, 4 e 6 de xuño respectivamente.

O Claustro da Universidade de Santiago de Compostela, celebrado o 27 de maio de 1800, acordou que se nomeasen para xuíces do concurso “suxeitos de fóra do Claustro” e “instruídos de profesión nesa facultade” como por exemplo os catedráticos da Real Academia da Mariña de Ferrol. Acordouse (coa oposición dalgúns membros do Claustro) que o Reitor remitise un oficio ao Capitán Xeral do departamento de Ferrol que nomease este “tres suxeitos capaces e instruídos”, permitindo a estes o paso á cidade de Santiago para asistir ao concurso co abono dos seus honorarios por parte da Universidade.

Así, o Reitor da Universidade Manuel Barros Figueroa, en oficio asinado en Santiago a 1 de xuño de 1800, informa a Francisco Javier Melgarejo Rojas, Capitán Xeral do departamento de Ferrol, dos antecedentes da provisión da cátedra e lle solicita a elección e nomeamento entre os Mestres de matemáticas da Real Academia de Mariña dese departamento, aos xuíces que considere oportunos que poidan desempeñar ese encargo, permitíndolle que podan concorrer á cidade de Santiago.

En resposta a este oficio, asinado en Ferrol o 11 de xuño de 1800, indica que o primeiro e segundo mestre de matemáticas, Miguel de los Cuetos e Joaquín Espinosa, atópanse gravemente doentes, e o terceiro José Alonso López (Nobal) en comisión por Real Orde, polo que non lle permite atender a petición do Reitor en nome do Claustro.

O 24 de xuño de 1800, acúsase recibo do escrito anteriormente citado e o Reitor solicita que posibilite o nomeamento de José Alonso López e a outros “dous individuos” que contemple apropiados.

Así, en carta asinada en Ferrol a 28 de xuño de 1800, o Capitán Xeral nomea a José Antonio López, Francisco Roldán (que prestaba servizos na dirección de Correos) e Francisco Esteban de Yebra (noutros traballos publicados aparece o seu nome como Francisco de Zebra, alférez de fragata da Real Armada que prestaba servizos no Real Consulado da Coruña) para que concorran á cidade de Santiago para actuar como xuíces da oposición. Recibida esta carta, con data 1 de xullo de 1800, envíase escrito aos tres xuíces comunicando o seu nomeamento e informando do envío aos seus xefes dun escrito para que lle permita concorrer ao desempeño do encargo. Segue a continuación no expediente, varios escritos dos xuíces acusando recibo da comunicación e no que indican a intención de chegar a Santiago nos vindeiros días. Posteriormente, con data 5 de xullo de 1800, a Universidade certifica ter recibido as contestacións que anteceden, e forma un edicto sinalando o comezo do concurso de oposición para o martes 8 de xullo.

O 7 de xullo de 1800, na Sala do Claustro da Universidade compareceron o Reitor Manuel Barros Figueroa, Francisco Roldán (enxeñeiro hidráulico), Francisco de Yebra (director da academia de matemáticas e hidrografía do Real Consulado da Coruña) e José Alonso López (mestre de matemáticas de gardas mariñas do departamento de Ferrol), que xuraron desempeñar o encargo con imparcialidade e legalidade. Nese mesmo acto formouse a “trinca” correspondente á oposición do seguinte xeito:

Opositores: Domingo José García Louzao, Joaquín Cordon Villadiego e José Rodríguez González.

Trinca 1ª

-Joaquín Cordon Villadiego, disertador

-José Rodríguez González e Domingo José García Louzao, competidores

Trinca 2ª

-Domingo José García Louzao, disertador

-Joaquín Cordon Villadiego e José Rodríguez González, competidores

Trinca 3ª

-José Rodríguez González, disertador

-Joaquín Cordon Villadiego e Domingo José García Louzao, competidores.

Os exercicios comezaron ás 8:30 da mañá, os días 8, 10 e 12 de xullo de 1800.

O primeiro paso, ao comezo do exercicio, consistiu na determinación dos “puntos”. Nesta oposición había 12 “puntos” sendo cada “punto” un teorema

e problemas asociados. En cada trinca, chamábase a un neno para que sacara ao chou tres deles.

A continuación o opositor escolliu un para efectuar a súa disertación. Deseguida, segundo consta nos documentos do expediente da cátedra, asinados polo escribán Francisco Javier Gándara Espantoso, notificábase ao porteiro da Universidade, que o opositor debe permanecer na Sala do Claustro para formar a súa disertación, sen saír dela ata a hora de remate do exercicio, que o opositor non pode ter comunicación con persoa algunha, e que lle subministre da Biblioteca os libros que pedise para efectuar a devandita disertación. Así mesmo, o escribán facía constar a denominación do “punto” escollido polo opositor, que se fixaba na porta da cátedra de autos.

Nun documento asinado o 9 de xullo de 1800, o escribán daba conta do desenvolvemento do exercicio de Joaquín Córdón. Indícase neste a presenza do Reitor, dos xuíces comisarios, o disertador e os competidores. Fai constar tamén que o opositor fixo o exercicio e demostracións correspondentes ao problema escollido, así como a entrega da disertación. Indícase que concluída a media hora sinalada para a realización da disertación, os outros dous competidores fixeron as preguntas que tiñan por convenientes, cada un na súa respectiva media hora, ás que o disertador lles deu solución con respostas e demostracións. Así mesmo, faise constar o fin do exercicio e faise constar ao opositor que ás 17:00 do día seguinte debe concorrer a “sufrir” o exame dos xuíces comisarios.

Isto mesmo repítese para os outros dous opositores. Desgraciadamente, non se conserva no expediente a disertación de ningún dos tres opositores (si se conserva por exemplo as disertacións no expediente de provisión da cátedra de elementos de álgebra que gañou Domingo Fontán en 1817).

O punto de Rodríguez levaba por título “*Si ex eodem punto ducantur duae rectae quorum altera circulum tangit altera secat, erit tangens media proportionalis inter totam secantem et eius portionem extracirculum*” (Varela, 1999).

Durante a oposición, Cristóbal Pecul que desenvolveu dita cátedra con carácter interino, declarouse opositor e solicitou a suspensión do concurso queixándose da lexitimidade dos xuíces. Na resposta dada a Pecul se lle indica que non da lugar á suspensión e que se quere actuar como opositor que o faga na debida forma e concorra aos exercicios. O expediente finaliza cun escrito do 15 de xullo de 1800, onde se certifica a presenza na Sala do Claustro do Reitor e dos tres xuíces da oposición, indicando que Cristóbal Pecul aínda que expresou ser opositor á cátedra non o fixo, así como declaran finalizado o concurso aprobando os exercicios dos tres opositores.

Noutro expediente que se conserva no Arquivo Histórico da Universidade de Santiago de Compostela, atópase o nomeamento como catedrático de matemáticas de José Rodríguez González, datado o 2 de marzo de 1801.

A relación de José Rodríguez González co matemático Carl Friedrich Gauss

Na biografía do matemático do Bermés realizada por Ramón María Aller Ulloa, este indica que lle parece estraño que Rodríguez non tivera relación con Carl Friedrich Gauss (1777-1855) durante a súa estadia na Universidade de Gotinga, onde este último era o director do Observatorio Astronómico da Universidade, da que ten falado o propio Rodríguez nunha carta enviada á Universidade de Santiago de Compostela.

Temos indicado tamén a realización por Rodríguez dun traballo de temática xeodésica en alemán (Fernández, 2011), que foi publicada en *Zeitschrift für Astronomie und verwandte wissenschaften* (Xornal de astronomía e ciencias afíns). Esta revista foi editada por Johann Gottlieb Friedrich von Bohnenberger (1765-1831) e por Bernhard von Lindenau (1779-1854) co que Gauss mantiña correspondencia a cotío, o que nos fixo pensar que a posibilidade de que mantiveran unha relación profesional era moi posible. Desta revista publicáronse 6 volumes en Tubinga entre 1816 e 1818, (dous volumes semestrais por ano), e o traballo de Rodríguez que levaba por título *Ueber die Gröfsenverhältnisse des Erd-Sphäroids* (Sobre as proporcións do esferoide terrestre), veu a luz no terceiro volume (xaneiro - xuño de 1817).

Investigando a correspondencia de Gauss que se atopa no arquivo da Universidade de Gotinga, sabemos que non existe correspondencia directa entre este e Rodríguez, pero si existen cartas de Gauss con outros científicos alemáns no que se menciona ao matemático do Bermés.

Así, nunha misiva con data 23 de decembro de 1816 que Gauss remitiu a Friedrich Wilhelm Bessel (1784-1846), solicitoulle o envío dun exemplar para Rodríguez, indicando ademais que a marcha deste de Gotinga produciríase en breve (lembramos a existencia dunha carta de Rodríguez do 1 de febreiro de 1817 escrita dende Gotinga, enviada á Universidade de Santiago de Compostela, onde indicaba que a finais de marzo abandonaría Alemaña para ir a Francia). É moi probable que o exemplar indicado refírese ao volume terceiro de *Zeitschrift für Astronomie und verwandte wissenschaften*, xa que Gauss na mesma carta solicita outro para un alumno seu, o clérigo húngaro Paul Tittle (1784-1831) que se preparaba para ser profesor de astronomía en Pest e que tamén publicou un traballo no mesmo volume da devandita revista. Cabe lembrar a este respecto, que se conserva no Museo de Pontevedra unha carta de Tittle enviada a Rodríguez (Filgueira, 1988), o que confirma unha relación

entre ambos os dous durante as estadias destes científicos en Gotinga primeiro e París máis tarde, xa que segundo unha biografía de Tittle, este estivo en París entre marzo de 1817 e outubro de 1818 agás unha pequena temporada que estivo nas Illas Británicas (Domokosné, 1998).

Posteriormente, nunha carta de Bessel que envía a Gauss dende Königsberg, con data 5 de febreiro de 1818, pregúntalle, para facerllo saber a von Lindenau, se coñecía onde se aloxaba Rodríguez, de xeito que puidera enviarlle un exemplar.

Existe tamén unha carta que Gauss envía a Johann Franz Encke (1791-1865), datada en novembro de 1818, indicándolle que lle entregarán 30 Reichthaler (moeda utilizada por aquel entón en Alemaña) por tres exemplares dun libro destinados ao Observatorio de Gotinga, á Biblioteca da Universidade e para Rodríguez. Gauss solicítalle que lle dea os cartos a von Lindenau e que o exemplar para Rodríguez xa debería terlle chegado.

Está claro pois, que a finais de 1818 Rodríguez (cando xa abandonara Alemaña) non dispoñía do libro onde se publicara o seu traballo xeodésico. Non atopamos máis correspondencia de Gauss na que mencionase este asunto, polo que non podemos coñecer se finalmente Rodríguez chegou a ter ese exemplar nas súas mans, con posterioridade a dita data, pero non parece probable ao non compartir entre os seus achegados este feito.

Vendo o contido destas cartas, deducimos que efectivamente houbo un contacto persoal de Rodríguez con Gauss na súa estadia en Gotinga, debido á atención co que Gauss tenta conseguir para Rodríguez un exemplar da súa publicación. Dado que na biografía de Aller Ulloa sobre Rodríguez non se menciona a existencia deste artigo de temática xeodésica publicado en 1817, aventurámonos a conxectar que Rodríguez non chegou a ter nas súas mans a publicación do seu traballo.

Agradecementos

Quero amosar a miña gratitude a Martin Liebethuth, da Universidade de Gotinga por facilitarme o contido da carta de Gauss enviada a Encke en novembro de 1818. Ademais, quero agradecer a Pablo Nieto Mallo a súa tradución da correspondencia de Gauss na que se menciona ao matemático Rodríguez.

Así mesmo, desexo transmitir o meu recoñecemento a José Ángel Docobo Durántez, catedrático de Astronomía da Universidade de Santiago de Compostela, pola revisión deste texto.

Bibliografía

- Arquivo da Georg-August-Universität Göttingen, SUB (Niedersächsische Staats und Universitätsbibliothek Göttingen). Colección: Gauss-Bessel correspondence. Sinatura: Cod. Ms. Gauss Briefe B: Bessel (Nr. 32-51), Göttingen, 1816, Dez. 23. Copia dixital dispoñible en liña: <http://gauss.adw-goe.de/handle/gauss/47>
- Arquivo da Georg-August-Universität Göttingen, SUB (Niedersächsische Staats und Universitätsbibliothek Göttingen). Colección: Gauss-Bessel correspondence. Sinatura: Cod. Ms. Gauss Briefe A: Bessel (Nr. 39-82), Königsberg, 1818 März 1. Copia dixital dispoñible en liña: <http://gauss.adw-goe.de/handle/gauss/2334>
- Arquivo da Georg-August-Universität Göttingen, SUB (Niedersächsische Staats und Universitätsbibliothek Göttingen). Colección: Gauss-Encke correspondence. Sinatura: Cod. Ms. Gauss Briefe A: Encke (Nr. 11), Göttingen, 1818, Nov. [...].
- Arquivo histórico da Universidade de Santiago de Compostela (AHUS). Colección Artes y Filosofía: Cátedras. Sinatura: Fondo Universitario, Serie Histórica 405, 1760-1808. Peza 14. Expediente sobre o concurso da cátedra de Matemáticas vacante por ascenso de D. Marcelino Pereira. Ano 1800. Copia dixital dispoñible en liña: <http://www.usc.es/gl/servizos/arquivo/fondos/accesoweb.html>
- Arquivo histórico da Universidade de Santiago de Compostela (AHUS). Colección Artes y Filosofía: Cátedras. Sinatura: Fondo Universitario, Serie Histórica 405, 1760-1808. Peza 16. Nomeamento da cátedra de Matemáticas a favor de D. José Rodríguez. Ano 1801. Copia dixital dispoñible en liña: <http://www.usc.es/gl/servizos/arquivo/fondos/accesoweb.html>
- D. Josephus Rodríguez Gonzalez Pro-Moderator Mathematices hujus Universitatis, ex ejusque Discipulis D. Michael Maquieira, D. Dominicus Garcia, D. Joannes Filgueira, D. Joannes Stanislaus Rivera, et D. D. Hieronymus, ac Jacobus Piñeyro y de las Casas ... publicae offerunt demonstrationi sequentes duas Propositiones totam Trigonomeriam planam amplectentes, quas idioma latino, & hispano proponuntur, ut aliqui ex supra dictis latinum ignorantes quae sitis satisfacere queant. Imprenta de Ignacio Aguayo. 1799. Biblioteca de Galicia, sinatura: 1025. Copia dixital dispoñible en liña: <http://www.galiciana.bibliotecadegalicia.xunta.es>
- Domokosné, V. Carl Friedrich Gauss magyar csillagász-barátai. En: Magyar Tudomány, a Magyar Tudományos Akadémia folyóirata. Setembro 1998. Dispoñible en liña: <http://www.matud.iif.hu/98sze/vargha.html>
- Fernández, I. A estadia de José Rodríguez González en Alemaña. Tradución dunha obra súa. En: Boletín de la Real Academia Galega de Ciencias. Volume XXX. 2011, pp. 113-126.
- Filgueira, X. El Doctor José Rodríguez González o matemático de Bermés (Bermés, Pontevedra 1770-Santiago de Compostela 1824). Excma. Deputación Provincial de Pontevedra. 1988.
- Varela, M. A. El matemático José Rodríguez y la Universidad. Lugo. 1999. Dispoñible en liña: <http://www.igaciencia.eu/drupal7/sites/default/files/files/rodrigu.PDF>

Anexo I

Extractos da correspondencia de Carl Friedrich Gauss na que se menciona ao matemático Rodríguez
1) Carta de Gauss a Bessel. Datada en Göttingen o 23 de decembro de 1816.

...

Ich kann Ihnen nicht sagen, wie sehr ich mich freu über die Hoffnung Ihren Bradley nun bald erscheinen zu sehen. Leid thut es mir, dass ich Ihnen so wenig Subscribenten anzeigen kann. Lindenau's Liste ist dafür desto grosser. Notiren Sie noch folgende

Für mich
Für die Sternwarte
Für Harding
Für die Bibliothek
Für Dr. Tittel aus Erlau
Für Don Josef Rodriguez

Die beiden letzteren werden Göttingen in kurzem verlassen und wünschen daher ihre Exemplare director zu beziehen. Hr. Tittel's Exemplar möchte mit den für Pasquich und Littrow bestimmten nach Ofen geschickt werden; Don Rodriguez will Ihnen, wenn er in Spanien zurückgekommen sein wird, demnächst das Werk durch den spanischen Consul abfordern lassen.

...

2)Carta de Bessel a Gauss. Datada en Königsberg o 5 de febreiro de 1818

...

Wenn Sie wissen, wo Don J. Rodriguez sich jetzt aufhält, so haben Sie doch die Güte, es Herrn von Lindenau wissen zu lassen, damit er das Exemplar an ihn gelangen lassen kann.

...

3)Carta de Gauss a Encke. Datada en Göttingen en novembro de 1818.

...

Herr Ursin wird Ihnen hiebei 30 rTh [Reichsthaler] übergeben, als Bezahlung der drei Exemplare für die hiesige Sternwarte, für die Bibliothek und für Herrn Rodriguez. Ich ersuche Sie[,] dies Geld an Hr. v. L. [von Lindenau] zu befördern. Das Exemplar für Herrn Rodriguez wird ja wol längst seiner Vorschrift gemäß expedirt seyn.

...

Anexo II

Extractos da correspondencia de Carl Friedrich Gauss na que se menciona ao matemático Rodríguez (tradución ao galego)

1g) Carta de Gauss a Bessel. Datada en Göttingen o 23 de decembro de 1816.

...

Non podo dicirlle como me alegra a esperanza de poder ver aparecer a Bradley. Só me dá pena que só lle puidera indicar tan poucos subscritores. Pero en cambio a lista de Lindenau é moito máis ampla. Anote aínda os seguintes:

Para min
Para o observatorio astronómico
Para Harding
Para a biblioteca
Para o Dr. Tittel de Erlau
Para Don Josef Rodriguez

Os dous últimos abandonarán Göttingen en breve e desexan por iso obter os seus exemplares directamente. O Sr. Tittel desexa que o seu exemplar se envíe xunto co de Pasquich e Littrow a Ofen; Don Rodriguez lle solicitará a obra a través do cónsul español cando estea de regreso en España.

...

2g) Carta de Bessel a Gauss. Datada en Königsberg o 5 de febreiro de 1818

...

Se sabe onde se atopa agora Don J. Rodriguez, sexa tan amable de facerllo saber ao Sr. Lindenau para que lle poda chegar o seu exemplar.

...

3g) Carta de Gauss a Encke. Datada en Göttingen en novembro de 1818.

...

O Sr. Ursin entregaralle 30 rTH [Reichsthaler – antiga moeda] a modo de pagamento polos tres exemplares para o observatorio astronómico local, a biblioteca e o Sr. Rodriguez. Pídlle que dea traslado deses cartos ao Sr. Von Lindenau. O exemplar para o Sr. Rodriguez deberá terse expedido fai tempo tal como el dispuxo.

...

GALVANIC REPLACEMENT REACTIONS IN TRANSITION METAL OXIDE NANOPARTICLES¹

Miguel Alexandre Ramos Docampo y Verónica Salgueiriño Maceira

*Departamento de Física Aplicada, Facultade de Ciencias, Universidade de Vigo,
As Lagoas-Marcosende, Vigo 36310 (Spain)
Correspondencia: vsalgue@uvigo.es*

Abstract

In this work, a synthetic method to prepare octahedron-shaped cobalt oxide nanoparticles has been followed. The synthesis is based on the thermodecomposition of cobalt(II) acetate used as the precursor. The nanoparticles were additionally coated with silica (SiO_2), by means of a reverse microemulsion method. CoO is an antiferromagnetic material with a consequent characteristic magnetic response. Accordingly, the magnetic properties of the CoO and CoO@ SiO_2 nanoparticles were recorded in order to distinguish between the intrinsic properties of the nanoparticles and their collective behaviour.

Alternatively, the CoO nanoparticles were also coated with shells of transition metal ferrites (MFe_2O_4 , metal M: Mn, Co). The core-shell morphology attained implies an interface between CoO and MFe_2O_4 that promotes diffusion and galvanic replacement reactions, ultimately favouring the formation of hollow structures. Both types of octahedra, the CoO and the CoO@ MFe_2O_4 nanoparticles, permit the comparison of the thermodynamic and chemically-controlled galvanic reaction and the kinetically-driven Kirkendall effect.

Keywords: core-shell, galvanic replacement reaction, hollow nanostructures, Kirkendall effect.

¹ Premio de Investigación de Mozos Investigadores 2015 da Real Academia Galega de Ciencias.

Resumen

Este trabajo consiste en el diseño y síntesis de nanopartículas octaédricas de monóxido de cobalto (CoO) mediante termodescomposición química del acetato de cobalto(II), como precursor. Seguidamente, estas partículas se recubrieron con sílice (SiO₂), mediante un método de microemulsión inversa. El CoO es un material antiferromagnético con una respuesta magnética característica. Por esto, las propiedades magnéticas del CoO y del CoO@SiO₂ fueron determinadas para distinguir entre las propiedades intrínsecas de las nanopartículas y su comportamiento colectivo.

Por otro lado, las nanopartículas de CoO fueron también recubiertas con ferritas de metales de transición (MFe₂O₄, metal M: Mn, Co). La morfología alcanzada en estas estructuras genera una interfase entre el CoO y el MFe₂O₄, que promueve la difusión y reacciones de sustitución galvánica, favoreciendo la formación de estructuras huecas. Este tipo de nanopartículas de estructura “núcleo-corteza” (CoO@MFe₂O₄) permiten la comparación entre las reacciones de sustitución galvánica, favorecidas termodinámicamente, y el efecto Kirkendall, favorecido cinéticamente.

Palabras clave: efecto Kirkendall, nanopartículas huecas, partículas núcleo-capa, reacción de sustitución galvánica

List of abbreviations

AC:	alternating current
AFM:	antiferromagnetic
ATR:	attenuated total reflection
DM:	diamagnetic
emu:	electromagnetic unit
FM:	ferromagnetic
FiM:	ferrimagnetic
IR:	infrared microscopy
MRI:	magnetic resonance imaging
OA:	oleic acid
PM:	paramagnetic
SERS:	surface enhanced Raman scattering
SPM:	superparamagnetic
SQUID:	superconducting quantum interference device
TEM:	transmission electron microscopy
TEOS:	tetraethyl orthosilicate
TOA:	trioctylamine
TOPO:	trioctylphosphine oxide
XRD:	X-ray diffraction

1. Introduction

1.1. Materials at the nanoscale

Materials with nanoscale dimensions offer unique phenomena due to different effects, most of them related to the fact that the smaller the material gets, the larger its relative surface area becomes, and consequently the percentage of surface atoms. According to this statement, properties of nanoparticles (with diameters ranging roughly between 1-100 nm) such as electrical conductivity, light absorption, mechanical strength or magnetic behaviour differ largely to those of the bulk size. Figure 1.1 includes an approximation of the fraction of surface atoms in nanoparticles with diameters of a very few nanometres.

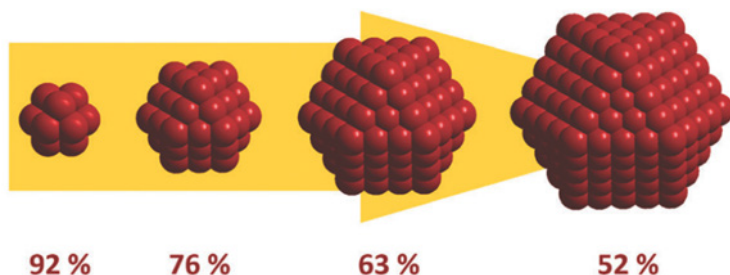


Figure 1. 1. Schematic illustration of the decrease of surface-to-volume ratio, in this case for a cuboctahedron-shaped nanoparticle, as the size of the nanocrystal increases (reproduced from Sonström and Bäumer (2011)).

1.2. Magnetic materials

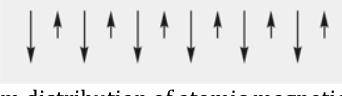
1.2.1. Classification of magnetic materials

Magnetic materials are classified by their response to an externally applied magnetic field. Depending on the different orientation of the magnetic moments in a material, different magnetic responses can be identified: diamagnetism, paramagnetism, ferromagnetism, ferrimagnetism and antiferromagnetism (see Table 1.1) (Cullity 2008).

Most materials display little magnetism, and even then, only in the presence of an applied field; these are classified either as paramagnets or diamagnets. Paramagnets differ from diamagnets in the magnetic flux density going through the material: while in paramagnetic materials the flux density increases (compared to the exterior), in diamagnetic materials this flux density becomes reduced.

However, some materials exhibit ordered magnetic states, which render them magnetic even without an applied magnetic field. These are classified as ferromagnets, ferrimagnets and antiferromagnets, where the prefix refers to the nature of the coupling interaction between unpaired electrons within the material. Ferro- and ferrimagnetic materials have their atomic magnetic moments always aligned (considering the crystalline structure of the material itself), which allow them to act as permanent magnets. These are the strongest magnetic materials. On the other hand, antiferromagnetic materials have their atomic magnetic moments also aligned but in opposite directions, causing their total invalidation, so that the material has no net magnetization in the absence of an applied magnetic field.

Tabla 1. 1. Magnetic materials classified according to their magnetic order

<i>Spontaneous domain formation</i>	Antiferromagnetism	
	Ferromagnetism	
	Ferrimagnetism	
<i>No domains</i>	Paramagnetism	Random distribution of atomic magnetic moments, alignment induced by the applied field
	Diamagnetism	Random distribution of atomic magnetic moments. Induced alignment opposes the applied magnetic field

Ferro-, ferri- and antiferromagnetic materials form domains to minimize the total magnetic energy of the system. There are different contributions to this total magnetic energy, such as the magnetostatic, or the magnetocrystalline energies, which influence the size and shape of the domains (Spaldin 2003). Domains are groups of atomic magnetic moments all pointing in the same direction and acting cooperatively when a magnetic field is applied. Domains are separated by domain walls, which have a characteristic width and energy associated with their formation and existence. In case of magnetic materials with nanoscale dimensions, that is, nanoparticles, their small size can hinder the formation of domains, promoting therefore single-domain nanoparticles. These nanoparticles are characterized by a giant magnetic moment, due to the well-defined magnetic order of their atomic magnetic moments in the single domain, which gives place to the phenomenon of superparamagnetism.

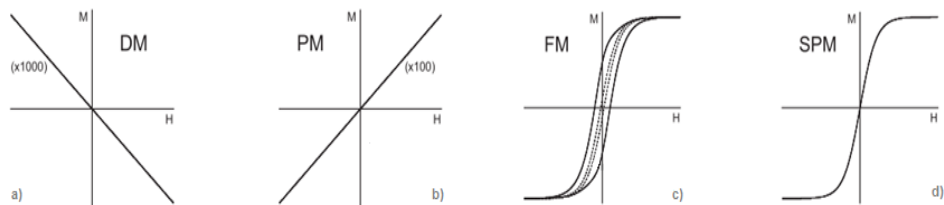


Figure 1. 2. Typical magnetization versus magnetic field (M-H) hysteresis loops of different magnetic materials (reproduced from Pankhurst et al. 2003).

The Figure 1.2 includes magnetization *versus* magnetic field (M-H) hysteresis loops according to the different magnetic behaviour displayed by diamagnetic (DM)(a), paramagnetic (PM)(b), ferromagnetic (or ferrimagnetic) (FM) (in bulk or in the case of superparamagnetic nanoparticles in their blocked state) (c) and superparamagnetic (SPM) (nanoparticles in their superparamagnetic state) (d) materials (Pankhurst *et al.* 2003).

Magnetism highly depends on temperature. Ferromagnetic and ferrimagnetic materials can lose the cooperative effects that keep their atomic magnetic moments pointing in the same direction, that is, reaching temperatures over T_C (the Curie temperature), which render them paramagnets. Analogously, in antiferromagnetic materials, the same effect is observed over T_N (the Néel temperature). Figure 1.3 graphically reflects these transitions.

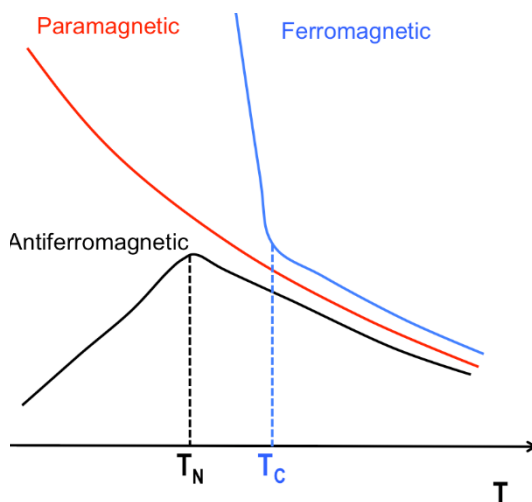


Figure 1. 3. Characteristic variations of the magnetic susceptibility (dM/dH) with temperature.

Cobalt(II) oxide (CoO) can have its atoms arranged in two different crystalline structures: the hexagonal wurtzite phase (space group: $P6mc$, with hexagonal close-packed of O^{2-} ions and tetrahedral Co^{2+} ions), which is paramagnetic; or the cubic rock salt phase (space group: $Fm3m$, with cubic close-packed of O^{2-} ions and octahedral Co^{2+} ions), which is antiferromagnetic. The cubic CoO phase is the most thermodynamically stable state (Shim *et al.* 2011)

1.2.2. Magnetic properties of nanoparticles

As stated above, the magnetostatic energy of a ferro- or ferrimagnet decreases by restructuring the material into domains. There is a limit to this because formation of domains costs energy due to domain wall formation. The width of a domain wall depends on the balance between the exchange energy (which prefers a wide wall) and the magnetocrystalline anisotropy energy (which prefers a narrow wall). The balance results in typical domain wall widths of around 100 nm. So qualitatively, if a particle is smaller than this size, a domain wall will not fit in, meaning that the particle is single-domain.

Accordingly, the magnetic properties of small particles are dominated by the fact that below a certain critical size the particle contains only one domain. Indeed, since the reduction in magnetostatic energy is proportional to the volume of the particle and the increase in the domain wall energy is proportional to the area of the wall, both depend on the particle radius. Below some critical radius, it is energetically unfavourable to form domain walls and consequently a single-domain particle can be formed.

In line with this, it is also important to remark that the magnetization reversal in single-domain particles must occur via spin rotation since there are no domain walls to move. Because of this, single-domain particles are characterized by relatively large values of coercivity (reversed magnetic field required to reduce the induced magnetization to zero) compared to multidomain systems. This large coercivity is desirable for magnetic storage data applications.

1.2.3. Applications of magnetic nanoparticles

The Figure 1.4 provides a sunburst representation of the challenging applications in the magnetic nanomaterials field, as underlined by Bader (2006). According to the scope of this work some cases will be just mentioned.

Ultra-high-density media

Ultra-high-density media for magnetic recording is needed to reach the nowadays goals for information storage. In order to advance to the Tbits/

in² and beyond, nanomagnetism may play its role. Thermal stability of nanoparticles is one of the major issues to solve.



Figure 1. 4. Scheme of short and long-term challenges in nanomagnetism

Nano-Bio Magnetic Sensors

The magnetic functionalization of certain analytical systems can allow the use of a much smaller number of units that can be later concentrated under the action of an applied magnetic field for different analysis (such as SERS, for example) thereby, increasing the detection limits.

Bio-related applications

Magnetic separation

In biomedicine it is often advantageous to separate out specific biological entities from their native environment. Magnetic separation using biocompatible nanoparticles is one way to achieve this and requires the tagging or labelling of the desired biological entity with magnetic materials and separating these tagged entities out via a fluid-based magnetic separation device.

Drug delivery

Therapeutic drugs can be administered intravenously leading to general systemic distribution, resulting in deleterious side-effects as the drug attacks normal, healthy cells in addition to the target tumour cells. The use of magnetic carriers to target specific sites (generally cancerous tumours) within the body

may indeed become very advantageous considering two main objectives: (i) reduction of the amount of systemic distribution of the cytotoxic drug, thus reducing the associated side-effects; and (ii) reduction of the dosage required by more efficient, localized targeting of the drug.

Hyperthermia

In broad terms, this phenomenon involves dispersing magnetic particles throughout the target tissue, and then applying an AC magnetic field of sufficient strength and frequency to cause the particles to heat above 42°C for 30 min or more, to destroy cancer cells. The challenge lies in being able to deliver an adequate quantity of the magnetic particles to generate enough heat in the target using AC magnetic field conditions that are clinically acceptable.

1.3. Hollow nanostructures. Role of galvanic replacement reactions, diffusion and the Kirkendall effect

Hollow nanostructures have become a hot topic in terms of the feasible applications proposed including catalysis or drug delivery. Additionally, they offer a playground where to study new properties associated with the particular structures and morphologies attained.

Galvanic replacement reactions have been demonstrated to be part of very convenient routes for preparing hollow nanoparticles with controllable pore structure and composition (Oh *et al.* 2013) these reactions have previously been limited to the chemical transformation of metallic nanostructures. We demonstrated galvanic replacement reactions in metal oxide nanocrystals as well. When manganese oxide (Mn_3O_4). This effective and versatile approach permits to control the size, while tuning composition, internal structure and morphology of the resultant hollow nanostructure (Xia *et al.* 2013).

A galvanic replacement reaction is an electrochemical process by which a metal is oxidized by the ions of another metal having a higher reduction potential. Therefore, the driving force for this reaction comes from the difference between the two standard reduction potentials of the metals involved. If the process takes place in an aqueous phase, the ions from the template will be oxidized and dissolved in the solution while the ions of the second metal will be reduced and placed onto the template surface.

A galvanic replacement reaction can be controlled by promoting or preventing the red-ox process. Introducing ionic species in the system facilitates the reaction since shifts the equilibrium towards the direction of the galvanic replacement. On the other hand, adding a strong antioxidant or a reducing agent, or even reducing the difference in the redox potentials, are effective methods for the prevention of the galvanic replacement reaction (Xia

et al. 2013). This galvanic replacement process has been exploited to produce hollow structures both with metals and oxides (see Figures 1.5 and 1.6).

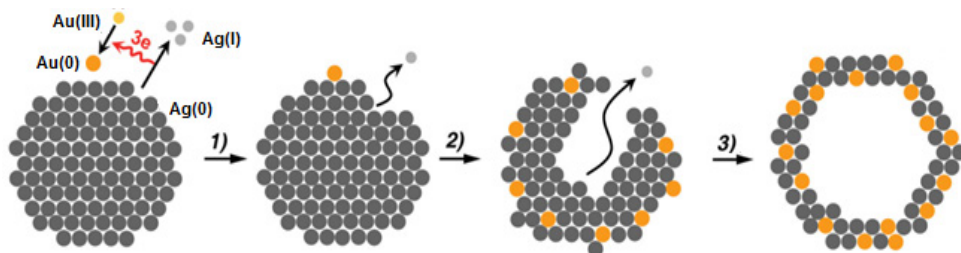


Figure 1. 5. Galvanic replacement reaction between metallic silver and gold ions (reproduced from Xia *et al.* 2013).

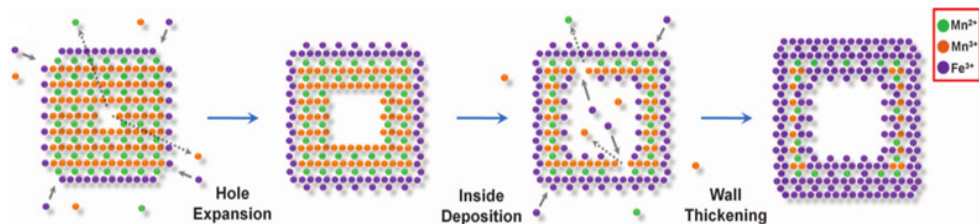


Figure 1. 6. Galvanic replacement reaction between cations from two different oxides (Mn_3O_4 and $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (reproduced from Oh *et al.* 2013). These reactions have previously been limited to the chemical transformation of metallic nanostructures. We demonstrated galvanic replacement reactions in metal oxide nanocrystals as well. When manganese oxide (Mn_3O_4).

The Kirkendall effect is a phenomenon based on the unbalanced inter-diffusion between two materials, produced by the difference in the diffusion rates of the elements or compounds involved. The consequence of the Kirkendall effect is the formation of voids in the bulk of the component with the faster diffusion rate. This process was studied by Smigelskas and Kirkendall around 70 years ago (Smigelskas and Kirkendall 1947) and has become nowadays a very effective approach for the preparation of hollow nanostructures (Yin *et al.* 2012).

Puntes and co-workers have recently developed a route to prepare hollow nanoparticles by sequential or simultaneous action of galvanic replacement and the Kirkendall effect (González *et al.* 2011). While the galvanic replacement reaction forms a cavity in the interior of the template, this pinhole expands then because of the different diffusion rates of the two metals implicated in the process. Indeed, the galvanic replacement reactions can be coupled with many

different chemical/physical processes, offering new routes for the synthesis of more complex nanostructures, on which studying unique properties and improved performances for certain applications.

1.4. Size distribution analysis

In order to attain the complete characterization of the nanoparticles produced by the wet-chemistry methods employed, the nanoparticle size statistical analysis is required. This analysis focuses on a representative parameter (diameter, edge length, etc.) of the nanoparticle shape. Accordingly, the representative parameter of a number n of nanoparticles is registered (generally considering TEM images) and fitted to a log-normal distribution rather than the frequently used normal or Gaussian distribution. Considering a random variable X (the representative parameter), it is said to be log-normally distributed if $\log(X)$ is normally distributed (Limpert *et al.* 2001) (see Figure 1.7).

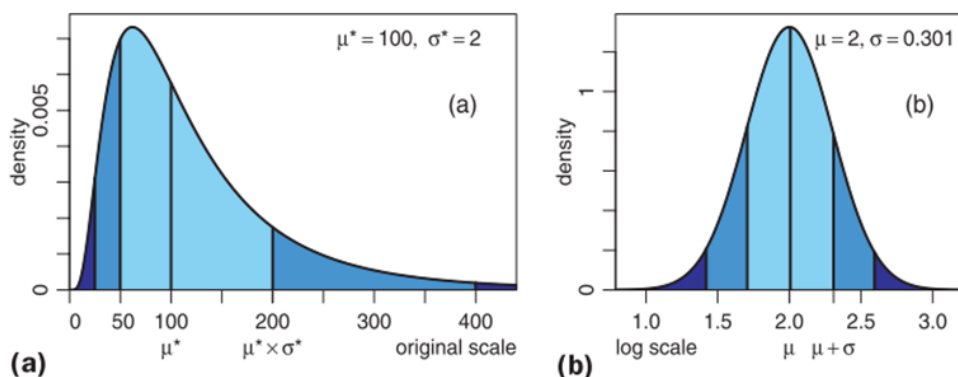


Figure 1. 7. A log-normal distribution with original scale (a) and with logarithmic scale (b). Areas under the curve correspond to one and two standard deviation ranges of the normal distribution (reproduced from Limpert *et al.* 2001).

This log-normal distribution corresponds to the log-transformed variable, using as parameters the mean and the standard deviation of its distribution accordingly:

$$\mu^* = e^\mu \qquad \sigma^* = e^\sigma$$

For normally distributed data, the interval $\mu \pm \sigma$ covers a probability of 68.3%, while $\mu \pm 2\sigma$ covers 95.5%. The corresponding statements for log-normal quantities are:

$$[\mu^*/\sigma^*, \mu^* \cdot \sigma^*] = \mu^* \times \sigma^* \text{ (contains the 68.3\%)} \text{ and} \\ [\mu^*/(\sigma^*)^2, \mu^* \cdot (\sigma^*)^2] = \mu^* \times (\sigma^*)^2 \text{ (contains the 95.5\%).}$$

This characterization shows that the operations of multiplying and dividing, which are denoted with the sign $\times/$ (times/divide), help to determine useful intervals for log-normal distributions, in the same way that the operations of adding and subtracting ($\pm$, or plus/minus) do for normal distributions.

Kapteyn (1936) noted long ago that if data from one-dimensional measurements in nature fit the normal distribution, two- and three-dimensional results such as surfaces and volumes cannot be symmetric. A number of effects that point to the log-normal distribution as an appropriate model has consequently been described in various papers (*e.g.*, Aitchison and Brown 1957, Crow and Shimizu 1988). Indeed, the prevailing operation in the laws of Chemistry and Physics is multiplication (see, for instance, the velocity of a simple reaction, which depends on the product of the concentrations of the molecules involved).

Though the reasons governing frequency distributions in nature usually favour the log-normal, for small coefficients of variation, normal and log-normal distributions both fit well.

2. Materials and methods

Chemicals. Cyclohexane (p.a.), poly(5)oxyethylene-4-nonyphenyl-ether (NP-5) and ammonium hydroxide (29 wt % in water) were obtained from Sigma-Aldrich. Trioctylphosphine oxide (TOPO, 99%), trioctylamine (TOA, 97%), oleylamine (70%), octylether (99%), oleic acid (OA, 90%), tetraethyl orthosilicate (TEOS, 98%), iron(II) acetate (95%), manganese(II) acetate (98%) and nickel(II) acetate tetrahydrate (>90%) were purchased from Aldrich. Cobalt(II) acetate tetrahydrate (>99%) was obtained from Fluka Analytical. Ethanol anhydrous. All chemicals were used without any further purification or treatment.

2.1. *Synthesis of cobalt oxide octahedron-shaped nanoparticles*

All CoO nanoparticle syntheses were performed following the same route, that is, the thermo-decomposition of cobalt(II) acetate while adjusting a few parameters in order to tune the nanoparticle size (reflected by the average octahedron edge length).

Synthesis of 20 nm-edge octahedron-shaped CoO nanoparticles. Cobalt(II) acetate (0.914 mmol), TOPO (0.1 mmol), OA (4 mmol), oleylamine (7.15 mmol) were added into a three-necked round-bottomed flask containing 5 mL of TOA and 15 mL of octylether. The temperature was kept at 140 °C while stirring for 45 min. Then, the solution was heated to reflux; up to 300 °C (3 °C/min ramp rate) for 4 hours. Upon heating, the solution changed colour, from pink to brown.

Synthesis of 40 nm-edge octahedron-shaped CoO nanoparticles. In this case, cobalt(II) acetate (1 mmol), TOPO (0.2 mmol), OA (8 mmol), oleylamine (14.3 mmol) were added into a three-necked round-bottomed flask containing 25 mL of TOA. The temperature was also kept at 140 °C while stirring for 45 min and then, heated to reflux in the same conditions as before.

Synthesis of 130 nm-edge octahedron-shaped CoO nanoparticles. The synthesis was carried out using the same process as the previously described, but in this case cobalt(II) acetate (4 mmol) and OA (4 mmol) were used, but neither TOPO nor oleylamine were included in the three-necked round-bottomed flask containing 25 mL of TOA.

Synthesis of NiO nanoparticles. In order to study the properties of NiO nanoparticles, the same experimental method was carried out using a nickel metal-precursor. Thus, nickel(II) acetate (0.438 mmol), TOPO (0.1 mmol), OA (4 mmol), oleylamine (7.15 mmol) and 12.5 mL TOA are added into a three-necked round-bottomed flask. The temperature was kept at 140 °C while stirring for 45 min and then, heated to reflux (300 °C (3 °C/min ramp rate) for 3 hours). Upon heating, the solution changes colour from bright green to dark brown.

Once cooled to room temperature, ethanol (~25 mL) was added to the solutions to force the flocculation of the nanoparticles, helped by centrifugation. The nanoparticles were thus separated from the supernatant containing the solvent, ligands, by-products, etc. This procedure was repeated at least three times. Finally, the nanoparticles were stored in ethanol. The samples of nanoparticles to be coated with silica were dispersed and stored in cyclohexane. The samples of nanoparticles to be coated with ferrites were dried by letting the solvent evaporate at 60 °C.

2.2. Silica coating of nanoparticles by a reverse microemulsion system

1.3 mL of NP-5 were dispersed in 8 mL of cyclohexane and stirred for 15 min (800-850 rpm). Subsequently, 0.083 mmol of the 40 nm-edge CoO nanoparticles (41.50 mM) were added and let stir for 15 min and afterwards, 15 µL of TEOS were added. Finally, after stirring the solution for 15 min more, 350 µL of ammonia (20 wt % in water) were added. After this last step, the mixture was stirred a few minutes more and stored at room temperature for two days.

Variations of the process described above were performed in order to optimize the silica coating of the octahedron-shaped nanoparticles to obtain CoO@SiO₂ core-shell nanostructures:

Essay varying the ammonia concentration: three experiments were made to determine the best ammonia concentration for the hydrolysis

and condensation of TEOS, such that the silica would precipitate on the surface of the nanoparticles but no free silica nanoparticles were formed. In these experiments 350 μL of ammonia (29, 20 or 10 wt % in water) were employed.

Essay varying the CoO nanoparticle concentration: once the proper ammonia concentration was chosen, two experiments with different concentration of nanoparticles were performed. In these experiments, 0.083 mmol of 40 nm-edge CoO nanoparticles (50 and 60 mM) were employed. The final solution volume was not modified.

Essay varying the CoO nanoparticle size: an additional experiment employing 130 nm-edge nanooctahedra was also performed, to check the feasibility of the reverse microemulsion method for the silica coating of these large nanoparticles. All the other parameters were not modified.

The nanoparticles were separated from the supernatant containing the solvents, ligands, by-products, etc. by centrifugation. This procedure was repeated at least three times. Finally, the silica-coated nanoparticles were stored in ethanol.

2.3. – *Synthesis of CoO@MFe₂O₄ (M: Mn, Co) nanocrystals*

CoO@MnFe₂O₄ and CoO@CoFe₂O₄ core-shell nanoparticles were obtained using a hot-injection thermo-decomposition of iron and manganese, or iron and cobalt acetate precursor, respectively, starting with the CoO nanoparticles as seeds. Thus, 19.16 μmol of iron acetate and 9.58 μmol of manganese or 19.16 μmol of iron acetate and 9.58 μmol of cobalt acetate were dissolved in 500 μL of ethanol.

0.267 mmol of the pre-synthesized 40 nm-edge CoO nanoparticles, 1.6 mmol of OA and 25 mL of TOA were placed in a three-necked round-bottomed flask and heated up to 210 $^{\circ}\text{C}$ while stirring. Once this temperature was reached, the previously described 500 μL solution (containing the iron and manganese or the iron and cobalt precursors in ethanol) was injected drop-by-drop. After that, the solution was heated up to reflux (~ 300 $^{\circ}\text{C}$ (3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ramp rate) for 3 hours. Upon heating, the solution changed colour, from brown to black.

Once cooled to room temperature, ethanol (~ 25 mL) was added into both solutions to force the flocculation of the nanoparticles, helped by centrifugation. The nanoparticles were thus separated from the supernatant containing the solvent, ligands, by-products, etc. This procedure was repeated at least three times. Finally, the nanoparticles were stored in ethanol.

2.4. – Characterization of the samples

In order to have the samples characterized, we have employed the following techniques:

Transmission electron microscopy (TEM). The results of all the experiments were checked by TEM, carried out on a JEOL JEM1010 microscope with a field emission gun working at 100 kV. The samples for TEM were prepared by depositing the different solutions of nanoparticles upon carbon-coated copper grids and let the solvent evaporate.

The TEM is a technique that uses electrons to light an object so that it is possible to get atomic resolution images. It directs an electron-radiation source towards the object we want to magnify and image. The beam passes through the ultrathin sample such that a material-electron interaction takes place. The transmission electron microscope can detect three types of interactions: the direct electron beam, the coherent elastic/inelastic scattered electrons, and the incoherent inelastic scattered electrons. From these interactions a response is generated and transformed into a magnified image thanks to the magnetic lenses that finally reaches to the phosphor screen. This technique can magnify an image up to one million times.

X-ray Diffraction (XRD). The atomic pattern within a crystal can be studied directly by X-ray diffraction since the relative positions of the atoms can be deduced from measurements of the relative diffracted intensities. Accordingly, the XRD pattern can offer the crystalline structure of the nanoparticles and can even confirm and monitor the growth mechanism of the nanocrystals. This is because the interplanar distances in a crystal are about 1-10 Å, that is, in the range X-ray radiation wavelength spans (0.02-100 Å). W. H. Bragg and W. L. Bragg, who envisaged crystals in terms of layers or planes of atoms, offered a simple expression for the analysis of the crystal structure:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta$$

where λ is the wavelength, n is the order of reflection, d_{hkl} is the lattice plane spacing and θ is the angle of incidence/reflection of the planes.

The crystalline structure behaves in effect as reflecting planes, strong reflected beams being produced when the path differences between reflections from successive planes in a family is equal to whole number of wavelengths. (Hammond 2009). Accordingly, some samples were checked by XRD in powder.

Infrared spectroscopy (IR-ATR). The energy of most molecular vibrations corresponds to that of the infrared region of the

electromagnetic spectrum. These molecular vibrations may be detected and measured in an infrared (IR) spectrum since the functional groups have characteristic vibration frequencies within well-defined regions of this range.

A complex molecule has a large number of vibrational modes that involve the whole molecule. Although some of these molecular vibrations can be associated with the vibrations of individual bonds or functional groups (localized vibrations), others must be considered as vibrations of the whole molecule.

The localized vibrations can be labeled as stretching (either symmetrical or asymmetrical), scissoring (or bending), rocking, twisting, or wagging, and they are summarized in Figure 2.1 for a methylene group.

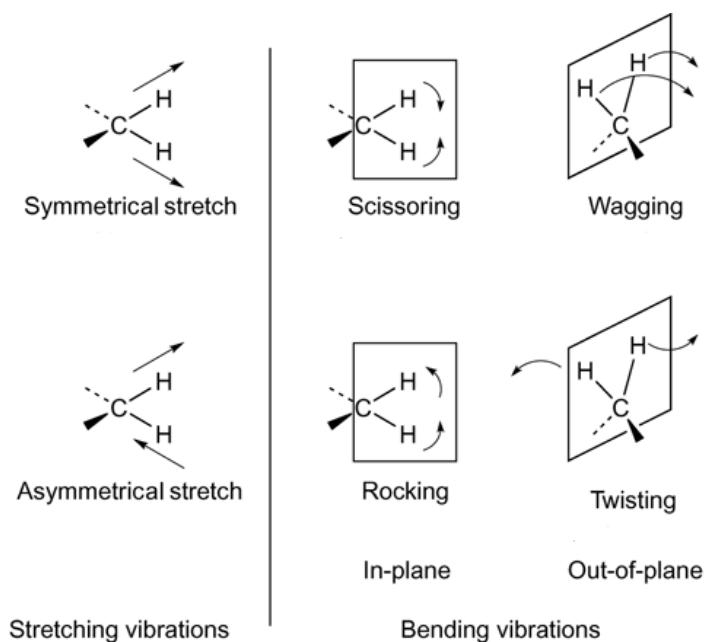


Figure 2. 1. Molecular vibrations of the methylene group.

Many of these localized vibrations are very useful for the identification of functional groups (Williams and Flemming 1995), which can be characterized by the stretching frequency in an approximation considering the Hooke's law: where ν is the stretching frequency, k is a constant associated with the vibration and m is the mass.

The ATR mode in IR spectroscopy occurs when a beam of radiation enters from a more-dense (with a higher refractive index) into a less-dense medium (with a lower refractive index). The fraction of the incident beam reflected increases when the angle of incidence increases. All incident radiation is completely reflected at the interface when the angle of incidence is greater than the critical angle (a function of refractive index). The beam penetrates a very short distance beyond the interface and into the less-dense medium before the complete reflection occurs. This penetration is called the evanescent wave and typically is at a depth of a few micrometres. Its intensity is reduced (attenuated) by the sample in regions of the IR spectrum where the sample absorbs. The sample is normally placed in close contact with a more-dense, high-refractive-index crystal. Specular reflectance provides a non-destructive method for measuring thin coatings on selective, smooth substrates without sample preparation (Sherman-Hsu 1997).

SQUID Magnetometry. Magnetometry measurements offer magnetization *versus* applied magnetic field (M-H) hysteresis loops, which permit to investigate the magnetic response and behaviour of the materials analyzed. It is customary then to plot the magnetization M of the sample as a function of the magnetic field strength H , since H is a measure of the externally applied field, which drives the magnetization. The following scheme (Figure 2.2) reflects the basic concepts of a hysteresis loop:

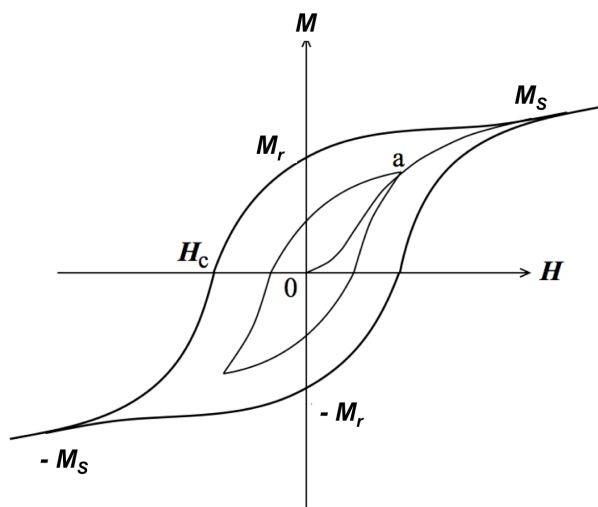


Figure 2. 2. Magnetization M versus applied magnetic field H hysteresis loop.

The maximum value of the magnetization when a material is exposed to a magnetic field is called the saturation magnetization (M_s) and it is achieved when all magnetic moments are aligned with the field. The value of the magnetization at zero field once the sample was saturated is called the remanent magnetization (M_r). The coercive field (H_c) is the magnitude of the field that must be applied in the negative direction to bring the magnetization of the sample back to zero after saturated.

The shape of the hysteresis loop determines if the material is a hard magnet or a soft magnet. Hard magnets have almost squared hysteresis loops, with high values of M_s , permeability (μ), H_c , and M_r . They are used as permanent magnets. On the other hand, soft magnets also show high values for M_s and μ , but low values of H_c and M_r , which promote a rapid response to high frequency magnetic fields and high electrical resistivity.

3. Results and Discussion

3.1. *Synthesis of cobalt oxide octahedron-shaped nanoparticles*

A general synthetic process to produce nanoparticles consists on a single short burst of nucleation followed by a slower growth of these nuclei formed to reach the final size of the nanoparticles. This mechanism generally fits a scheme on which there is a main chemical reaction that supplies “monomers” of the sought material, reaching a critical level above its equilibrium solubility so that a burst of nucleation occurs. As monomers condense into nuclei and then contribute to the nanoparticle growth, their concentration becomes highly decreased or even depleted and different processes such as Ostwald ripening can begin.

In these kind of processes, variables such as temperature and metal-precursor-to-surfactant ratio, exert control over the nanoparticle size and shape. Indeed, the general scheme of most of the colloidal chemistry methods designed for the synthesis of nanoparticles counts on inorganic cores stabilized by organic surfactants. Hence, the successful control in terms of size and shape also stems directly from the dynamic surface solvation established at this organic–inorganic interface. Certainly, these organic molecules are chosen regarding their propensity to adhere to the surface of the growing material that additionally has to allow them exchange on and off the growing clusters to be indeed accessible for growth. The fact that more than half the atoms of a nanoparticle may be at this surface renders the organic – inorganic interface crucial as well in the whole formation process (Yin and Alivisatos 2005).

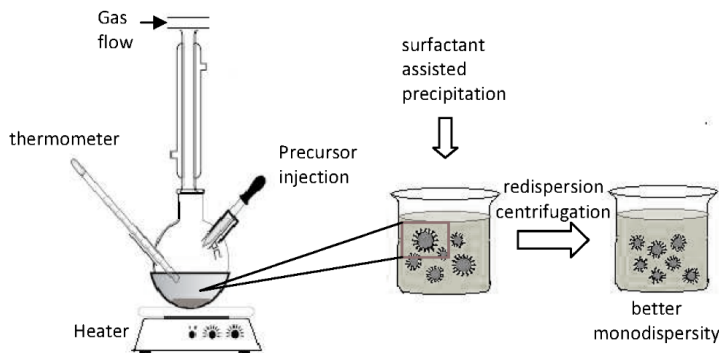


Figure 3. 1. Scheme of a typical thermo-decomposition-based method to synthesize nanoparticles.

Typical surfactants contain metal coordinating groups as well as solvophilic groups (*i.e.* TOPO or oleic acid). The metal coordinating group of a surfactant is generally electron donating to allow coordination to electron-poor metal atoms at the nanocrystal surface, while the other end extends to the solvent and therefore determines the stability of the nanoparticles in solution. Accordingly, the surfactants can control the growth stage and prevent aggregation (Yin and Alivisatos 2005).

Paying attention to this general description of synthesis of nanoparticles in solution (Figure 3.1), we can explain the mechanism of formation of the CoO nanooctahedra. In the case herein described, the main chemical reaction is based on the thermal decomposition of cobalt(II) acetate tetrahydrate, used as metal-precursor to provide the $-\text{Co}-\text{O}-$ “monomer”. Acetate is indeed a good ligand for this process since it is weakly bonded to the metal ion and implies low steric effects, which facilitates a nucleophilic attack. The Figure 3.2 includes the mechanism of reaction proposed to provide the $-\text{Co}-\text{O}-$ monomers that assemble to form the CoO nuclei. Though the oleylamine and TOA present in the reaction medium can act as reducing agents, the Co^{2+} ions released in this first step of the process keep this oxidation state in the final product. In case of reaching the metallic Co^0 oxidation state, the atoms would easily turn into Co^{2+} ions due to the oxygen-rich environment favoured by the (open-air) reflux. Oleylamine and TOA may however prevent the further oxidation of these ions to reach the Co^{3+} oxidation state.

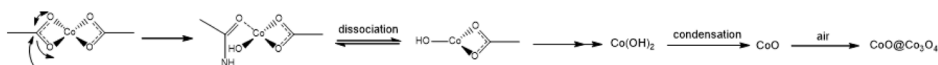


Figure 3. 2. Scheme of the mechanism of reaction proposed starting from the cobalt(II) acetate as the metal-precursor. The H_2O molecules present in the process are omitted for simplicity.

In order to favour the production of nanoparticles with narrow size distributions, it is desirable that nucleation and growth stages take place subsequently in time. This may be achieved by injecting the precursors into the solvent at high temperature, favouring the chemical process to reach the supersaturation of the monomer (Yin and Alivisatos 2005). Accordingly, the cobalt(II) acetate jointly with the surfactants (TOPO, OA and oleylamine) were added into the solvent keeping the temperature at 140 °C while stirring. Though using simultaneously TOPO, OA and oleylamine, it seems OA is the one playing a role in the control of size and especially shape of the nanoparticles produced.

The steps included in the mechanism in Figure 3.2 include:

- i) the nucleophilic attack of the amine group from the oleylamine to the carboxylic carbon of the acetate,
- ii) the intermediate ions formation and proton rearrangement,
- iii) the conversion of the hydroxide into the oxide nuclei delivering H_2O ,

which lead to:

- iv) the supersaturation in solution of $-\text{Co}-\text{O}-$ “monomers” favouring the nucleation,
- v) and the subsequent growth of the nuclei controlled by the surfactants present in solution to reach the final octahedron-shaped nanoparticles.

Different changes in the colour of the solution also reflect the following reaction steps:

- i) deep purple: Co^{2+} ions in solution,
- ii) pink slurry: Co-amine species in solution,
- iii) red: $\text{Co}(\text{OH})_2$ present in solution, which is actually the most used compound to generate cobalt oxides,
- iv) black: residual red cobalt hydroxide species,
- v) brown: cubic CoO .

The nucleophilic attack of the amine to the acetate group, the growth of the nanoparticles (controlled by the OA molecules present in solution) and the characteristics of the solvent that reaches a rather high refluxing temperature, favour the production of the perfectly shaped octahedra. The Figure 3.3 includes TEM images of the nanoparticles produced. TEM images offer the two-dimensional projection of the objects shown and accordingly, the octahedron-shaped particles look like hexagons, rectangles or rhombi.

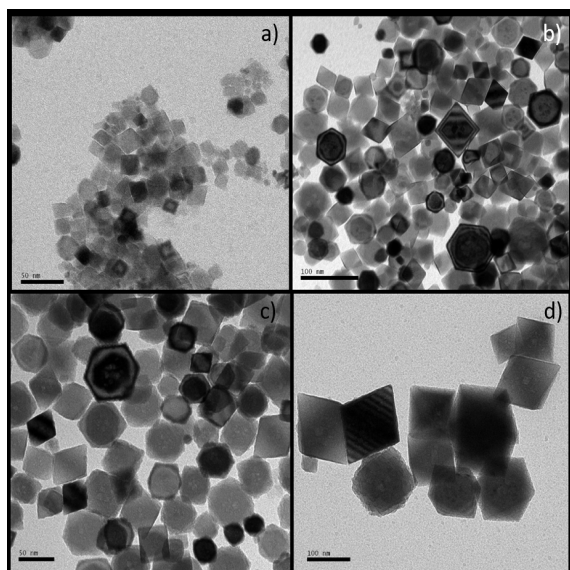


Figure 3.3. TEM images of CoO nanoparticles with different average edge length: (a) 20 nm, (b) 40 nm (smoother surface), (c) 40 nm (rougher surface) and (d) 130 nm.

The Figure 3.4 includes the size distribution analyses of the different samples of CoO octahedron shaped nanoparticles synthesized, considering the edge length of the nanocrystals and fitted to log-normal distributions.

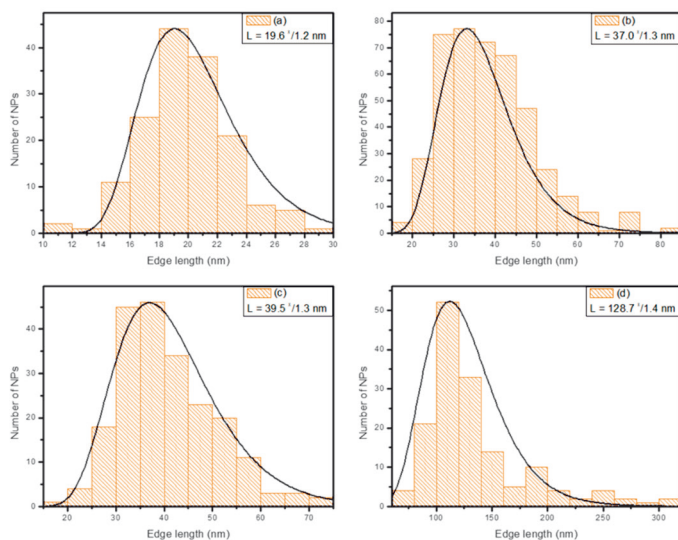


Figure 3.4. Plots of the size distribution analysis of the different samples of CoO nanoparticles, fitting the edge length to a log-normal distribution.

We have used these average size distributions to label the samples as: 19.6 $\times$ 1.2 nm (Figures 3.3a and 3.4a), 37.0 $\times$ 1.3 nm (characterized by a smoother surface, Figures 3.3b and 3.4b) (39.5 $\times$ 1.3 nm (characterized by a rougher surface, Figures 3.3c and 3.4c)), and 128.7 $\times$ 1.4 nm (Figures 3.3d and 3.4d) (referred to in the following as 20, 40 (with smoother or rougher surface) and 130 nm-edge samples).

As mentioned, the OA, as surfactant or capping agent, controls the growth of the nanoparticles, since in its absence no octahedra were produced. These capping molecules with negatively charged head groups can selectively stabilize the {111} planes (containing Co^{2+} cations only, considering the cubic rock salt crystalline structure), since electrostatically the interaction with the charged {111} facets is favoured in comparison to the uncharged {100} facets (containing both Co^{2+} cations and O^{2-} anions). This selective attachment of the OA molecules on the surface of the nanoparticles directs their growth ending up with octahedron-shaped particles with eight {111} surface facets.

The XRD confirms the cubic crystalline structure of the CoO nanoparticles, as shown in Figure 3.5. Accordingly, the octahedra offer eight {111} surface facets of the face-centered cubic crystalline structure, which theoretically, would contain only Co^{2+} cations or O^{2-} anions and consequently would be energetically not stable. Goniakowski *et al.* (2008) pointed out that nature tends to avoid such a polarity catastrophe by changing the distribution of surface charges or the modification of the composition of the surface region. In our case, the surface stabilization of these octahedra was attained by the formation of a very thin outer shell of Co_3O_4 with the spinel configuration (Fontaíña-Troitiño *et al.* 2014).

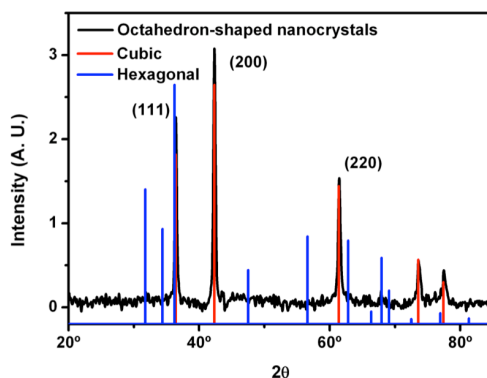


Figure 3. 5. XRD pattern (in black) of CoO nanoparticles fitting the cubic rock salt phase (space group: $\text{Fm}\bar{3}\text{m}$, with cubic close-packed of O^{2-} ions and octahedral Co^{2+} ions) (red lines) and not the hexagonal wurtzite phase (space group: $\text{P6}_3\text{mc}$, with hexagonal close-packed of O^{2-} ions and tetrahedral Co^{2+} ions) (blue lines).

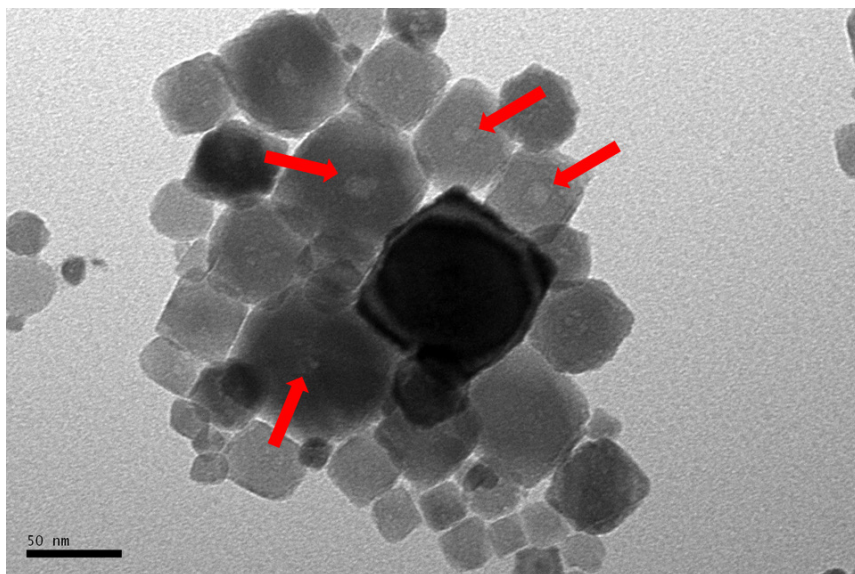


Figure 3. 6. Cobalt oxide nanoparticles with some hollow cavities or pinholes (indicated by red arrows) formed inside.

The TEM image included in Figure 3.6 reveals some voids inside the octahedra. The presence of holes inside the octahedra and located around a main and centred cavity (5-10 nm in diameter) can be explained considering the synthetic process as kinetically controlled (nucleation takes place at $\sim 170^\circ\text{C}$). In that case, an organometallic intermediate phase would match the premises for creating some kind of porosity using a chemical gradient, since according to Smigelkas and Kirkendall, solid diffusion in a concentration gradient occurs through a vacancy exchange mechanism (Smigelkas and Kirkendall 1947). If the diffusion coefficient of the two species (the intermediate organometallic compound and the CoO) is different, the net directional flow of vacancies results in the formation of pores, with the outward diffusion of the core material (the intermediate organometallic compound) through the CoO being faster than the inward diffusion of the outer material (the CoO). Gösele and co-workers claimed a general fabrication route for hollow nanostructures provided that the Kirkendall effect should be generic, (Fan *et al.* (2006, 2007) and Dilger *et al.* reported a similar case for the synthesis of aerogel-like ZnO with organometallic methylzinc methoxyethoxide ($[\text{MeZnOEtOMe}]_4$) and ZnO (Dilger *et al.* 2012).

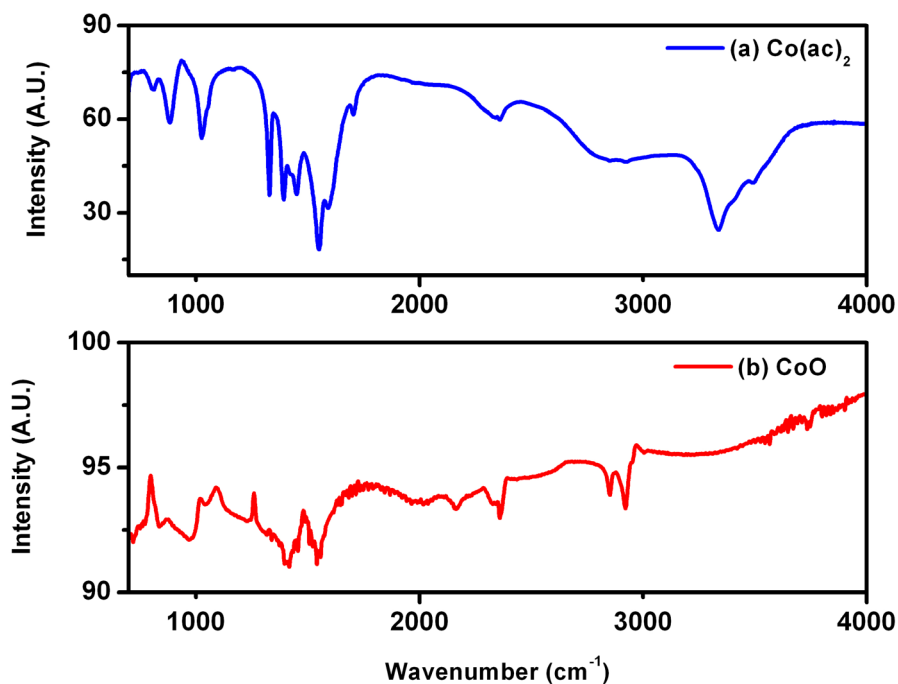


Figure 3. 7. Infrared spectra of (a) the metal-precursor cobalt(II) acetate, and (b) the CoO nanocrystals, recorded by an IR-ATR spectrometer.

In order to check if an organometallic specimen was formed during the thermo-decomposition process and trapped in the interior of the CoO nanooctahedra, infrared spectroscopy analysis was carried out (Figure 3.7) using an ATR spectrometer. In IR-ATR spectroscopy, the infrared light beam passes through an ATR crystal, which re-directs the beam into the nanoparticles, previously placed on a diamond plate. Thus, radiation impacts on the surface of the sample without using any kind of support, so interferences are eliminated rendering the technique a great tool to characterize nanoparticles.

The Figure 3.7 shows a comparison of IR spectra of the Co(ac)₂ and of the CoO nanooctahedra. The presence of an intermedium organometallic compound in the CoO matrix of the octahedra is confirmed; on one hand, by the presence of C–H stretching peaks (2921 and 2849 cm⁻¹) due to the carbohydrate skeleton of the oleylamide formed during the synthesis (see Figure 3.2) and, on the other hand, by the presence of C=O–M vibration modes

(1412 cm^{-1}). This is a coordination bond between the carbonyl group from the amide and the metallic cobalt, which comes from the metal-precursor.

Peaks at 2921 or 2849 cm^{-1} can also stem from the metal-precursor, meaning in that case that it has not completely reacted during the synthesis. This is indeed confirmed by the presence of $\text{C}=\text{O}-\text{M}$ signal at 1551 cm^{-1} , also present in the cobalt(II) acetate IR spectrum. Note that the peak at 2329 cm^{-1} in the IR spectra is caused by the environmental CO_2 .

Analogous to the thermo-decomposition of $\text{Co}(\text{ac})_2$, we have considered the nickel metal precursor to produce nickel monoxide (NiO) nanoparticles in a similar fashion, since offer promising applications in catalysis, gas sensors and electrochromic and memory devices. The NiO crystalline structure can also adopt the rock salt cubic structure, with octahedral Ni^{2+} cations and a cubic close packing of O^{2-} anions. Like many other binary metal oxides, NiO is often non-stoichiometric, meaning that the $\text{Ni}:\text{O}$ ratio deviates from 1:1. In nickel oxide this non-stoichiometry is accompanied by a colour change, so that the stoichiometrically correct NiO is green and the non-stoichiometric NiO is black.

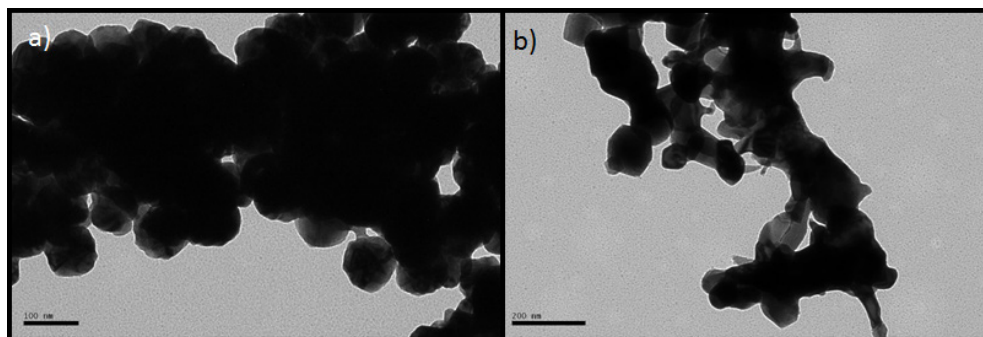


Figure 3. 8. Ni/NiO nanoparticles synthesized by a chemical thermo-decomposition.

Figure 3.8a includes TEM images of the nanostructures obtained by the thermo-decomposition of nickel(II) acetate in similar conditions to that followed for the CoO . Nor size neither shape and defined morphology, were achieved by this process. The likely reason for this type of nanocrystals can stem from the fact that the standard reduction potential ($\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^0$) favours the much faster production of metallic nickel, rendering very difficult control of size and shape in solution. Indeed, these colloids quickly respond to an applied external magnet (metallic nickel is a typically strong ferromagnetic material). To minimize the reducing conditions given by the oleylamine present in solution, we use the same molar equivalent of oleylamine as OA, trying to avoid the reduction of Ni^{2+} cations, which did not work (Figure 3.8b).

3.2. Silica coating of nanoparticles by a reverse microemulsion system

Monodisperse submicrometer silica spheres can be prepared by hydrolysis and condensation of tetraethyl orthosilicate (TEOS, $\text{Si}(\text{OEt})_4$) according to the Stöber method (1968). Both hydrolysis and condensation take place in a mixture of water, ammonia and ethanol that is kept at constant temperature. In this medium, (organo)alkoxysilanes undergo the reactions summarized in Figure 3.9 (Iler 1979). It is generally accepted that these base-catalyzed reactions (hydrolysis and its reversal, esterification) proceed through a bimolecular nucleophilic attack on the silicon atom, resulting in a negatively charged, penta-coordinated transition state ($\text{S}_{\text{N}}2$ reaction). The nucleophile attacking the silicon atom in the hydrolysis reaction is OH^- and accordingly, an increase in its concentration (that is, the concentration of NH_3 and/or H_2O) increases the reaction rate (Brinker 1990). Steric and inductive effects of the substituents on the silicon atoms are also important in this respect.

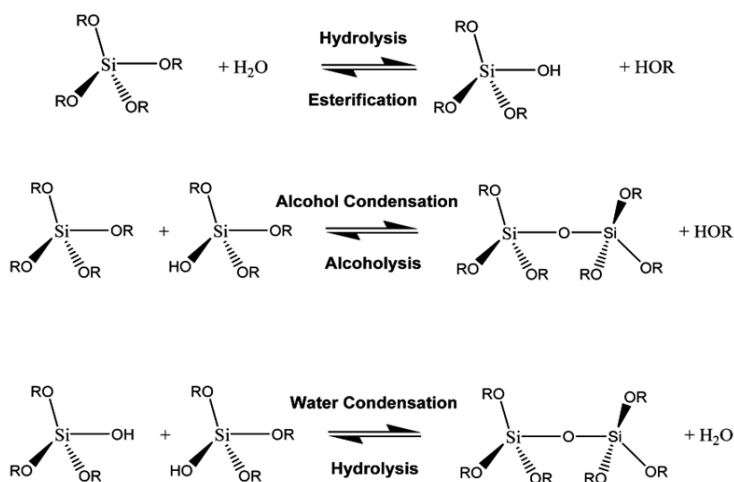


Figure 3. 9. Reactions undergone by an organosilane (TEOS for example) in the so-called Stöber process to produce silica spheres.

The condensation reactions producing water or ethanol also take place through a base-catalyzed nucleophilic attack on silicon, which results in a penta-valent transition state with negative charge. Because of the resemblance with the hydrolysis mechanism, the influence on the reaction rate of $[\text{H}_2\text{O}]$, $[\text{NH}_3]$, and the inductive effects of the substituents on silicon are very similar (Lippert 1988). The polymerization process to form silica involves an ionic mechanism on which TEOS molecules become $\text{Si}(\text{OEt})_x(\text{OH})_y$ since a percentage of ethoxy groups keeps bounded to the silicon atoms in the silica spheres (Guerrero-Martínez *et al.* 2010). Above pH 6-7, and up to 10.5, where

silica begins to dissolve as silicate, the silica particles are negatively charged and repel each other. Therefore, they do not collide and the growth process can continue without aggregation. At low pH however, the silica particles bear very little ionic charge and thus can collide and aggregate into chains and into gel networks.

The above described process has been modified in many different ways to coat colloidal nanoparticles with silica, because of the increased stability the colloids will attain (Guerrero-Martínez *et al.* 2010). Additionally, while preventing aggregation, it keeps the nanocrystals far apart, hindering the dipolar interactions commonly established for example, between magnetic nanoparticles. Furthermore, the surface chemistry provided by silica once the colloids are coated is well developed and facilitates the dispersion of the nanoparticles in different solvents and even in biological media.

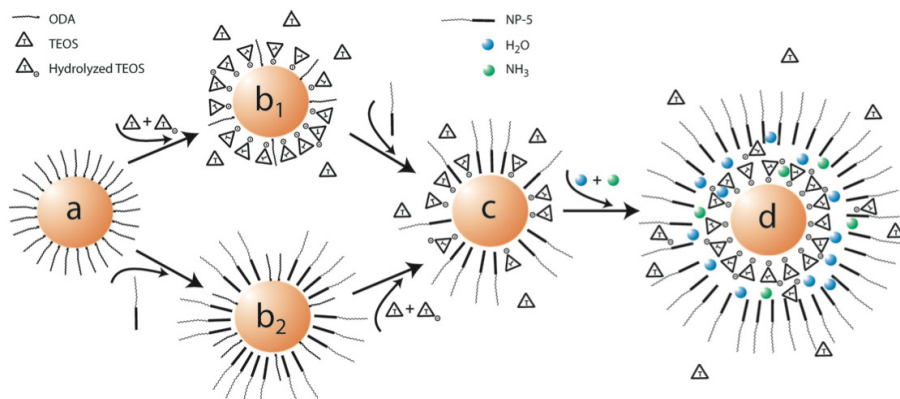


Figure 3. 10. Schematic representation of the preparation of silica-coated magnetic nanoparticles by a reverse microemulsion (reproduced from Koole *et al.*, 2008).

The incorporation of nanoparticles into silica spheres, reflected in Figure 3.10, has been optimized by Koole *et al.* (2008) using a water-in-oil (W/O) reverse microemulsion system, where small droplets are stabilized by a non-ionic surfactant (NP-5) in a hydrophobic continuous phase (cyclohexane). The hydrolysis and condensation of the silica precursor (TEOS) take place at the W/O interface or in the water phase, offering a very homogeneous coating and consequently silica-coated nanoparticles (even using very small sizes) with very narrow size distributions. On the other hand, the process does not form very thick silica shells around the nanoparticles.

This method has been applied to coat with silica the cobalt oxide octahedron-shaped nanoparticles synthesized. Figure 3.11 shows TEM images of the as-synthesized silica-coated cobalt oxide (CoO@SiO₂) nanoparticles. Figures 3.11a, b and c include TEM images from experiments performed

increasing the ammonia concentration employed (10, 20 and 29 % wt in water), which demonstrated that at the lowest concentration, the silica coating was not accomplished and instead a gel of silica and the nanoparticles independently distributed were observed (Figure 3.11a). Much better results in terms of coating were obtained when using higher concentrations of ammonia (20 and 29% wt in water) (Figure 3.11b and c). Figures 3.11d and e include TEM images from experiments performed varying the nanoparticle concentration employed (50 and 60 mM, (29% wt of ammonia in water in both cases)). The subtle difference between both experiments is referred to the number of nanoparticle-free silica spheres, smaller in the second case. This experiment with the larger concentration of nanoparticles and ammonia offered CoO@SiO₂ nanoparticles, on which the silica shell presents a width of 15.5 ± 1.4 nm (log- normal) (Figure 3.11e).

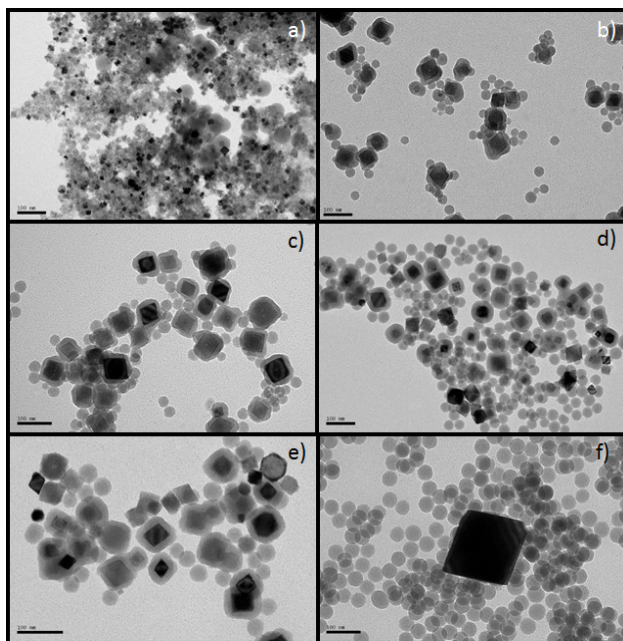


Figure 3. 11. TEM images of CoO@SiO₂ nanoparticles: varying the ammonia concentration from 10 (a), 20 (b) to 29 % wt in water (c); and varying the nanoparticle concentration from 50 (d) to 60 mM (e); and varying the nanoparticle size from 40 to 130 nm average edge (f).

Figures 3.11e and f include TEM images from experiments performed varying the nanoparticle size (40 and 130 nm average edge length). The important difference between both experiments is referred in this case of the fact that the larger nanoparticles were not embedded in silica and instead, independent nanoparticles of silica and of the cobalt oxide can be seen (Figure

3.11f). The likely reason to explain this result is the fact that the micelles where to carry out the coating are smaller than the 130 nm average edge octahedra, rendering impossible the coating process reflected in Figure 3.10.

Another important aspect to mention is related to the fact that we can observe nanoparticle-free silica spheres in all the cases. This can be attributed to the dynamic nature of the intermicelle interactions. The reverse micelles may not be fully occupied by metal oxide nanoparticles in the first stage if the concentration of micelles is higher than that of nanoparticles. In that case, empty droplets released during the intermicelle interaction provide a microenvironment for TEOS to nucleate and grow, which leads to the formation of the free silica particles observed.

In order to check the important exchange or dipolar interactions established between the magnetic nanoparticles, we have recorded the hysteresis loops of 40-nm edge CoO nanocrystals (at $T = 10$ K, at this low temperature the magnetic moments do not fluctuate and render easier checking the established interactions) before and after coated with silica. The silica shell around the nanoparticles acts as a spacer, minimizing therefore the mentioned interactions in between.

Figure 3.12 includes the hysteresis loops of both samples (CoO and CoO@SiO₂ nanoparticles). We can focus our attention on three important aspects. First, there is a clear linear response of the magnetization at high field, which reflect the antiferromagnetic nature of both samples. Second, the magnetization (in emu/g) decreases once the nanoparticles are coated with silica due to the diamagnetic response of the silicon oxide. Third, there is a very important decrease in the value of coercivity (H_c) as shifting from the non-coated to the silica-coated CoO nanocrystals, which reflects the minimization of the interactions between the magnetic CoO cores.

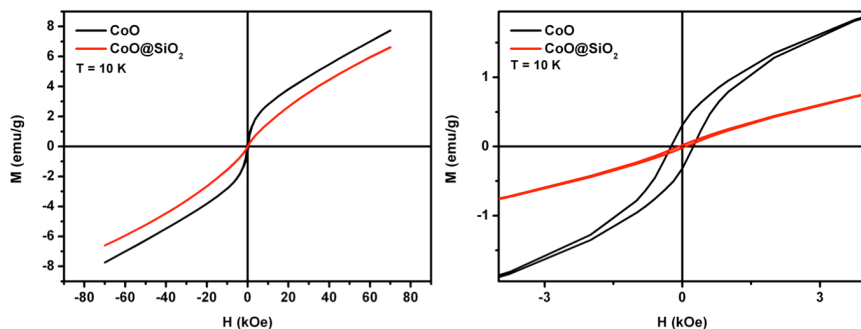


Figure 3. 12. M-H hysteresis loops of the CoO nanoparticles before (black line) and after (red line) coated with silica, recorded at $T = 10$ K. The graph on the right includes the same hysteresis loops but at a low field range.

3.3. Synthesis of $\text{CoO}@M\text{Fe}_2\text{O}_4$ (M : Mn, Co) nanocrystals

The octahedron-shaped cobalt oxide nanocrystals were also used as substrates, though in this case, to promote the growth of transition metal ferrite (manganese (MnFe_2O_4) or cobalt ferrite (CoFe_2O_4)) shells. Analogously to the initial step to obtain the cobalt oxide, the main chemical reaction in this case is based on the thermal decomposition of the metal (manganese, iron or cobalt) (II) acetate, used as metal-precursor to provide the sought oxides. Given the presence of the cobalt oxide nanocrystals in the solution, which behave as seeds, the system, instead of going through a nucleation step, proceeds only through the growth stage to form $\text{CoO}@M\text{Fe}_2\text{O}_4$ core-shell nanoparticles. Figures 3.13a and b include TEM images of these core-shell nanoparticles obtained ($\text{CoO}@M\text{Fe}_2\text{O}_4$ and $\text{CoO}@M\text{Fe}_2\text{O}_4$, respectively).

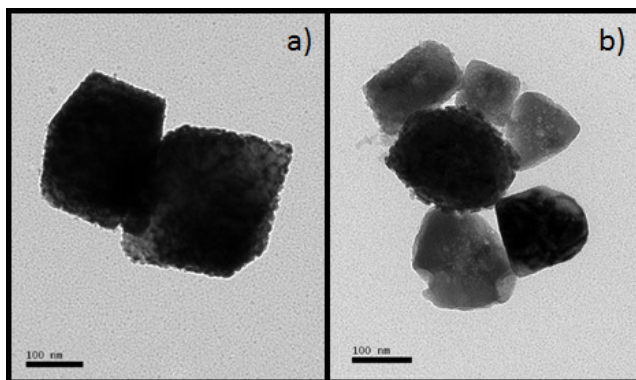


Figure 3. 13. TEM images of core-shell $\text{CoO}@M\text{Fe}_2\text{O}_4$ (a) and $\text{CoO}@M\text{Fe}_2\text{O}_4$ (b) nanoparticles

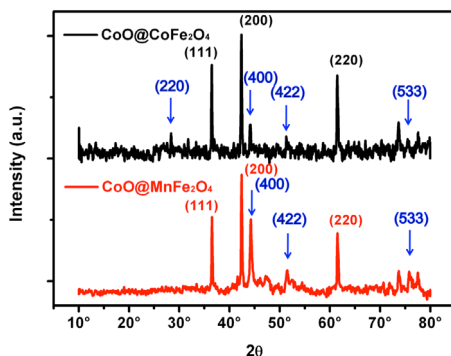


Figure 3. 14. XRD patterns recorded from the core-shell $\text{CoO}@M\text{Fe}_2\text{O}_4$ (black) and $\text{CoO}@M\text{Fe}_2\text{O}_4$ (red) nanoparticles.

Figure 3.14 shows the X-ray diffraction patterns of the core-shell structured nanoparticles. In both of them the peaks from the CoO crystalline structure can be clearly identified and appear written in black and red. The blue arrows in both patterns indicate peaks (also indexed in blue) corresponding to the spinel ferrite crystalline structure, which appear with much lower intensity. The likely reason for this is the fact that the shell of both ferrites on the CoO octahedra is very thin, likely non-homogeneous and incomplete, all of that hindering the spinel diffraction planes to be properly registered.

These core-shell nanoparticles hold a very interesting interface, both from the magnetism and chemistry perspectives. In terms of magnetism, the oxides at the interface have different magnetic order; the CoO and Co_3O_4 are antiferromagnetic while MnFe_2O_4 and CoFe_2O_4 are ferrimagnetic. This AFM-FiM interface can lead to an exchange bias effect, on which the neighbouring magnetic moments of the antiferromagnet become aligned parallel to the magnetic moments of the ferrimagnet. This phenomenon, exploited starting in 1970's, is still the most widely used in storage applications (Spaldin (2003)). Concerning the chemistry perspective, the oxides at the interface have metallic cations with different oxidation state, which promote galvanic replacement reactions that can lead to hollow structures. The red-ox reactions involved are:

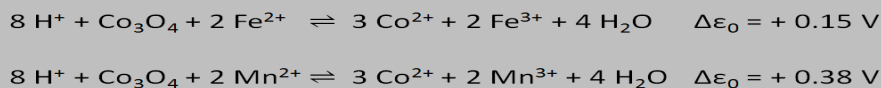


Figure 3. 15. Red-ox reactions considering the presence of the Co_3O_4 and MFe_2O_4 (M: Mn or Co) oxides at the interface of the core-shell nanoparticles.

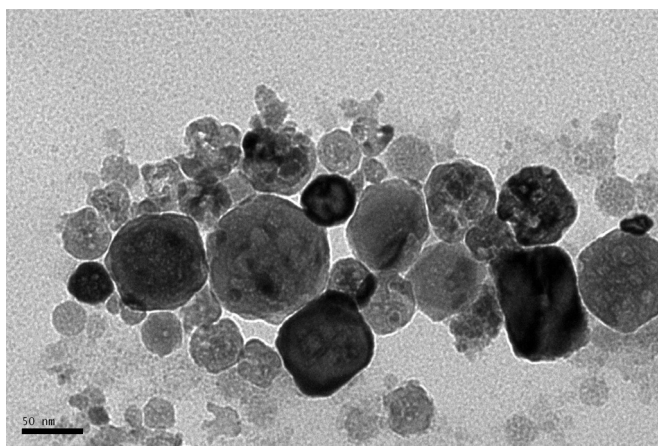


Figure 3. 16. TEM image of several core-shell $\text{CoO@MnFe}_2\text{O}_4$ nanocrystals on which we can observe an increase in the empty cavity volumes.

We have previously mentioned the formation of pinholes during the initial process to form the cobalt oxide octahedron-shaped nanoparticles, justified in terms of a Kirkendall effect, likely due to the formation of an intermedium organometallic compound or residual precursor molecules. In this case however, as diffusion jointly with the galvanic replacement reactions can progress at the interface between the two oxides, the electrons released from Mn^{2+} or Fe^{2+} cations that migrate inward reduce the Co^{3+} ions in the interior. It is worthy to point out the fact that the galvanic replacement reactions gain more importance when the divalent transition metal in the ferrite is the manganese, according to the standard potentials (see Figure 3.15). It is also important to mention the fact that the reactions go forward because of the Co_3O_4 outer shell of the octahedra. The standard reduction potentials of the ions from the CoO structure would not allow any redox reaction using manganese or cobalt ferrites.

According to what we have described above we can underline a combination of different processes that can facilitate the formation of hollow structures. Besides the Kinkerdall effect, by which we have justified the formation of the pinholes observed in the initial CoO octahedra, we can also consider the combination of diffusion and galvanic replacement reactions taking place at the interface between the two oxides.

Figure 3.16 includes a TEM image of the core-shell structured $\text{CoO}@\text{MnFe}_2\text{O}_4$ nanocrystals on which the process for the formation of hollow structures is taking place. The nanocrystals have lost the octahedron shape and instead, a hollow incomplete shell of a mixed oxide can be appreciated.

A similar process is also expected for the $\text{CoO}@\text{CoFe}_2\text{O}_4$ nanocrystals though much slower considering the standard reduction potentials involved.

4. Conclusions

This work presents the synthesis of octahedron-shaped cobalt monoxide nanoparticles via a chemical thermo-decomposition method. This is a good approach to synthesize this kind of nanocrystals since modifications in the molar ratio of surfactants or in the metal-precursor to surfactant molar ratio allow tuning the average size of nanoparticles with a well-defined octahedron shape.

Different techniques have allowed us the proper characterization of the samples synthesized, in terms of morphology (TEM), crystalline structure (XRD) chemistry (IR spectroscopy), and magnetism (SQUID magnetometry).

Colloidal chemistry methods have allowed us to use this type of nanoparticles as seeds on where promoting the growth of a second material

as an outer shell and for different reasons. On one hand, we have promoted the silica coating of the CoO octahedra by a reverse microemulsion method, which isolates them and permits to study the magnetic properties without exchange and/or dipolar interactions between the nanoparticles. On the other hand, we have promoted the growth of transition metal ferrites to obtain core-shell structured CoO@MFe₂O₄ (M: Co, Mn) nanoparticles. This type of morphology offers a very interesting interface between different transition metal oxides, both from the chemistry (because of the diffusion and galvanic replacement reactions involved that favor the formation of hollow structures) and magnetism perspectives.

Acknowledgement

Authors acknowledge the financial support from the Xunta de Galicia (Regional Government, Spain) under project EM2014/035 and from the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad under project CTM2014-58481-R.

References

- Aitchison J, Brown JAC (1957) The lognormal distribution: with special reference to its uses in economics. Cambridge, University Press 4:114-116.
- Bader S (2006) *Colloquium*: opportunities in nanomagnetism. Reviews of Modern Physics 78:1-15.
- Brinker CJ, Scherer GW (1990) Sol-Gel Science, Boston: Academic Press.
- Crow EL, Shimizu K. (1988) Lognormal Distributions: Theory and Applications. CRC Press.
- Cullity BD, Graham CD (2008) Introduction to Magnetic Materials. Wiley-IEEE Press.
- Dilger S, Lizandara-Pueyo C, Krumm M, Polarz S (2012) Hierarchical Zinc Oxide Materials with Multiple Porosity Prepared by Ultrafast Temperature Gradient Chemical Gas-Phase Synthesis. Advanced Materials 24:543-548.
- Limpert E, Stahel WA, Abbt M (2001) Log-normal Distributions across the Sciences: Keys and Clues. BioScience 51:341-352.
- Fan HJ, Knez M, Scholz R, Nielsch K, Pippel E, Hesse D, Zacharias M, Gösele U (2006) Monocrystalline spinel nanotube fabrication based on the Kirkendall effect. Nature Materials 5:627-631.
- Fan HJ, Knez M, Scholz R, Hesse D, Nielsch K, Zacharias M, Gösele U (2007) Influence of Surface Diffusion on the Formation of Hollow Nanostructures Induced by the Kirkendall Effect: The Basic Concept. Nano Letters 7:993-997.
- Fontañá-Troitiño N, Liébana-Viñas S, Rodríguez-González B, Li Z-A, Spasova M, Farle M, Salgueiriño V (2014) Room-Temperature Ferromagnetism in Antiferromagnetic Cobalt Oxide Nanooctahedra. Nano Letters 14:640-647.
- Goniakowski J, Finocchi F, Noguera C (2008) Polarity of oxide surfaces and nanostructures. Reports on Progress in Physics 71:016501.
- González E, Arbiol J, Puentes VF (2011) Carving at the nanoscale: sequential galvanic exchange and Kirkendall growth at room temperature. Science 343:1377-1380.
- Guerrero-Martínez A, Pérez-Juste J, Liz-Marzán LM (2010) Recent progress on silica coating of nanoparticles and related nanomaterials. Advanced Materials 22:1182-1195.

- Hammond C (2009) Basics of crystallography and diffraction, 3rd ed. Oxford Science Publications.
- Iler RK (1979) The Chemistry of silica. John Wiley & Sons, New York.
- Kapteyn JC (1903) Skew Frequency Curves in Biology and Statistics. Groningen: Noordhoff.
- Koole R, Schooneveld MM van, Hilhorst J, Donegá CDM, Hart DC, Blaaderen A van, Vanmaekelbergh D, Meijerink A (2008) On the incorporation mechanism of hydrophobic quantum dots in silica spheres by a reverse microemulsion method. *Chemistry of Materials* 11:2503–2512.
- Lippert JL, Melpolder SB, Kelts LM (1988) Raman spectroscopic determination of the pH dependence of intermediates in sol-gel silicate formation *Non-Crystalline Solids* 104:139-147.
- Oh MH, Yu T, Yu S-H, Lim B, Ko K-T, Willinger M-G, Seo D-H, Kim BH, Cho MG, Park J-H, Kang K, Sung Y-E, Pinna N, Hyeon T (2013) Galvanic replacement reactions in metal oxide nanocrystals. *Science* 340:964–968.
- Pankhurst QA, Connolly J, Jones SK, Dobson J (2003) Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics* 36:R167–R181.
- Sherman-Hsu P (1997) Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. Prentice Hall.
- Shim JH, Nam KM, Seo WS, Song H, Park JT (2011) The Role of Water for the Phase-Selective Preparation of Hexagonal and Cubic Cobalt Oxide Nanoparticles. *Chemistry, an Asian Journal* 6:1575–1581.
- Smigelkas AD, Kirkendall EO (1947) Diffusion of Zinc in Alpha Brass. *Transactions of the American Institute of Mining and Metallurgical Engineers* 171:130-142.
- Sonström P, Bäumer M (2011) Supported colloidal nanoparticles in heterogeneous gas phase catalysis: on the way to tailored catalysts. *Physical Chemistry Chemical Physics* 13:19270-19284.
- Spaldin NA (2003) Magnetic Materials. Cambridge University Press.
- Stöber W, Fink A, Bohn E (1968) Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. *Journal of colloid and interface science* 26:62-69.
- Wang J, Johnston-Peck AC, Tracy JB (2009) Nickel phosphide nanoparticles with hollow, solid, and amorphous structures. *Chemistry of Materials* 21:4462–4467.
- Williams DH, Flemming I (1995) Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, 5th ed. McGraw-Hill.
- Xia X, Wang Y, Ruditskiy A, Xia Y (2013) 25th anniversary article: galvanic replacement: a simple and versatile route to hollow nanostructures with tunable and well-controlled properties. *Advanced Materials* 25:6313–6333.
- Yin Y, Alivisatos AP (2005) Colloidal nanocrystal synthesis and the organic–inorganic interface. *Nature* 437:664–670.
- Yin Y, Rioux RM, Erdonmez CK, Hughes S, Somorjai GA, Alivisatos AP (2004) Formation of hollow nanocrystals through the nanoscale Kirkendall effect. *Science* 304:711-714.

EFFECTOS CELULARES Y MOLECULARES DE NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA EN CÉLULAS NEURONALES HUMANAS*

Natalia Fernández-Bertólez^{1,2}, Gözde Kiliç^{1,2}, Carla Costa^{3,4}, Fátima Brandao^{3,4}, Eduardo Pásaro¹, João Paulo Teixeira^{3,4}, Blanca Laffon¹,
Vanessa Valdiglesias¹

¹Grupo DICOMOSA, Departamento de Psicología, Área de Psicobiología, Universidade da Coruña, Edificio de Servicios Centrales de Investigación, Campus Elviña s/n, 15071-A Coruña, Spain. ²Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidade da Coruña;

³Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Portugal; ⁴ISPUP-EPIUnit, Universidade do Porto, Portugal.

Correspondencia: blaffon@udc.es

RESUMEN

Las nanopartículas de óxido de hierro (ION) tienen un gran potencial en muchas aplicaciones biomédicas, pero son todavía escasos los estudios sobre su toxicidad. En este trabajo se ha realizado la caracterización de los efectos citotóxicos y genotóxicos de ION recubiertas con sílice en células neuronales humanas. A pesar de ser internalizadas de forma efectiva por las células, las ION presentaron en general baja citotoxicidad; se obtuvieron resultados positivos solamente a las concentraciones más elevadas o al tiempo de incubación más prolongado testados. Las determinaciones de genotoxicidad en medio sin suero fueron negativas en todos los casos; en medio completo se obtuvo incremento en el daño primario en el ADN, no relacionado con roturas de cadena doble o pérdida cromosómica. Los resultados obtenidos proporcionan una mejor comprensión de la interacción de las ION con los sistemas celulares y de sus posibles consecuencias, específicamente a nivel del sistema nervioso.

Palabras clave: citotoxicidad; genotoxicidad; magnetita; nanopartículas; neuronas humanas

* Premio de Investigación 2015 da Real Academia Galega de Ciencias

ABSTRACT

Iron oxide nanoparticles (ION) have a great potential in many biomedical applications, but studies on their toxicity are still scarce. In this work, cytotoxic and genotoxic effect of silica-coated ION were characterized on human neuronal cells. In spite of being efficiently taken up by the cells, ION showed in general low cytotoxicity; positive results were only obtained at the highest concentrations and longest treatment times tested. Genotoxicity evaluations in serum-free medium were negative in all cases; in complete medium increase in primary DNA damage was observed, not related to double strand breaks or chromosome loss. The results obtained provide a better understanding of ION interaction with cell systems and its possible consequences, especially on the nervous system.

Keywords: cytotoxicity; genotoxicity; human neurons; magnetite; nanoparticles

INTRODUCCIÓN

1. Nanotecnología y nanopartículas

La nanotecnología se puede definir como la investigación científica y el desarrollo tecnológico que permiten entender, a nivel atómico y molecular, todos los fenómenos que ocurren a escala nanométrica, con el fin de utilizar este conocimiento para crear estructuras, materiales, dispositivos y sistemas de complejidad creciente que posean nuevas propiedades y realicen nuevas funciones debido al pequeño tamaño de sus componentes. La nanotecnología se está desarrollando en estos momentos a un ritmo frenético en un número creciente de laboratorios de entidades públicas y privadas de todo el mundo, y en los últimos años ha crecido considerablemente la producción y el empleo de nuevos nanomateriales en la industria para muy diversas aplicaciones (Savolainen et al., 2010).

Los nanomateriales son, por definición, materiales cuyo tamaño oscila, en alguna de sus tres dimensiones, entre 1 y 100 nm, confiriéndoles este pequeño tamaño propiedades únicas y diferentes de las del mismo material a mayor escala, debido fundamentalmente a la mayor área superficial que les proporciona una reactividad muy superior (Auffan et al., 2009). Según el número de dimensiones que tengan en la nanoescala, estos materiales se clasifican en nanosuperficies (solo una dimensión), nanohilos o nanotubos (dos

dimensiones) y nanopartículas (las tres dimensiones), siendo estas últimas las más frecuentemente utilizadas.

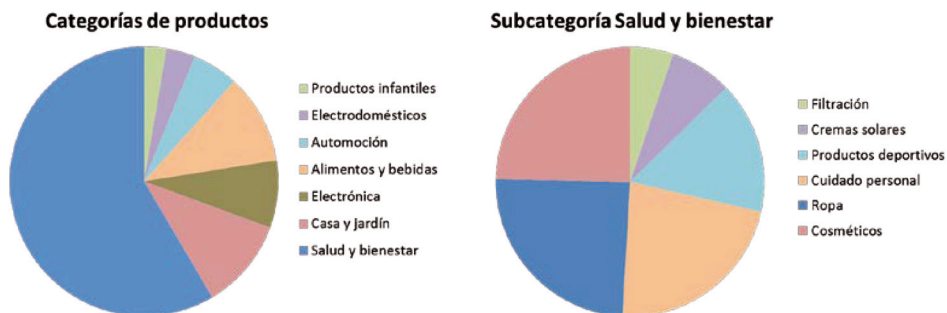


Figura 1. Distribución de los productos de consumo disponibles en el mercado que contienen nanomateriales (adaptado de la base de datos Woodrow Wilson, 2009).

Los nanomateriales pueden ser orgánicos o inorgánicos, y sus usos potenciales incluyen ahorro de energía para vehículos, desarrollo de energías renovables, disminución de la contaminación, filtración del agua, materiales de construcción, aplicaciones cosméticas (maquillajes, cremas de protección solar, etc.), textiles, electrónicas, pinturas y tintas, entre otras (Doak et al., 2009). Asimismo, se han desarrollado aplicaciones biomédicas de las nanopartículas para liberación de medicamentos, terapias farmacológicas, prótesis, técnicas de imagen *in vivo*, diagnóstico *in vitro* e implantes activos (Salata 2004; Wagner et al., 2006). En concreto, en los últimos años se ha concentrado una gran atención en la utilización de nanopartículas para el tratamiento y diagnóstico de enfermedades neurológicas, tales como las enfermedades de Parkinson o Alzheimer, la esclerosis múltiple, neoplasias del sistema nervioso o enfermedades neurodegenerativas visuales (Kanwar et al., 2012). Actualmente hay más de 1.800 productos comercializados con usos muy diversos que contienen nanomateriales (Figura 1).

Junto con el rápido crecimiento de la industria de la nanotecnología se produce la expansión de la cantidad y tipos de nanomateriales manufacturados, lo que da lugar a exposiciones ocupacionales potencialmente elevadas, y a exposición de la población general a través de la utilización de los productos que las contienen y de sus productos de desecho (Tetley 2007). Es por ello que, desde la primera década de este siglo, existe una creciente preocupación por los potenciales efectos adversos para la salud humana de la exposición a nanomateriales. Esta preocupación se ve reflejada en creciente número de artículos científicos publicados sobre “nanotoxicidad” o “nanotoxicología” en los últimos años; antes de 2005 eran prácticamente inexistentes (Figura 2).

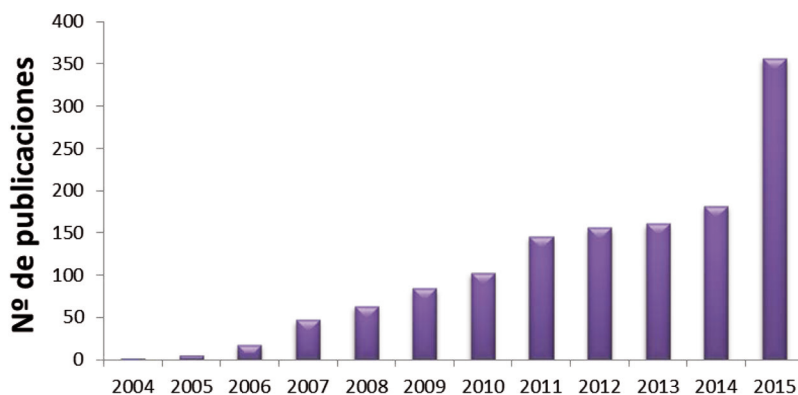


Figura 2. Número de publicaciones científicas sobre “nanotoxicidad” o “nanotoxicología”. Datos obtenidos de la base de datos Thomson Reuters Web of Science™

Numerosos autores muestran su acuerdo en que la progresiva presencia en el mercado de productos que contienen nanomateriales constituye un riesgo potencial emergente (Clift et al., 2011), principalmente debido a que los posibles efectos tóxicos de estos nanomateriales no han sido todavía caracterizados y pueden diferir notablemente de los propios del material de que están compuestos cuando se encuentra en una escala mayor (Seaton et al., 2010). La reducción en el tamaño proporciona una mayor biodisponibilidad, que se acompaña de un incremento en la capacidad para que los nanomateriales sean absorbidos por los sistemas biológicos (Das et al., 2009). Además, las partículas y materiales en el rango nanométrico pueden causar daños debido a su elevada reactividad (Santamaría 2012). Los organismos vivos están compuestos de células cuyo tamaño es habitualmente de 10-100 μm . Sin embargo, los componentes celulares son mucho más pequeños, y las proteínas, el ADN y otras biomoléculas son incluso menores, encontrándose en un rango de tan solo 5-50 nm. Esta sencilla comparación de tamaños da una idea de que los nanomateriales pueden resultar útiles para acceder a la maquinaria celular con objetivos diversos (Salata 2004, Taton 2002), pero también pueden interaccionar fácilmente con cualquier componente celular para causar efectos tóxicos.

Como consecuencia, instituciones y organizaciones de todo el mundo, tales como el *US National Institute for Occupational Safety and Health* (2006), el *Department for Environment, Food and Rural Affairs of the United Kingdom Government* (2007), la *European Commission Joint Research Centre* (2011) y el *DECHEMA/VCI working group “Responsible Production and Use of Nanomaterials”* (2011) resaltan la necesidad de incrementar el cono-

cimiento sobre este tema y han publicado informes en los que se establece el riesgo potencial de los nanomateriales y se identifican prioridades para acciones futuras, ya que muchas cuestiones permanecen abiertas y la información disponible sobre la exposición a estos nuevos materiales es hoy día muy limitada.

2. Nanopartículas de óxido de hierro

Las nanopartículas de óxido de hierro (ION, de *iron oxide nanoparticles*) acaparan mucha atención no sólo por sus propiedades superparamagnéticas (que consisten en poseer un elevado momento magnético en presencia de un campo magnético externo, pero cuando el campo es cero no presentan momento magnético remanente), sino también porque tienen un gran potencial para ser utilizadas en muchas aplicaciones biomédicas como la liberación de medicamentos (Vasir y Labhasetwar 2005, Sun et al., 2008), el incremento del contraste en imagen por resonancia magnética (Bjornerud y Johansson 2004, Lodhia et al., 2009) y la destrucción dirigida de tejidos tumorales a través de la hipertermia que producen al someterse a campos magnéticos alternos (Moroz et al., 2002, Le Renard et al., 2009). En la Figura 3, que muestra los artículos científicos publicados sobre ION desde 1989, se observa un incremento muy notable en estos trabajos desde el inicio del siglo XXI. Específicamente en lo que se refiere a aplicaciones neurológicas, las ION pueden utilizarse en el seguimiento de células madre trasplantadas, en la identificación de eficiencias de transcripción, y en la detección de péptidos beta-amiloides en enfermedades neurodegenerativas como la de Alzheimer (revisado en Suh et al., 2009).

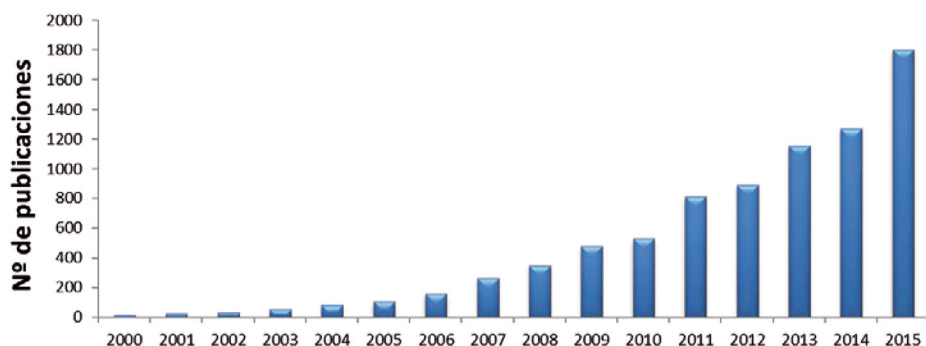


Figura 3. Número de publicaciones científicas sobre “nanopartículas de óxidos de hierro”. Datos obtenidos de la base de datos Thomson Reuters Web of Science™.

Hay varios tipos de ION, en los que se incluyen la hematita $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y la magnetita (Fe_3O_4). De entre ellos, la magnetita resulta muy prometedora debido a su probada biocompatibilidad (Gupta y Gupta 2005).

En general, las ION tienden a agregarse, por lo que se recubren con diferentes materiales (por ejemplo sílice, dextrano, ácido oleico, citrato, etc.) para estabilizarlas, prevenir su agregación, ser utilizadas de forma efectiva en aplicaciones clínicas y mejorar su biocompatibilidad y biodistribución. Estos recubrimientos pueden modificar la toxicidad de las ION incrementando o reduciendo su interacción con diversos componentes celulares (Singh et al., 2009). Así, Sun et al. (2007) demostraron que ION recubiertas con oleato sódico presentaban una mejor biocompatibilidad, propiedades magnéticas y dispersión que las mismas nanopartículas recubiertas con polietilenglicol. Por otra parte, la estabilidad de estos recubrimientos y las consecuencias de su alteración en el medio ambiente celular son todavía desconocidas.

Las ION son biodegradables; son procesadas por las células como parte del metabolismo fisiológico del hierro, evidenciado por el incremento temporal en los valores de hierro libre en suero tras su administración (Weissleder et al., 1989). Sin embargo, este proceso también depende en gran medida del recubrimiento de las partículas. El hierro es un metal esencial fundamentalmente por su capacidad redox, pero altos niveles de iones de hierro libres pueden causar desequilibrios en la homeostasis orgánica y conducir a estrés oxidativo (Puntarulo 2005) y respuestas celulares aberrantes que incluyen daño en el ADN, eventos epigenéticos y procesos inflamatorios (Häfeli et al., 2009, Veranth et al., 2007).

2.1. Toxicidad general

Dado que varias de las aplicaciones de las ION, como el diagnóstico por imagen, la liberación de medicamentos o la destrucción de tumores por hipertermia, requieren su introducción en el organismo, el conocimiento de los riesgos potenciales asociados con la exposición a estas nanopartículas resulta esencial. De hecho, ya hay agentes de contraste que contienen ION que han sido aprobados para su uso en clínica para imagen por resonancia magnética y están disponibles comercialmente.

En general, parece que las ION inducen mayores niveles de toxicidad que las partículas mayores de este material. En concreto, se ha observado que estas nanopartículas inducen ligera o ninguna toxicidad celular (citotoxicidad) en estudios con distintas células eucariotas (Cheng et al., 2005, Karlsson et al., 2008, Xiao-Feng et al., 2009, Wang et al., 2009, Avdeev et al., 2010, Hildebrand et al., 2010, Pfaller et al., 2010, Xuan et al., 2011), aunque también se han descrito resultados positivos (Choi et al., 2009). Además, todavía no está

claro si se pueden producir otras respuestas celulares como consecuencia de la exposición a estas nanopartículas, incluso en ausencia de citotoxicidad, tales como daño en el ADN, estrés oxidativo, disfunción de la membrana mitocondrial o alteraciones en la dinámica del ciclo celular. Además, el conocimiento sobre la toxicidad genética (genotoxicidad) de estas nanopartículas es aún menor, ya que hasta la fecha se han realizado escasos estudios que la aborden, obteniendo resultados en gran medida contradictorios utilizando ensayos de uso muy frecuente como son el ensayo del cometa (Karlsson *et al.*, 2008, Malvindi *et al.*, 2014), o el test de micronúcleos (MN) (Shah *et al.*, 2013, Zhang *et al.*, 2012, Pfaller *et al.*, 2010, Wang *et al.*, 2009). De todos estos trabajos se recoge que los resultados obtenidos hasta la fecha en lo referente a la cito- y genotoxicidad de las ION no son en absoluto concluyentes, probablemente debido al uso de ION con diferente tamaño, carga, estado de agregación, pureza o recubrimiento, y a los diferentes sistemas de evaluación utilizados (Zhao y Castranova 2011), por lo que se requieren estudios detallados con diferentes variantes de ION, ya que la interacción de éstas con los sistemas celulares puede diferir de forma importante (Kunzmann *et al.*, 2011).

2.2. Neurotoxicidad

Por otra parte, los estudios sobre la posible **neurotoxicidad** y los efectos de las ION sobre el sistema nervioso son muy escasos. Hoy en día, existe una imperiosa necesidad de estudiar y caracterizar los efectos que la exposición a estas nanopartículas pueda ejercer sobre el tejido neuronal, especialmente desde que se han obtenido evidencias irrefutables de que algunas nanopartículas pueden acceder al cerebro de pequeños animales directamente a través de transporte axonal por el nervio olfatorio (Wang *et al.*, 2008), o indirectamente atravesando la barrera hematoencefálica tras diferentes rutas de administración (revisado en Hu y Gao, 2010). El cerebro es particularmente vulnerable al daño oxidativo, debido a su elevado contenido en ácidos grasos fácilmente peroxidables, a su alta tasa de consumo de oxígeno y a su relativa escasez en enzimas antioxidantes comparado con otros órganos (Skaper *et al.*, 1999). En consecuencia, es preciso evaluar detalladamente la neurotoxicidad de las ION, ya que el estrés oxidativo está implicado en la patogénesis de enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson, el Alzheimer o la corea de Huntington (Kim *et al.*, 2012). La información de la que se dispone actualmente sobre las consecuencias de la exposición de células neuronales a ION es también escasa. El tratamiento de células neuronales de rata (PC12) con estas NP produjo una pérdida severa de la viabilidad celular y de la capacidad de diferenciación (Pisanic *et al.*, 2007); sin embargo, no se observó citotoxicidad tras el tratamiento, aunque sí afectó a la adhesión celular y se incrementó el contenido de hierro intracelular en astrocitos (Au *et al.*, 2007; Geppert *et*

al., 2009 y 2011; Hohnholt *et al.*, 2010a) y en oligodendrocitos (Hohnholt *et al.*, 2010b), ambos de rata.

Por todo lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se planteó la evaluación *in vitro* de un amplio espectro de aspectos relacionados con la citotoxicidad y genotoxicidad de unas ION (magnetita) recubiertas con sílice en células neuronales humanas, como primer paso en el conocimiento de la interacción de estas nanopartículas con el organismo, y previo al planteamiento de su estudio en modelos animales, de mayor coste e implicaciones éticas. Inicialmente se caracterizaron las propiedades físico-químicas de las nanopartículas en suspensión acuosa (tamaño, morfología, tamaño hidrodinámico medio, distribución de tamaño, potencial zeta y reactividad química superficial), su capacidad para liberar iones de hierro al medio y su posible captación por parte de las células neuronales. Posteriormente los efectos citotóxicos se evaluaron mediante el estudio de la viabilidad celular, la actividad enzimática mitocondrial, las alteraciones del ciclo celular, los índices de muerte celular por apoptosis y necrosis y las alteraciones de la membrana citoplasmática. Los posibles efectos genotóxicos se analizaron a distintos niveles: lesiones o roturas de cadena en el ADN, frecuencia de micronúcleos, fosforilación de la histona variante H2AX y daño oxidativo. Y por último se determinaron posibles alteraciones en la capacidad de reparación celular mediante el empleo del ensayo de competencia de reparación.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Preparación y caracterización de las suspensiones de nanopartículas

Para realizar este trabajo se utilizaron nanopartículas de núcleo de magnetita (Fe_3O_4) recubiertas con sílice (tamaño aproximado 20 nm) que fueron sintetizadas y preparadas en suspensiones madre estables (5 mg/ml, en agua) siguiendo el protocolo descrito por Yi *et al.* (2006). Antes de cada tratamiento, se preparó una suspensión intermedia de 1 mg/ml en agua, en medio de cultivo incompleto, o en medio de cultivo completo (suplementado con suero bovino fetal), que fue sonicada utilizando un baño de ultrasonidos durante 5 min para garantizar una buena dispersión de las nanopartículas. Para las posteriores concentraciones de ION necesarias para los distintos tratamientos, se prepararon diluciones seriadas partiendo de esta suspensión intermedia que fueron igualmente sonicadas.

Antes de realizar los experimentos de toxicidad, se llevó a cabo una exhaustiva caracterización físico-química de las ION empleando para ello dis-

tintas metodologías. En primer lugar, se empleó la microscopía electrónica de transmisión (TEM, *Transmission Electron Microscopy*), usando un microscopio HITACHI H-8100 equipado con EDS (ThermoNoran, Thermo Scientific) operando a 200 kV, para determinar el tamaño exacto de las nanopartículas y su morfología. Las imágenes obtenidas fueron luego analizadas mediante *ImageJ*, un software específico de dominio público. Posteriormente, se empleó el análisis de la dispersión dinámica de luz (DLS, *Dynamic Light Scattering*) para la determinación de su tamaño hidrodinámico y su potencial zeta usando un dispositivo Zetasizer Nano-ZS equipado con un láser de 633 nm y 4.0 mW (modelo ZEN 3600, Malvern Instruments Ltd.). Estos análisis se realizaron a una concentración de 300 µg/ml en solución acuosa y en medio de cultivo incompleto (libre de suero que contiene gran cantidad de proteínas que pueden interaccionar con la superficie de las nanopartículas) y completo, para evaluar la estabilidad de las partículas en las distintas suspensiones, o su estado de agregación. Y finalmente, para determinar la reactividad química superficial de las ION se empleó espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS, *X-Ray Photoelectron Spectroscopy*). El análisis XPS se realizó con un equipo ESCALAB 200A (VG Scientific) asociado a un programa específico, PISCES, para la adquisición y análisis de los datos recogidos.

La información obtenida de esta caracterización permitió optimizar las condiciones en las que llevar a cabo los estudios biológicos *in vitro*.

2. Cultivo celular y tratamientos

Para testar los posibles efectos neurotóxicos de las ION a estudio se utilizó la línea celular SHSY5Y, de neuroblastoma humano, que se obtuvo de la Colección Europea de Cultivos Celulares (ECACC, *European Collection of Authenticated Cell Cultures*).

Las células se mantuvieron en medio de cultivo compuesto de EMEM/F12 (1:1) con 1% de aminoácidos no esenciales, 1% de antibiótico y antimicótico, y 10% de suero bovino fetal, en atmósfera con 5% de CO₂ y a 37°C. Veinticuatro horas antes de la realización de los experimentos, las células se pasaron a nuevos pocillos (en placas de 96) a una concentración aproximada de 2.5-7x10⁴ células/pocillo según la técnica a realizar. Para llevar a cabo los tratamientos, transcurrido ese tiempo se retiró el medio y se añadieron las suspensiones de ION, en medio incompleto o completo (suplementado con suero bovino fetal) según correspondiese en cada caso. Como control negativo se utilizó siempre el mismo medio de cultivo empleado en los tratamientos pero sin nanopartículas, y como controles positivos se emplearon Triton X-100 (1%) para evaluar la viabilidad celular y la integridad de la membrana celular,

camptotecina (10 μM) para el análisis de la muerte celular, mitomicina C (1.5 μM) para el test de MN y el ciclo celular, bleomicina (1 $\mu\text{g/ml}$) para el ensayo del cometa y el análisis de γH2AX , y H_2O_2 (100 μM durante 5 min) para el estudio del daño oxidativo.

3. Viabilidad celular

Para la evaluación de la viabilidad celular se testaron un total de 10 concentraciones (5-300 $\mu\text{g/ml}$) y 3 tiempos de exposición (3, 6 y 24 h). La viabilidad celular se analizó mediante el test MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol] siguiendo el protocolo descrito por Mossman (1983). La absorbancia a 570 nm se midió utilizando un lector Cambrex ELx808 (KC4; Biotek). Se realizaron también experimentos sin células para testar las posibles interferencias entre las ION y los procedimientos propios del ensayo.

De los resultados obtenidos en el análisis de la viabilidad celular se seleccionaron cuatro concentraciones (10, 50, 100 y 200 $\mu\text{g/ml}$) y dos tiempos de exposición (3 y 24 h) para la realización de los ensayos posteriores.

4. Liberación de iones

Para cuantificar las concentraciones de iones de hierro liberadas de las ION al medio de cultivo, se incubaron suspensiones de las nanopartículas en medio incompleto o completo (10, 50, 100 y 200 $\mu\text{g/ml}$) durante 3, 6 y 24 h a 37°C en atmósfera con 5% de CO_2 . Tras una centrifugación a 14.000 rpm durante 30 min se recuperó el sobrenadante para determinar en él el contenido de hierro por espectroscopía de absorción atómica con ionización de llama, mediante un equipo Thermoelemental Solaar S4 v.10.02. Se utilizó como control negativo medio de cultivo sin ION pero sometido a las mismas condiciones anteriores.

5. Captación celular

La captación por parte de las células de las ION se determinó mediante citometría de flujo (FACScalibur, Becton Dickinson) siguiendo la técnica propuesta por Suzuki *et al.* (2007), con el fin de determinar si las nanopartículas objeto de estudio pueden penetrar en las células o si, por el contrario, únicamente pueden interactuar externamente con la membrana celular.

El análisis se llevó a cabo en base al estudio del tamaño y la complejidad celular según la detección de la dispersión frontal (FSC, *Forward Scatter*) y la dispersión lateral (SSC, *Side Scatter*) de la luz incidente en las células, respectivamente. Los datos fueron adquiridos a partir de un mínimo de 20.000 eventos por muestra utilizando un citómetro de flujo FACScalibur (Becton Dickinson).

6. Citotoxicidad

6.1. Ciclo celular

La distribución de células en las diferentes fases del ciclo celular se examinó mediante el análisis por citometría de flujo (FACScalibur, Becton Dickinson) del contenido relativo en ADN celular siguiendo lo descrito por Valdiglesias *et al.* (2011a). El contenido de ADN se evaluó a partir de la señal de yoduro de propidio (PI, *propidium iodide*) detectada en un mínimo de 10.000 eventos, y se utilizó el programa *Cell Quest Pro* (Becton Dickinson) para calcular el porcentaje de ocupación de las regiones subG₁, G₀/G₁, S y G₂/M en los histogramas del ciclo celular.

6.2. Muerte celular

La tasa de células en apoptosis y necrosis se determinó mediante doble tinción con anexina V e yoduro de propidio utilizando citometría de flujo (FACScalibur, Becton Dickinson) y un kit comercial (BD Pharmingen™ Annexin V–FITC apoptosis detection kit I). Se adquirieron un mínimo de 10.000 eventos, tomando los datos de los canales FL1 (anexina V-FITC) y FL2 (PI). Los datos fueron analizados utilizando el programa *Cell Quest Pro* (Becton Dickinson). Los índices de apoptosis y necrosis se expresaron como los porcentajes de eventos anexinaV+/PI- y anexinaV+/PI+, respectivamente.

6.3. Integridad de la membrana plasmática

Para evaluar la integridad de la membrana celular se analizó la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en el medio de cultivo celular mediante un método espectrofotométrico utilizando un kit comercial (Roche Diagnostics), siguiendo las instrucciones del fabricante. Esta enzima está presente normalmente en el citoplasma de las células vivas y sólo se libera en el medio de cultivo al permeabilizarse la membrana, proceso que ocurre en células muertas o moribundas. La absorción a 490 nm se midió en un lector Cambrex ELx808, empleando como longitud de onda de referencia 655 nm. Se utilizó como control positivo Tritón X-100 al 1%, que se estableció como 100% de citotoxicidad. La liberación de LDH se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{LDH (\%)} = \frac{([A]_{\text{muestra}} - [A]_{\text{medio}})}{([A]_{\text{control positivo}} - [A]_{\text{medio}})} \times 100$$

donde $[A]_{\text{muestra}}$, $[A]_{\text{medio}}$ y $[A]_{\text{control positivo}}$ denotan la absorbancia de la muestra, el control negativo y el Tritón X-100, respectivamente.

7. Genotoxicidad

7.1. Ensayo γ H2AX

Para analizar la tasa de fosforilación de la histona H2AX (γ H2AX) se utilizó una metodología de citometría de flujo descrita por Tanaka *et al.* (2009). Se adquirieron un mínimo de 10.000 eventos con un citómetro de flujo FACScalibur (Becton Dickinson), capturando los datos de los canales FL1 (γ H2AX-Alexa Fluor® 488) y FL2 (PI), y se analizaron empleando el programa *Cell Quest Pro* (Becton Dickinson). Los niveles de γ H2AX se obtuvieron del porcentaje de eventos PI+/ γ H2AX+.

7.2. Test de micronúcleos

Tras los tratamientos con las ION, las células se incubaron durante otro periodo adicional de 24h en medio de cultivo fresco. Posteriormente se preparó una suspensión de núcleos y MN de acuerdo con el protocolo descrito por Nüsse *et al.* (1994) y Roman *et al.* (1998). La proporción de MN en la suspensión final se analizó con un citómetro de flujo FACScalibur (Becton Dickinson) siguiendo lo descrito por Avlasevich *et al.* (2006).

7.3. Ensayo del cometa

La determinación del daño primario en el ADN se realizó empleando la electroforesis en microgel de células aisladas, conocida comúnmente como ensayo del cometa, realizada según el protocolo general descrito por Singh *et al.* (1988). La captura y análisis de imagen se realizó utilizando el programa Comet IV (Perceptive Instruments). En todos los casos se evaluaron 100 células por condición experimental. Como parámetro para determinar el daño en el ADN se escogió el porcentaje de ADN en la cola del cometa (%tDNA).

7.4. Daño oxidativo en el ADN

La evaluación del daño oxidativo en el ADN se llevó a cabo con una modificación del ensayo del cometa que incorpora un paso adicional de incubación con la enzima de reparación OGG1 (8-hidroxiguanina ADN-glucosilasa), siguiendo el protocolo propuesto por Smith *et al.* (2006). La enzima OGG1 es una glucosilasa que reconoce específicamente las guaninas oxidadas en la posición 8 (8-oxoGua), un reconocido biomarcador de daño oxidativo, y corta

el ADN en los puntos donde se encuentran, generando así nuevas roturas de cadena. Estos cortes se traducen en un mayor porcentaje de ADN en la cola del cometa (%tDNA), que sería indicativo del daño oxidativo inducido en el material genético.

8. Ensayo de competencia de reparación

Los efectos de las ION sobre la capacidad de reparación del ADN de las células neuronales se evaluaron con el ensayo de competencia de reparación. Consistió en tres fases consecutivas: (i) en la fase A (pretratamiento) las células fueron incubadas durante 3 o 24 h en presencia o ausencia de ION (50 µg/ml) a 37°C; (ii) en la fase B (inducción del daño en el ADN) las células se trataron con H₂O₂ (100 µM) durante 5 min a 37°C en presencia o ausencia de ION (50 µg/ml); y (iii) en la fase C (reparación) las células se lavaron en medio fresco para eliminar el tratamiento y se incubaron durante 30 min a 37°C en presencia o ausencia de ION (50 µg/ml) para permitir la reparación del ADN. El ensayo del cometa se realizó tal y como se describió en el apartado 7.3 después de la fase B (datos correspondientes a “antes de reparar”) y de la fase C (datos correspondientes a “después de reparar”).

Además las células fueron tratadas con ION (50 µg/ml) durante 30 min y se llevó a cabo el ensayo del cometa inmediatamente, a fin de evaluar si la incubación de 30 min con ION (como se realiza en la fase C) puede inducir daño significativo en el ADN.

9. Análisis estadístico

Para cada condición experimental testada se llevaron a cabo un mínimo de tres experimentos independientes y cada situación experimental fue realizada por duplicado dentro del mismo experimento. Los datos se expresaron como media ± error estándar. La distribución de las variables respuesta no se ajustó a la normalidad según el test de *Kolmogorov-Smirnov*, por lo que se utilizaron los test no paramétricos de *Kruskal-Wallis* y *Mann-Whitney* para evaluar la existencia de diferencias entre grupos. La existencia de posibles relaciones dosis-respuesta fue evaluada mediante el coeficiente de correlación de *Spearman*. Un *P*-valor inferior a 0.05 fue considerado como significativo. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 21.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las nanopartículas de óxido de hierro (ION) han sido uno de los primeros nanomateriales en ser oficialmente aprobados para su uso en clínica (Gould, 2006). Estas nanopartículas tienen gran potencial para ser utilizadas como contraste en técnicas de imagen por resonancia magnética y por sus propiedades térmicas en presencia de campos magnéticos. Además, debido a su facilidad para traspasar la barrera hematoencefálica, se emplean con frecuencia como transportadores de medicamentos, genes o proteínas, al tejido nervioso y más concretamente al cerebro (Thomsen *et al.*, 2013). A pesar de ello, poco se sabe sobre los efectos de las ION en el sistema nervioso humano. Los estudios publicados hasta la fecha en relación a la neurotoxicidad de estas nanopartículas son escasos, generalmente limitados a cultivos de células animales, y muestran resultados en gran medida inconsistentes (Chen *et al.*, 2012b; Kenzaoui *et al.*, 2012; Xiang *et al.*, 2003).

Debido a su elevada estabilidad química, una cubierta de sílice puede mejorar las ION aumentando su biocompatibilidad y proporcionándoles la capacidad de funcionalizar su superficie sin afectar a sus propiedades magnéticas (Kolhatkar *et al.*, 2013; Larumbe *et al.*, 2012; Rittikulsittichai *et al.*, 2013). Además, la cubierta de sílice también ayuda a convertir las nanopartículas hidrofóbicas en partículas hidrofílicas solubles en agua (Wu *et al.*, 2008), favoreciendo su difusión por el organismo. Sin embargo, a pesar de las numerosas ventajas y sus potenciales aplicaciones en neuromedicina, la posible neurotoxicidad asociada a la exposición a las ION recubiertas con sílice no ha sido abordada todavía en profundidad, siendo la información disponible al respecto casi inexistente en el caso concreto de células y tejido nervioso humano.

Sobre esta base y dada la importante laguna existente en este terreno, en este completo estudio investigamos la posible toxicidad de las ION recubiertas con sílice en células neuronales (células SHSY5Y, de neuroblastoma humano) usando un amplio rango de concentraciones y varios tiempos de exposición. Las células SHSY5Y fueron escogidas para llevar a cabo el estudio debido a que presentan las ventajas metodológicas típicas de una línea celular establecida, pero conservando además muchas de las propiedades bioquímicas y funcionales de las neuronas (Xie *et al.*, 2010). Es por ello que son consideradas un buen modelo celular ampliamente utilizado para testar neurotoxicidad. Junto con este objetivo general, y puesto que las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales pueden variar considerablemente dependiendo de su estabilidad y estado de agregación en medios líquidos, en este estudio también determinamos las posibles diferencias en la toxicidad de las ION cuando éstas se preparan en condiciones biológicas distintas, en concreto, en presencia o ausencia de suero en el medio.

1. Caracterización de las nanopartículas

La caracterización fisicoquímica de los materiales a estudio es esencial para la correcta descripción de su toxicidad (Sayes y Warheit, 2009). En el caso concreto de los nanomateriales, además de la caracterización primaria básica, también es necesario una completa determinación de otras propiedades biológicamente relevantes que pueden resultar muy significativas para sus efectos a esa escala (Warheit, 2008). La Tabla 1 recopila los resultados de la caracterización fisicoquímica de las ION utilizadas en este estudio, que se llevó a cabo empleando diversas metodologías y que incluyen tamaño, morfología, tamaño hidrodinámico medio, distribución de tamaño, potencial zeta y composición química superficial.

Por un lado, el análisis con TEM confirmó que se trata de partículas esféricas con un diámetro medio de 20.2 nm incluyendo la cubierta de sílice.

Tabla 1. Descripción físicoquímica de las ION recubiertas con sílice empleadas en el estudio.

Tamaño núcleo	10.0 ± 2.1 nm
Tamaño núcleo + cubierta	20.2 ± 2.9 nm
Morfología	esférica
Química superficial	C 1s: 9.07% N 1s: 0.27% O 1s: 60.02% Si 2p: 29.22% Fe 2p3: 1.41%
Dispersión en agua (300 µg/ml)	
Tamaño hidrodinámico	93.3 ± 0.5 nm
Potencial zeta	-31.8 ± 2.1 mV
Dispersión en medio de cultivo incompleto (300 µg/ml)	
Tamaño hidrodinámico	141.6 ± 1.4 nm
Potencial zeta	-21.7 ± 1.0 mV
Dispersión en medio de cultivo completo (300 µg/ml)	
Tamaño hidrodinámico	111.1 ± 1.1 nm
Potencial zeta	-10.3 ± 1.1 mV

Por otro, los resultados de la evaluación con DLS revelaron que el tamaño hidrodinámico medio de las ION resultó ser bastante estable en los diferentes medios de dispersión empleados (agua y medio de cultivo incompleto y completo), demostrando la baja tendencia a la aglomeración de estas nanopartículas. Todas las dispersiones mostraron carga negativa, aunque valores del potencial zeta indicando dispersiones coloidales estables (mayores a 30 mV en número absoluto) solamente se observaron en agua.

Puede sorprender que las ION, incluso cuando están dispersas en agua, presenten un diámetro mucho mayor cuando el tamaño es examinado por DLS que aquel determinado por TEM. Este aparente aumento en el diámetro se debe por un lado a las características hidrodinámicas de las nanopartículas, pero también a su estabilidad y su tendencia a aglomerarse. De hecho, estudios previos demostraron que un aumento del tamaño medido en el medio de cultivo celular era debido a la formación de aglomerados entre las nanopartículas (Bihari *et al.*, 2008). En el caso de nuestras ION, puede observarse cómo en las imágenes de TEM algunas partículas aparecen unidas (aglomeradas) por la capa de sílice, lo que resultaría en un diámetro hidrodinámico mucho mayor del esperado. Aun así, tamaños hidrodinámicos menores de 200 nm, como el obtenido en nuestro estudio, son en general aceptados como buenas dispersiones de las nanopartículas y con baja tendencia a la aglomeración.

Finalmente, el análisis de la química superficial llevado a cabo mediante XPS reveló que solo una pequeña fracción de la superficie de las ION recubiertas con sílice presenta hierro (en concreto, menos del 2%) confirmando la efectividad del recubrimiento. También se observó que las ION contienen carbono y nitrógeno en su superficie, posiblemente resultado de los distintos procesos de síntesis, como la microemulsión inversa de ciclohexano, hidróxido de amonio, y ortosilicato de tetraetilo.

En general, los resultados obtenidos de la caracterización de las ION revelaron la influencia de la presencia de suero en el medio en sus propiedades fisicoquímicas. El suero bovino fetal incluido en el medio completo está compuesto por una serie de proteínas que pueden interaccionar con las nanopartículas formando un recubrimiento o *corona* a su alrededor. Pronto se evidenció que la presencia de estas proteínas era capaz de modificar la superficie de nanomateriales y con ello su impacto biológico (Lynch y Dawson, 2008). Es por ello que la influencia de esta corona proteica en las propiedades y características de las nanopartículas ha sido extensamente estudiada en los últimos años. Diferentes estudios demostraron la importancia del suero como agente dispersante, mejorando tanto la dispersión de las nanopartículas como su estabilidad en el tiempo (Wiogo *et al.*, 2011). Además, en el caso concreto de las nanopartículas con propiedades magnéticas (como las de este estudio),

la presencia de la corona proporcionaría un efecto estérico que impediría la aglomeración de las mismas (Wiogo *et al.*, 2011).

2. Evaluación de la viabilidad celular

Tras exponer a las células neuronales a diferentes concentraciones de ION (0-300 µg/ml) durante distintos periodos de tiempo (3, 6 y 24 h), se realizó el ensayo MTT para evaluar el efecto de esta exposición sobre la viabilidad celular. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4. Cuando los tratamientos se realizaron en de medio de cultivo incompleto, se observaron descensos, ligeros aunque significativos, en la viabilidad de las células SHSY5Y a todos los tiempos de exposición empleados, siendo superiores al 30% sólo en el caso de la concentración más alta evaluada (300 µg/ml) tras 24h de tratamiento. Por el contrario, la exposición a ION en medio completo no tuvo efectos significativos sobre la viabilidad de las células a ninguna concentración ni tiempo de exposición analizados.

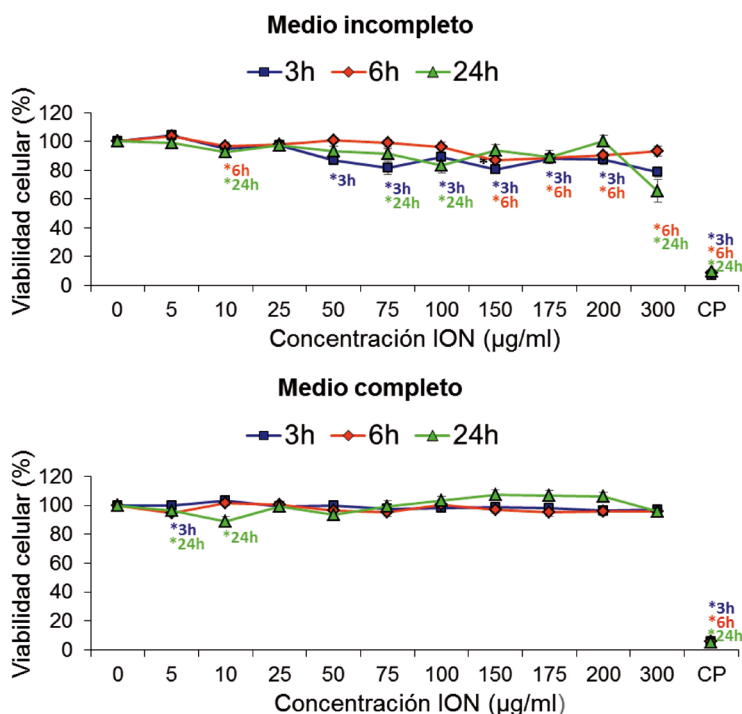


Figura 4. Resultados del ensayo MTT para evaluación de la viabilidad celular. *P<0.05, diferencias significativas respecto al control. CP: control positivo.

Los resultados observados en nuestro estudio apoyan los obtenidos en estudios previos donde se describe ausencia o muy reducida toxicidad de las ION, confirmando la elevada biocompatibilidad que presentan estos nanomateriales en distintos tipos celulares (Boyeret *et al.*, 2010). No obstante, algunos estudios que evaluaron específicamente los efectos neurotóxicos de estas nanopartículas describieron un descenso en la viabilidad de células de neuroblastoma de ratón (Jeng y Swanson, 2006), astrocitos inmaduros de rata (Au *et al.*, 2007), y células de médula adrenal de rata (Pisanic *et al.*, 2007), aunque en estos estudios, a diferencia del nuestro, además de emplear células del sistema nervioso de roedores, las ION empleadas estaban desnudas, sin cubierta de ningún tipo, en los dos primeros casos, o cubiertas con ácido dimercaptosuccínico, en el último.

Puesto que la reactividad de las nanopartículas está directamente relacionada con su dispersión, siendo la primera más elevada cuanto mejor es la segunda (Stone *et al.*, 2009), el estado de aglomeración y la presencia de una corona proteica pueden influir en gran medida en la toxicidad de las nanopartículas, debido tanto a la alteración que pueden causar en la dinámica de las partículas como a la consiguiente modificación de los patrones de interacción célula-partícula. En el caso de nuestras ION, un factor adicional que debe ser considerado es la presencia de carbono y nitrógeno en su superficie, lo que indica que los residuos resultantes de diversos procesos de síntesis siguen presentes en las nanopartículas. Hasta la fecha, se desconoce si estos residuos podrían presentar cierta toxicidad por sí mismos, o influir en la toxicidad propia de las ION, pero se trata de un importante factor de confusión que debe ser abordado en estudios posteriores (Crist *et al.*, 2013).

Como se mencionó anteriormente, la presencia de suero en el medio de cultivo celular es un factor importante a considerar, ya que se ha demostrado que su presencia puede dar lugar a diferentes efectos biológicos (Geys *et al.*, 2010). También se comprobó que la presencia de suero puede enmascarar la superficie reactiva de las nanopartículas, impidiendo su interacción con las células, lo que daría lugar a una menor captación celular y, en consecuencia, una reducción en los potenciales efectos tóxicos que puedan tener sobre ellas (Frohlich, 2013). Nuestros resultados confirman este efecto protector del suero ya que se observó un descenso en la viabilidad celular sólo al emplear medio incompleto.

3. Liberación de iones

La composición de los medios también influyó en los resultados obtenidos en el análisis de la liberación de iones de hierro. Así se encontró que, si bien cierta liberación se producía en todos los casos, difería bastante según se tratara

de medio de cultivo incompleto o completo (Figura 5). La liberación de iones fue considerablemente baja tras todos los tiempos analizados (3, 6 y 24 h) al emplear medio incompleto, pero se observaron importantes concentraciones de hierro disuelto, en general dependientes de la dosis y del tiempo de exposición, al suspender las ION en medio completo. A la concentración más alta testada se observa un aparente descenso en la liberación de iones de hierro con respecto a las concentraciones anteriores, debido probablemente a que las ION tienden a aglomerar a concentraciones tan elevadas, dificultando la liberación de los iones al medio.

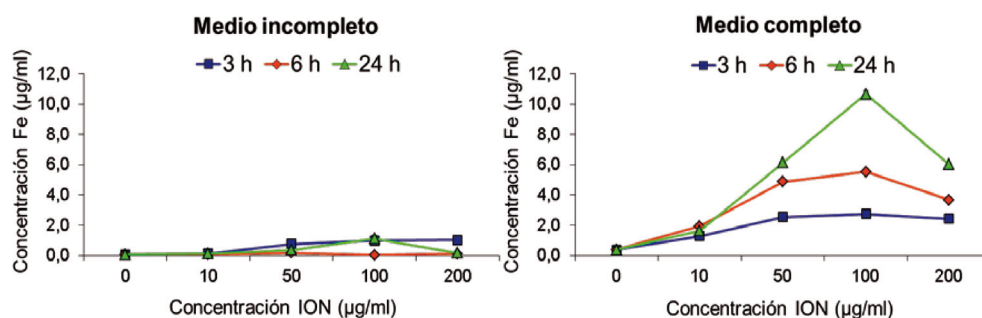


Figura 5. Resultados de los ensayos de liberación de iones de hierro por las ION al medio de cultivo celular.

La liberación de iones de hierro por parte de las ION al medio ya había sido descrita previamente en diversos estudios (revisado en Soenen y De Cuyper, 2009). Sin embargo, esta liberación puede variar dependiendo de las características de la suspensión (por ejemplo, el pH) y del revestimiento de la superficie de las nanopartículas (Malvindi *et al.*, 2014). La síntesis química, así como la presencia de algún recubrimiento, que rodea y aísla el material magnético del entorno, y sus propiedades fisicoquímicas, pueden influir en la tasa de degradación de las partículas y, en consecuencia, en la liberación de los iones de hierro (Levy *et al.*, 2010; Mahon *et al.*, 2012). Esto podría explicar las diferencias encontradas en nuestro estudio, ya que las ION suspendidas en medio completo interactuarían externamente con las proteínas séricas, modificando así su capacidad para liberar iones.

4. Análisis de la captación celular

La evaluación de la captación celular de nanopartículas por citometría de flujo usando los parámetros de dispersión lateral de la luz (SSC), indicativa de la granularidad o complejidad celular, y de dispersión frontal (FSC), indicativa

del tamaño celular, es considerada una técnica adecuada para el cribado inicial de la toxicidad de los nanomateriales (Ibuki y Toyooka, 2012). La Figura 6 muestra los resultados obtenidos al evaluar la capacidad de las ION de penetrar en las células neuronales mediante este método. Las nanopartículas fueron internalizadas eficazmente por las células a todas las concentraciones testadas, siendo además esta captación dependiente de la dosis y del tiempo de exposición según confirman los coeficientes de correlación de *Spearman* obtenidos en el análisis estadístico (en medio incompleto: $r=0.824$, $P<0.01$ para 3 h de tratamiento y $r=0.877$, $P<0.01$ para 24 h de tratamiento; y en medio completo: $r=0.737$, $P<0.01$ para 3 h de tratamiento y $r=0.692$, $P<0.01$ para 24 h de tratamiento). Estos resultados coinciden con otros estudios previos que muestran que las ION se internalizan también eficazmente en otros tipos celulares incluyendo macrófagos (Kunzmann *et al.*, 2011), células A549 de pulmón y células HeLa de cuello de útero (Malvindi *et al.*, 2014).

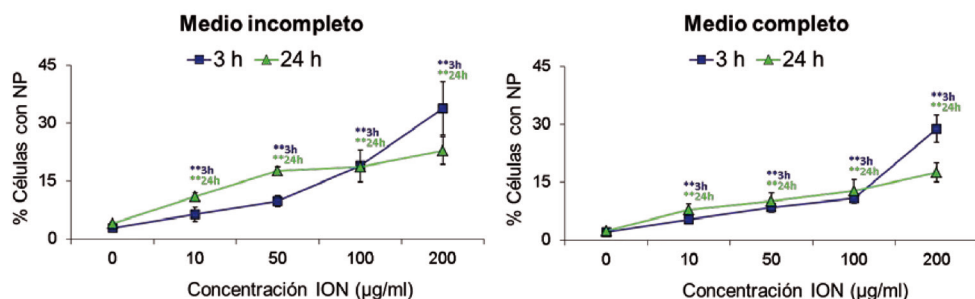


Figura 6. Resultados del análisis de captación celular. ** $P<0.01$, diferencias significativas respecto al control.

Sin embargo, cuando se compararon los medios utilizados, se observó que la captación fue ligeramente mayor en medio de cultivo incompleto, libre de suero, que la encontrada en medio completo. Las diferencias en la captación de nanopartículas según el medio empleado ya se recogen previamente en trabajos anteriores. Así Kraiss y colaboradores (2014) estudiaron el papel de las proteínas séricas en la captación de ION recubiertas con ácido fólico, y observaron que la presencia de una corona proteica en las nanopartículas puede influir en su grado de captación celular. Coincidiendo con estos resultados, también Salvati y colaboradores (2013) concluyeron que una unión excesiva de proteínas séricas a la superficie de las nanopartículas puede de hecho impedir su internalización por las células. Ambos estudios corroborarían los resultados encontrados en nuestro trabajo.

Independientemente del medio empleado, y a diferencia de lo que ocurre a concentraciones más bajas, se encontró además una mayor captación de ION en la concentración más alta testada a las 3 h en relación con la encontrada tras 24 h de exposición. Esta diferencia se debe probablemente a la progresiva aglomeración de nanopartículas a medida que aumenta la dosis y el tiempo de tratamiento, lo que provocaría una interferencia más notable con el proceso de captación durante el período de exposición más largo.

5. Evaluación de citotoxicidad

5.1. Ciclo celular

La maquinaria del ciclo celular consiste en un conjunto altamente ordenado de eventos que conducen a la división y duplicación de la célula (Morgan, 2007). La Tabla 2 muestra la distribución de células neuronales durante las diversas fases del ciclo celular analizadas mediante citometría de flujo tras su exposición a las ION. Los tratamientos de 3 h, independientemente del medio empleado, no modificaron en ningún caso el ciclo celular, resultados que concuerdan con los hallados en otros estudios previos en los que se testaron ION desnudas o recubiertas de forma distinta a las nuestras (revisado en Mahmoudi *et al.*, 2011).

Sin embargo, los tratamientos de 24 h mostraron alteraciones significativas del ciclo celular a la concentración más alta testada (200 µg/ml), en concreto una disminución del porcentaje de células en fase G₂/M acompañada de un notable, aunque no significativo, aumento de las células en fase S para el tratamiento en medio incompleto, y un aumento del porcentaje de células en fase S para el tratamiento en medio completo. Estas alteraciones fueron también descritas por Namvar *et al.* (2014) tras exponer células Jurkat (linfocitos T) a nanopartículas desnudas de magnetita, pero la dosis utilizada en este caso fue mucho menor (6.4 µg/ml, que corresponde a la concentración inhibitoria 50 [IC50], calculada mediante el ensayo MTT). En los ensayos de MTT realizados en el presente trabajo se obtuvieron porcentajes de viabilidad celular superiores al 70% en todas las condiciones testadas, por lo que se concluye que la citotoxicidad de las ION empleadas en el presente estudio son mucho menos citotóxicas, al menos para las células SHSY5Y, que las utilizadas por Namvar y colaboradores en las células Jurkat. Estas observaciones apoyan la idea generalizada de que las ION revestidas con sílice son en general menos tóxicas que las ION desnudas.

Tabla 2. Resultados del análisis del ciclo celular por citometría de flujo. ** $P < 0,01$, diferencias significativas respecto al control.

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Medio incompleto – 3h		
	G_0/G_1	S	G_2/M
Control negativo	76.39 $\pm$ 1.99	8.20 $\pm$ 0.54	15.42 $\pm$ 1.48
10	77.95 $\pm$ 1.96	8.02 $\pm$ 0.53	14.03 $\pm$ 1.45
50	79.91 $\pm$ 1.78	7.35 $\pm$ 0.52	12.74 $\pm$ 1.33
100	81.15 $\pm$ 1.28	7.37 $\pm$ 0.47	11.47 $\pm$ 0.82
200	75.74 $\pm$ 1.46	9.49 $\pm$ 0.57	14.77 $\pm$ 0.93
Control positivo	50.81 $\pm$ 8.60**	28.79 $\pm$ 6.59**	20.40 $\pm$ 2.43**
	Medio incompleto – 24h		
	G_0/G_1	S	G_2/M
Control negativo	61.30 $\pm$ 2.02	14.63 $\pm$ 2.10	24.07 $\pm$ 3.69
10	62.57 $\pm$ 2.59	14.83 $\pm$ 0.50	22.60 $\pm$ 2.81
50	64.74 $\pm$ 3.67	15.36 $\pm$ 1.98	19.89 $\pm$ 1.86
100	69.54 $\pm$ 3.77	13.51 $\pm$ 1.99	16.95 $\pm$ 1.80
200	65.77 $\pm$ 4.95	25.11 $\pm$ 5.27	9.12 $\pm$ 1.31**
Control positivo	44.24 $\pm$ 2.04**	38.90 $\pm$ 3.90**	16.86 $\pm$ 4.27**
	Medio completo – 3h		
	G_0/G_1	S	G_2/M
Control negativo	75.80 $\pm$ 1.15	8.21 $\pm$ 0.64	15.99 $\pm$ 0.51
10	75.80 $\pm$ 2.01	8.67 $\pm$ 0.73	15.54 $\pm$ 1.41
50	76.34 $\pm$ 2.29	8.38 $\pm$ 0.61	15.29 $\pm$ 1.80
100	78.18 $\pm$ 1.77	7.55 $\pm$ 0.18	14.27 $\pm$ 1.62
200	72.59 $\pm$ 4.01	8.35 $\pm$ 0.81	19.06 $\pm$ 3.67
Control positivo	46.52 $\pm$ 0.47**	34.45 $\pm$ 0.43**	19.03 $\pm$ 0.28**
	Medio completo – 24h		
	G_0/G_1	S	G_2/M
Control negativo	75.21 $\pm$ 1.16	9.70 $\pm$ 0.27	15.09 $\pm$ 0.90
10	74.75 $\pm$ 0.36	9.10 $\pm$ 0.16	16.15 $\pm$ 0.27
50	76.11 $\pm$ 1.03	8.44 $\pm$ 0.50	15.45 $\pm$ 0.75
100	74.14 $\pm$ 1.59	9.22 $\pm$ 0.54	16.64 $\pm$ 1.07
200	71.58 $\pm$ 0.98	11.09 $\pm$ 0.35**	17.33 $\pm$ 0.67
Control positivo	46.52 $\pm$ 0.47**	34.45 $\pm$ 0.43**	19.03 $\pm$ 0.28**

5.2. Muerte celular

Durante el análisis del ciclo celular se evaluó también el porcentaje celular en la región subG₁ como indicativo de muerte celular por apoptosis, ya que la fragmentación del ADN que se produce en las últimas etapas de la apoptosis da lugar a la aparición de eventos marcados con PI en esta región, que contienen niveles de ADN inferiores a los detectados en la fase G₀/G₁ (Fraker *et al.*, 1995). Los resultados de este análisis se recogen en la Figura 7. En ella se puede observar que no hubo aumento significativo en la fracción subG₁ en ningún caso a excepción de las células expuestas en medio libre de suero durante 24 h a la dosis más alta de ION.

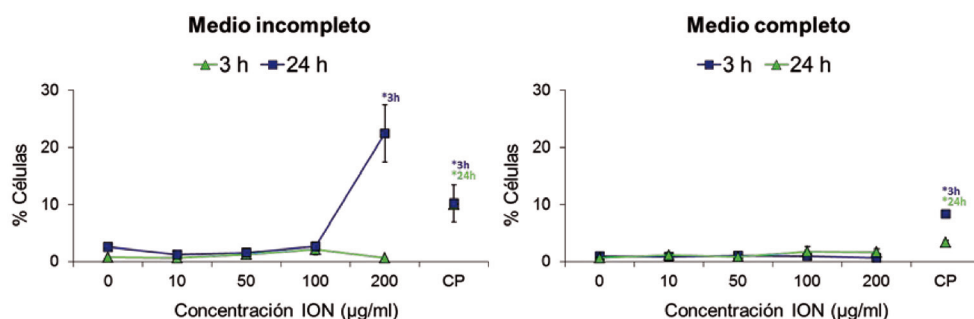


Figura 7. Resultados del análisis de la región subG₁ del ciclo celular por citometría de flujo. *P<0.05, diferencias significativas respecto al control. CP: control positivo.

Para investigar con más detalle si la exposición a ION es capaz de inducir la muerte celular por apoptosis o necrosis en células neuronales, se llevó a cabo la doble tinción con anexina V y PI y posterior evaluación por citometría de flujo. Los resultados obtenidos de este análisis mostraron que el tratamiento de 3 h con ION no indujo apoptosis temprana (eventos positivos para Anexina V pero negativos para PI) a ninguna concentración testada, independientemente del medio utilizado (Tabla 3). Sin embargo, después de 24 h de tratamiento sí se encontraron incrementos significativos en la tasa de apoptosis en las dosis más altas (200 µg/ml en medio incompleto, y 100 y 200 µg/ml en medio completo).

Al comparar las dos metodologías empleadas en este trabajo para el estudio de la muerte celular (análisis de la región subG₁ del ciclo celular y doble tinción con anexina V y PI por citometría de flujo) observamos que los resultados obtenidos con ambas estrategias fueron en gran medida similares. El único incremento significativo en la tasa de apoptosis se observó tras 24 h de tratamiento con la concentración de ION más alta testada en ambos medios de cultivo. La excepción a esto fue la ausencia de apoptosis, evaluada como

región subG₁, en medio completo. Esta aparente discrepancia entre las técnicas se puede explicar en base a las diferencias metodológicas propias de cada una de ellas. El análisis de la doble tinción anexina V/PI se realiza justo después de los tratamientos con ION y evalúa estadios tempranos de apoptosis, mientras que la región subG₁ del ciclo celular se analiza tras una incubación adicional de 24 h al finalizar los tratamientos con las nanopartículas y es indicativa de apoptosis tardía. Es por esto que probablemente la gran mayoría de las células apoptóticas detectadas mediante la doble tinción, y que por tanto se encuentran en apoptosis temprana, ya no estuviesen presentes durante el análisis de la región subG₁.

Tabla 3. Resultados del análisis de la muerte celular por apoptosis mediante doble tinción con anexina V y PI. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, diferencias significativas respecto al control.

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Medio incompleto		Medio completo	
	3h	24h	3h	24h
Control negativo	5.01 $\pm$ 1.44	3.28 $\pm$ 0.40	4.31 $\pm$ 0.44	4.51 $\pm$ 0.31
10	4.80 $\pm$ 1.09	4.58 $\pm$ 1.29	5.04 $\pm$ 0.29	4.51 $\pm$ 1.37
50	4.37 $\pm$ 1.03	4.73 $\pm$ 0.81	3.85 $\pm$ 0.94	6.17 $\pm$ 1.69
100	2.17 $\pm$ 0.14	5.03 $\pm$ 0.98	3.95 $\pm$ 0.45	9.04 $\pm$ 4.27*
200	5.66 $\pm$ 1.67	10.50 $\pm$ 3.27*	5.09 $\pm$ 0.43	8.67 $\pm$ 1.69*
Control positivo	16.21 $\pm$ 4.52**	16.21 $\pm$ 4.52**	7.17 $\pm$ 0.33**	8.86 $\pm$ 3.15**

Jeng y Swanson (2006) encontraron resultados similares a los nuestros en células Neuro-2A de neuroblastoma de ratón tratadas con distintas concentraciones de ION, observando un incremento en la tasa de apoptosis a concentraciones superiores a 100 $\mu\text{g/ml}$ en este caso. Sin embargo, Namvar y colaboradores (2014), empleando la misma metodología que la usada en este trabajo, encontraron aumentos significativos, y dependientes del tiempo de exposición (12-48 h), en las tasas de apoptosis de células Jurkat tratadas con nanopartículas de magnetita desnudas (6.4 $\mu\text{g/ml}$). El mismo año, también Malvindi y colaboradores (2014) encontraron una inducción de apoptosis significativa (evaluada en este caso por medio de ensayo JC-1 de evaluación del potencial de membrana mitocondrial) en células de cuello de útero y de pulmón expuestas a nanopartículas de magnetita recubiertas con sílice (2.5 nM) durante 48 h. Esta concentración es aproximadamente equivalente a 30 $\mu\text{g/ml}$ de las ION empleadas en el presente trabajo, dosis que produjo resultados negativos en todas las condiciones testadas en nuestro estudio.

Al analizar la muerte celular por necrosis mediante la doble tinción anexina V/PI, en ningún caso se observaron niveles significativos de este tipo de muerte celular inducidos por exposición a las ION (Tabla 4). De nuevo, Namvar y colaboradores (2014) obtuvieron resultados opuestos a los nuestros también en este caso. En su estudio, ellos observaron un aumento, dependiente del tiempo de tratamiento, en la tasa de necrosis de células Jurkat tratadas con ION, pero, como se mencionó anteriormente, la toxicidad de estas nanopartículas (en términos de disminución de la viabilidad celular) era mucho más alta.

Tabla 4. Resultados del análisis de la muerte celular por necrosis mediante doble tinción con anexina V y PI.

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Medio incompleto		Medio completo	
	3h	24h	3h	24h
Control negativo	1.60 $\pm$ 0.76	1.04 $\pm$ 0.56	1.54 $\pm$ 0.62	2.46 $\pm$ 1.34
10	1.38 $\pm$ 0.67	1.03 $\pm$ 0.49	2.47 $\pm$ 1.41	2.81 $\pm$ 1.75
50	1.34 $\pm$ 0.52	0.97 $\pm$ 0.42	2.77 $\pm$ 2.04	1.30 $\pm$ 0.57
100	1.11 $\pm$ 0.62	0.78 $\pm$ 0.44	1.87 $\pm$ 0.65	1.19 $\pm$ 0.70
200	1.83 $\pm$ 0.81	2.13 $\pm$ 1.10	2.68 $\pm$ 0.81	3.32 $\pm$ 1.38
Control positivo	1.76 $\pm$ 0.64	2.76 $\pm$ 1.30	4.39 $\pm$ 2.82	0.97 $\pm$ 0.35

5.3. Integridad de la membrana plasmática

Las posibles alteraciones en la integridad de la membrana celular como consecuencia de la exposición a las ION se evaluaron midiendo la actividad de la enzima LDH en el medio extracelular, ya que esta enzima se libera al medio sólo cuando la membrana celular está dañada. La Tabla 5 recoge los resultados obtenidos de esta evaluación para las diferentes concentraciones, tiempos de exposición y medios de cultivo empleados. Se obtuvieron resultados negativos para todas las condiciones experimentales evaluadas, lo que coincide esencialmente con la mayoría de los resultados obtenidos para los restantes ensayos de citotoxicidad realizados en este trabajo (estudio de la viabilidad celular, análisis del ciclo celular y evaluación de la apoptosis y necrosis).

A diferencia de lo encontrado en el presente trabajo, un estudio previo obtuvo valores positivos para este test en células A549 y HeLa tratadas con ION durante 48 y 96 h (Malvindi *et al.*, 2014). Sin embargo, y como ya se mencionó anteriormente, la concentración empleada en el mencionado estudio (2.5 nM) es equivalente a 30 $\mu\text{g/ml}$ de las ION testadas en este trabajo, lo

que confirmaría nuevamente el menor potencial citotóxico de nuestras nanopartículas recubiertas con sílice, respecto a otras ION diferentes.

Tabla 5. Resultados del análisis de la integridad de la membrana celular.

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Medio incompleto		Medio completo	
	3h	24h	3h	24h
Control negativo	0.00	0.00	0.00	0.00
10	-0.03 ± 0.97	-1.70 ± 0.96	-0.47 ± 1.45	-2.35 ± 1.46
50	-1.80 ± 1.02	-5.25 ± 1.35	-2.37 ± 1.43	-4.10 ± 1.41
100	-3.05 ± 1.24	-9.33 ± 2.46	0.57 ± 2.60	-3.73 ± 1.23
200	-6.20 ± 2.69	-6.03 ± 3.13	-3.43 ± 1.92	-1.33 ± 1.23
Control positivo	100.00	100.00	100.00	100.00

Tomando todos los resultados obtenidos de los distintos ensayos de citotoxicidad empleados en el presente trabajo se observa que, en general, las ION analizadas muestran un bajo potencial citotóxico sobre las células neuronales del estudio. En particular, según los datos recogidos en los análisis de viabilidad celular, ciclo celular y muerte celular por apoptosis o necrosis, este potencial es ligeramente superior al emplear medio incompleto, coincidiendo además con los niveles algo más altos de captación celular de las ION suspendidas en este medio.

6. Evaluación de genotoxicidad

6.1. Fosforilación de la histona H2AX

La evaluación del potencial genotóxico de las nanopartículas a estudio se evaluó empleando diferentes metodologías. La primera de ellas, el análisis de la forma fosforilada de la histona H2AX, llamada γH2AX , nos permitió determinar las roturas de cadena doble presentes en el material genético, ya que la fosforilación de esta histona es una respuesta celular temprana a este tipo de daño. Como respuesta a la formación de estas roturas en el ADN, las histonas H2AX que flanquean la zona dañada son rápidamente fosforiladas en el residuo 139 terminal dando lugar a la gamma-H2AX, o γH2AX . En condiciones normales, estas γH2AX aparecen unos minutos después de la lesión, alcanzan niveles máximos tras aproximadamente 30 min, y se eliminan en unas 2-7 h (Valdiglesias *et al.*, 2013a). Aunque se trata de una técnica bastante novedosa, la evaluación de la presencia de estas histonas fosforiladas mediante el ensayo γH2AX es considerada un buen biomarcador de este tipo de daño genético,

y su fiabilidad y especificidad ya han sido previamente demostradas (García-Canton *et al.*, 2012; Nikolova *et al.*, 2014).

En el presente trabajo, se empleó la citometría de flujo para llevar a cabo este análisis, por tratarse de un sistema automatizado, de alto rendimiento, rápido y objetivo, que aumenta considerablemente el número de células evaluadas, disminuyendo la variabilidad y mejorando el poder estadístico de los datos obtenidos (Sánchez-Flores *et al.*, 2015). La Figura 8 recoge los resultados de este análisis y muestra como las ION del estudio no inducen fosforilación de la histona H2AX en células neuronales en ninguna de las condiciones testadas.

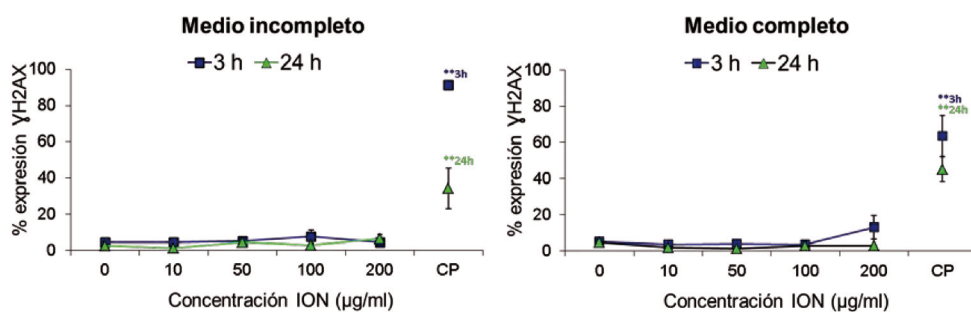


Figura 8. Resultados del análisis de la fosforilación de la histona H2AX. ** $P < 0.01$, diferencias significativas respecto al control. CP: control positivo.

Hasta la fecha, nuestro trabajo es el primero en emplear este ensayo para la evaluación del potencial genotóxico de las ION, no habiendo ningún otro publicado a este respecto con estas nanopartículas (desnudas o recubiertas) en ninguna línea celular. Sin embargo, en otros estudios llevados a cabo en nuestro laboratorio las células neuronales SHSY5Y sí mostraron un incremento significativo de la fosforilación de H2AX cuando fueron expuestas a nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) (Valdiglesias *et al.*, 2013b), efecto que no se produce cuando las mismas células son tratadas con diferentes tipos de nanopartículas de óxido de titanio (TiO₂) (Valdiglesias *et al.*, 2013c).

6.2. Test de micronúcleos

Tras el análisis de la fosforilación de la histona H2AX, se llevó a cabo el test de MN, una metodología menos específica pero altamente eficaz en la detección de alteraciones genéticas a gran escala. El principal objetivo de este test es identificar aberraciones cromosómicas, ya que los MN pueden contener fragmentos de cromosomas consecuencia de la rotura del ADN, o cromosomas enteros que quedan rezagados durante la división celular y que por tanto no se incluyen en el material genético de las células hijas.

En el presente trabajo, la producción de MN como consecuencia de la exposición a ION fue evaluada por citometría de flujo. Los resultados obtenidos de esta evaluación mostraron que no hay cambios significativos en la frecuencia de MN tras el tratamiento de las células neuronales con las ION a ninguna concentración, tiempo de exposición o medio de cultivo empleados (Figura 9). No tenemos constancia de que existan otros trabajos que evalúen los efectos genotóxicos de las ION recubiertas con sílice mediante el test de MN, sin embargo sí se han llevado a cabo varios estudios, tanto *in vitro* (Li *et al.*, 2011; Shah *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2012) como *in vivo* (Chen *et al.*, 2012a; Li *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2010) testando el potencial de otros tipos de ION para inducir MN en células de diverso origen. En todos ellos, y coincidiendo con nuestras observaciones, los resultados fueron negativos.

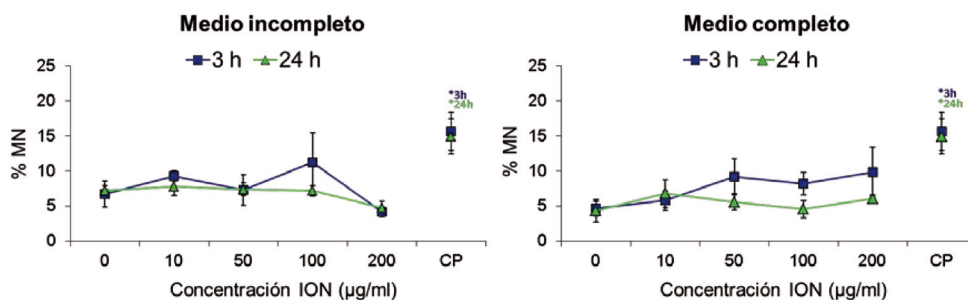


Figura 9. Resultados del test de MN. * $P < 0.05$, diferencias significativas respecto al control. CP: control positivo.

6.3. Daño primario en el ADN

Finalmente, se empleó el ensayo del cometa (o electroforesis en microgel de células aisladas) para medir el daño primario, potencialmente inducido por la exposición a ION, en el ADN de las células neuronales SHSY5Y. El ensayo cometa es uno de los métodos más frecuentemente utilizados para la evaluación de genotoxicidad, ya que se trata de una técnica sencilla, rápida y sensible, capaz de detectar y cuantificar distintos tipos de lesiones en el ADN. Estas características, lo confirman además como uno de los ensayos más utilizados y más prometedores en el estudio de los efectos genotóxicos de los nanomateriales (Magdolenova *et al.*, 2014). En este trabajo se llevó a cabo el ensayo del cometa en su versión alcalina porque permite la detección de un rango más amplio de daño primario en el ADN, incluyendo roturas de cadena sencilla y doble, sitios sensibles al álcali y procesos incompletos de reparación por escisión. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 10.

En los tratamientos en los que se empleó medio incompleto, libre de suevo, no se observó incremento significativo del daño en el ADN evaluado en ningún caso. Sin embargo, en medio completo las ION indujeron daño genético dependiente de la dosis y del tiempo de exposición. Estos resultados se corresponden con los obtenidos en la evaluación de la liberación de iones de hierro por parte de las ION, en la que se encontraron cantidades importantes de estos iones en medio completo.

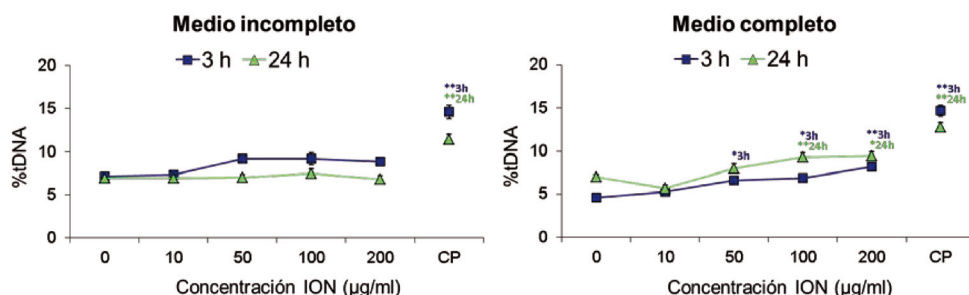


Figura 10. Resultados del ensayo del cometa. ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, diferencias significativas respecto al control. CP: control positivo.

Aunque el cuerpo humano contiene concentraciones relativamente altas de hierro, la presencia de este metal en concentraciones superiores a las fisiológicas puede conducir a efectos deletéreos. Los iones de hierro son capaces de interactuar con el ADN, introduciéndose entre las bases nitrogenadas de su estructura, desenrollando la doble hélice (Eichhorn y Shin, 1968) y provocando así roturas de cadena sencilla y modificaciones oxidativas de las bases (Toyokuni y Sagripanti, 1999). Este tipo de daño, especialmente las roturas de cadena sencilla, puede ser detectado por el ensayo del cometa estándar, pero no está relacionado con la fosforilación de H2AX o la producción MN, lo que explicaría los resultados negativos obtenidos en estos dos últimos ensayos a pesar de los positivos encontrados en el ensayo del cometa. Incrementos similares en distintos parámetros evaluados en el ensayo del cometa, como son la longitud e intensidad de la cola del cometa, fueron previamente descritos en otros estudios tras la incubación de distintos tipos de células – incluyendo linfocitos, células alveolares, bronquiales, de riñón, y de epitelio dérmico – con diferentes ION (Kain *et al.*, 2012; Gomaa *et al.*, 2013; Ahamed *et al.*, 2013; Malvindi *et al.*, 2014).

6.4. Daño oxidativo en el ADN

En este estudio se utilizó una variante del ensayo del cometa, que incorpora una incubación adicional con la glucosilasa OGG1, para el análisis específico del daño oxidativo sobre el ADN. Las células neuronales expuestas a ION revelaron producción de daño oxidativo en todas las condiciones testadas, siendo la comparación entre las células tratadas con la enzima y las tratadas únicamente con el tampón estadísticamente significativa en todos los tratamientos excepto en el de 10 µg/ml durante 3 h en medio completo (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados del análisis del daño oxidativo en el ADN. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, diferencias significativas respecto al tampón.

Medio incompleto				
Concentración (µg/ml)	3h		24h	
	Tampón	OGG1	Tampón	OGG1
Control negativo	5.89± 0.86	7.11± 0.81	7.31± 0.65	8.37± 0.80
10	6.37± 0.60	12.16± 0.32**	7.00± 0.68	12.61± 0.51**
50	7.67± 0.66	14.31± 1.50**	7.63± 0.75	11.96± 0.39**
100	7.02± 1.27	16.44± 1.39**	7.91± 0.32	12.80± 0.67**
200	8.37± 1.08	16.33± 1.05**	8.79± 0.88	12.88± 1.52*
Control positivo	15.79± 2.45	24.31± 1.52**	12.62± 0.67	17.45± 1.56**
Medio completo				
Concentración (µg/ml)	3h		24h	
	Tampón	OGG1	Tampón	OGG1
Control negativo	6.70± 1.10	5.79± 0.53	6.08± 0.63	7.13± 0.92
10	7.77± 1.40	10.62± 1.18	7.48± 0.78	9.99± 0.59*
50	7.32± 1.37	11.45± 0.56**	7.84± 0.63	13.69± 1.84**
100	7.98± 1.49	13.32± 2.02*	10.15± 0.92	14.27± 0.69*
200	7.59± 1.15	14.81± 2.03**	9.37± 0.91	14.90± 0.73**
Control positivo	9.94± 1.31	18.52± 1.86**	13.44± 1.16	17.81± 1.16**

La producción de estrés oxidativo ya se había propuesto como mecanismo subyacente implicado en la genotoxicidad de las nanopartículas de óxidos metálicos (Mesárošová *et al.*, 2014), así como varios posibles factores que pueden jugar un importante papel en la generación de radicales oxidantes a partir de las ION. La producción de estos radicales puede ocurrir debido a los iones

de hierro liberados al citosol a consecuencia de la degradación lisosomal de las ION (Valko *et al.*, 2006), o ser causada por las superficies catalíticamente activas de estas nanopartículas (Klein *et al.*, 2012).

En base a todos los resultados obtenidos a partir de los distintos ensayos de genotoxicidad empleados en este trabajo, concluimos que el tipo de daño genético inducido por las ION en células neuronales no está relacionado con las roturas de cadena doble, sino que se debe fundamentalmente a otras lesiones del ADN (sitios sensibles al álcali, roturas de cadena sencilla y daño oxidativo) indicativas en muchas ocasiones de un daño más reciente y más fácilmente reparable (Azqueta y Collins, 2013).

7. Evaluación de la capacidad de reparación del ADN

Las posibles alteraciones en el proceso de reparación del ADN celular se evaluaron mediante el ensayo de competencia de reparación, utilizando H_2O_2 como agente inductor de daño. El H_2O_2 causa daño en el ADN generando radicales libres hidroxilo (Jaruga and Dizdaroglu, 1996). Estos radicales atacan el ADN en los residuos glucídicos, generando roturas de cadena sencilla (Benhusein *et al.*, 2010). La reparación de este tipo de daño es un proceso celular sencillo; miles de roturas por célula pueden ser reparadas en cuestión de media hora en las células de mamífero (Azqueta and Collins, 2013).

En este estudio, la reparación de aproximadamente un tercio del daño en el ADN generado por el H_2O_2 se llevó a cabo en el periodo de 30 min de incubación post-tratamiento (Tabla 7), indicando así que este tiempo resulta conveniente para detectar la reparación de este tipo de daño en las células SHSY5Y utilizadas. Las incubaciones con las ION se realizaron en tres fases diferentes del ensayo: antes de inducir el daño en el ADN (pre-tratamiento o fase A, durante 3 o 24 h), durante la inducción de daño (fase B), o durante el periodo de reparación (post-tratamiento o fase C).

Los resultados obtenidos fueron diferentes dependiendo de la presencia de suero en el medio. En medio incompleto no se observó reparación significativa del daño inducido cuando la incubación con ION se realizó antes de la inducción del daño o durante la fase de reparación. Ya que la incubación solamente con ION durante 30 min causó incremento significativo del daño, puede que la ausencia de reparación observada en la fase C esté relacionada con el daño inducido directamente por las ION en lugar de (o además de) alteraciones producidas en la maquinaria de reparación. Cuando el tratamiento con H_2O_2 y las ION se llevó a cabo simultáneamente, el proceso de reparación se realizó de forma normal; una posible razón para explicarlo puede ser que el corto periodo de esta incubación (únicamente 5 min) haya sido insuficiente para causar cualquier alteración en los sistemas de reparación.

Tabla 7. Resultados del ensayo de competencia de reparación. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, diferencias significativas respecto a antes de reparar; [#] $P<0.05$, diferencias significativas respecto al control.

Condición experimental	Medio incompleto		Medio completo	
	Antes de reparar	Después de reparar	Antes de reparar	Después de reparar
Control negativo	6.94±0.50		6.44±1.11	
H ₂ O ₂	21.88±2.11 [#]	14.65±1.19**	19.98±1.48 [#]	13.36±0.50**
H ₂ O ₂ + ION A 3h	21.86±2.83	19.78±1.89	22.59±1.25	18.97±0.58**
H ₂ O ₂ + ION A 24h	24.15±1.80	19.88±2.78	27.57±1.61	18.16±1.52**
H ₂ O ₂ + ION B	17.15±1.98	12.38±0.63*	18.72±2.57	17.76±1.13
H ₂ O ₂ + ION C	21.88±2.11	17.80±0.76	19.98±1.48	13.26±0.92**
ION 30 min	11.40±2.00 [#]		10.75±0.88 [#]	

Los resultados observados en medio completo sugirieron escasos efectos en la reparación del ADN, pues se obtuvo descenso significativo en el daño en el ADN tras la reparación en todas las condiciones testadas, excepto para la fase B. Como se ha indicado anteriormente, en medio completo se produce una notable liberación de iones de hierro a partir de las ION. Los efectos deletéreos de los metales de transición (como el hierro) sobre el ADN aumentan en gran medida con la presencia de oxígeno y otras especies relacionadas. Así, los iones de hierro se asocian con rapidez con el ADN y, en presencia de H₂O₂, se genera una elevada proporción de roturas de cadena doble respecto a las roturas de cadena sencilla en esta macromolécula (Lloyd and Phillips, 1999). Ya que el proceso de reparación de las roturas de cadena doble puede tardar horas (Frankenberg-Schwager, 1989), el resultado obtenido para la fase B en medio completo está probablemente relacionado con el tipo de daño en el ADN inducido, para el que el periodo de reparación de 30min seguramente no es suficiente, más que ser debido propiamente a alteraciones en el proceso de reparación. Que nosotros sepamos, este es el primer estudio realizado que aborda los potenciales efectos de las ION sobre los sistemas de reparación celular.

CONCLUSIONES

La utilización de ION en investigación o aplicaciones biomédicas está ganando progresiva importancia en los últimos años, llevando consigo el rápido desarrollo de nuevos tipos de estas nanopartículas. Muchas de las ION que se producen para ser aplicadas a fines biomédicos requieren su introducción en el

organismo humano, como aquellas que se utilizan para diagnóstico por imagen, liberación de medicamentos o destrucción de tumores por hipertermia. Sin embargo, todavía no está del todo claro si la ION son en general seguras, o bien si deben ser utilizadas con prudencia. Es por ello que el conocimiento de los riesgos potenciales asociados con la exposición a estas nanopartículas, a lo que contribuye el presente estudio, resulta esencial.

A pesar de ser efectivamente internalizadas por las células neuronales, las ION evaluadas en este estudio presentan en general una baja citotoxicidad; únicamente se obtuvieron resultados positivos en algunos ensayos y a las concentraciones más altas o tiempos de exposición más prolongados que fueron testados. Las determinaciones de genotoxicidad realizadas en medio incompleto (carente de suero) fueron negativas en todas las condiciones ensayadas. En medio completo, se observó incremento en el daño primario en el ADN, no relacionado con la producción de roturas de cadena doble o pérdida cromosómica (de acuerdo con los resultados de la fosforilación de la histona H2AX y el test de MN). Las diferencias en los ensayos de genotoxicidad utilizados respecto a su sensibilidad para detectar distintos tipos de daño genético confirman la necesidad de utilizarlos en combinación, puesto que ofrecen datos complementarios. Por otra parte, las ION analizadas produjeron daño oxidativo en el ADN en todas las circunstancias analizadas.

La composición del medio de cultivo (presencia o ausencia de suero bovino fetal, muy rico en proteínas) influyó en el comportamiento de las ION evaluadas, pero no en gran medida. La captación de las nanopartículas por las células neuronales, la citotoxicidad y los efectos sobre la reparación del ADN fueron más pronunciados en ausencia de suero. Por el contrario, la liberación de iones hierro de las ION y el daño primario en el ADN únicamente se observaron en medio completo. La formación de una corona de proteínas en presencia de suero probablemente juegue un papel importante en estas diferencias. No obstante, futuras investigaciones deben encaminarse hacia el análisis de la formación y composición de la corona proteica y a la determinación del posible papel de las alteraciones del equilibrio redox en la producción de efectos nocivos, particularmente aquellos relacionados con el daño en el material genético.

Los resultados obtenidos en este trabajo proporcionan una mejor comprensión de la interacción de las ION con los sistemas celulares y de sus posibles consecuencias, específicamente a nivel del sistema nervioso. Estos resultados ponen de manifiesto la urgente necesidad de realizar evaluaciones de las interacciones que se producen entre los nanomateriales y los organismos vivos, especialmente en lo que se refiere a los componentes del sistema nervioso, a fin de incrementar el conocimiento sobre los posibles efectos nocivos a diferentes niveles.

Asimismo, los datos generados podrán ser utilizados en la evaluación de riesgo de exposición a estas nanopartículas, y como base para el establecimiento de guías de buenas prácticas para el manejo de estos materiales, que permitan garantizar la seguridad tanto de los trabajadores implicados en su manufactura como de los consumidores finales de los productos comercializados que contienen nanomateriales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Xunta de Galicia (EM 2012/079), el proyecto ERA-SIINN/0001/2013-FCT, y la acción COST MODENA (TD1204).

BIBLIOGRAFÍA

- Ahamed M, Alhadlaq HA, Alam J, Khan MAM, Ali D, Alarafi S (2013) Iron oxide nanoparticle-induced oxidative stress and genotoxicity in human skin epithelial and lung epithelial cell lines. *Curr. Pharm. Des.*, 19:6681–6690.
- Au C, Mutkus L, Dobson A, Riffle J, Lalli J, Aschner M (2007) Effects of nanoparticles on the adhesion and cell viability on astrocytes. *Biol. Trace Elem. Res.*, 120:248–256.
- Auffan M, Rose J, Bottero J-Y, Lowry GV, Jolivet J-P, Wiesner MR (2009) Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat. Nanotechnol.*, 4:634–641.
- Avdeev MV, Mucha B, Lamszus K, Vékás L, Garamus VM, Feoktystov AV, Marinica O, Turcu R, Willumeit R (2010) Structure and in vitro biological testing of water-based ferrofluids stabilized by monocarboxylic acids. *J. Surf. Colloids*, 26:8503–8509.
- Avlasevich SL, Bryce SM, Cairns SE, Dertinger SD (2006) In vitro micronucleus scoring by flow cytometry: Differential staining of micronuclei versus apoptotic and necrotic chromatin enhances assay reliability. *Environ. Mol. Mutagen.*, 47:56–66.
- Azqueta A, Collins AR (2013) The essential comet assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. *Arch. Toxicol.*, 87:949–968.
- Benhusein GM, Mutch E, Aburawi S, Williams FM (2010) Genotoxic effect induced by hydrogen peroxide in human hepatoma cells using comet assay. *Libyan J. Med.*, 5.
- Bihari P, Vippola M, Schultes S, Praetner M, Khandoga AG, Reichel CA, Coester C, Tuomi T, Rehberg M, Krombach F (2008) Optimized dispersion of nanoparticles for biological in vitro and in vivo studies. *Part. Fibre Toxicol.*, 5:14.
- Bjørnerud A, Johansson L (2004) The utility of superparamagnetic contrast agents in MRI: theoretical consideration and applications in the cardiovascular system. *NMR Biomed.*, 17:465–477.
- Boyer C, Whittaker MR, Bulmus V, Liu J, Davis TP (2010) The design and utility of polymer-stabilized iron-oxide nanoparticles for nanomedicine applications. *NPG Asia Mater.*, 2:23–30.
- Chen Z, Yin J-J, Zhou Y-T, Zhang Y, Song L, Song M, Hu S, Gu N (2012) Dual enzyme-like activities of iron oxide nanoparticles and their implication for diminishing cytotoxicity. *ACS Nano*, 6:4001–4012.
- Cheng F-Y, Su C-H, Yang Y-S, Yeh C-S, Tsai C-Y, Wu C-L, Wu M-T, Shieh D-B (2005). Characterization of aqueous dispersions of Fe(3)O(4) nanoparticles and their biomedical applications. *Biomaterials*, 26:729–738.
- Choi S-J, Oh J-M, Choy J-H (2009) Toxicological effects of inorganic nanoparticles on human lung cancer A549 cells. *J. Inorg. Biochem.*, 103:463–471.

- Clift MJD, Gehr P, Rothen-Rutishauser B (2011) Nanotoxicology: a perspective and discussion of whether or not in vitro testing is a valid alternative. *Arch. Toxicol.*, 85:723–731.
- Crist RM, Grossman JH, Patri AK, Stern ST, Dobrovolskaia MA, Adiseshaiah PP, Clogston JD, McNeil SE (2013) Common pitfalls in nanotechnology: lessons learned from NCI's Nanotechnology Characterization Laboratory. *Integr. Biol. Quant. Biosci. Nano Macro*, 5:66–73.
- Da M, Saxena N, Dwivedi PD (2009) Emerging trends of nanoparticles application in food technology: Safety paradigms. *Nanotoxicology*, 3:10–18.
- DECHEMA/VCI working group "Responsible Production and Use of Nanomaterials" (2011) Ten years of research: risk assessment, human and environmental toxicology of nanomaterials. Disponible en: <http://www.nanopartikel.info/files/downloads/Brosch%C3%BCre-Nanomaterials-Risk-Assessment-2011.pdf>.
- Department for Environment, Food and Rural Affairs of the United Kingdom Government (2007) Characterising the Potential Risks posed by Engineered Nanoparticles - A Second UK Government Research Report. Disponible en: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/69288/pb12901-nanoparticles-riskreport-071218.pdf.
- Doak SH, Griffiths SM, Manshian B, Singh N, Williams PM, Brown AP, Jenkins GJS (2009) Surrounding experimental considerations in nanogenotoxicology. *Mutagenesis*, 24:285–293.
- Eichhorn GL, Shin YA (1968) Interaction of metal ions with polynucleotides and related compounds. XII. The relative effect of various metal ions on DNA helicity. *J. Am. Chem. Soc.*, 90:7323–7328.
- European Commission Joint Research Centre (2011) Engineered nanoparticles: review of health and environmental safety (ENRHES). Disponible en: <http://www.nanowerk.com/nanotechnology-report.php?reportid=133>.
- Fraker PJ, King LE, Lill-Elghanian D, Telford WG (1995) Quantification of apoptotic events in pure and heterogeneous populations of cells using the flow cytometer. *Methods Cell Biol.*, 46:57–76.
- Frankenberg-Schwager M (1989). Review of repair kinetics for DNA damage induced in eukaryotic cells in vitro by ionizing radiation. *Radiother. Oncol.*, 14:307–320.
- Fröhlich E (2013) Cellular targets and mechanisms in the cytotoxic action of non-biodegradable engineered nanoparticles. *Curr. Drug Metab.*, 14:976–988.
- Garcia-Canton C, Anadón A, Meredith C (2012) γ H2AX as a novel endpoint to detect DNA damage: applications for the assessment of the in vitro genotoxicity of cigarette smoke. *Toxicol. in Vitro*, 26:1075–1086.
- Geppert M, Hohnholt M, Gaetjen L, Grunwald I, Bäumer M, Dringen R (2009). Accumulation of iron oxide nanoparticles by cultured brain astrocytes. *J. Biomed. Nanotechnol.*, 5:285–293.
- Geppert M, Hohnholt MC, Thiel K, Nürnberger S, Grunwald I, Rezwani K, Dringen R (2011) Uptake of dimercaptosuccinate-coated magnetic iron oxide nanoparticles by cultured brain astrocytes. *Nanotechnology*, 22:145101.
- Geys J, Nemery B, Hoet PHM (2010) Assay conditions can influence the outcome of cytotoxicity tests of nanomaterials: better assay characterization is needed to compare studies. *Toxicol. in Vitro*, 24:620–629.
- Gomaa IO, Kader MH, Salah TA, Heikal OA (2013) Evaluation of in vitro mutagenicity and genotoxicity of magnetite nanoparticles. *Drug Discov. Ther.*, 7:116–123.
- Gould P (2006) Nanomagnetism shows in vivo potential. *Nano Today*, 1:34–39.
- Gupta AK, Gupta M (2005) Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26:3995–4021.
- Häfeli UO, Riffle JS, Harris-Shekhawat L, Carmichael-Baranaukas A, Mark F, Dailey JP, Bardenstein D (2009) Cell uptake and in vitro toxicity of magnetic nanoparticles suitable for drug delivery. *Mol. Pharm.*, 6:1417–1428.
- Hildebrand H, Kühnel D, Potthoff A, Mackenzie K, Springer A, Schirmer K (2010) Evaluating the cytotoxicity of palladium/magnetite nano-catalysts intended for wastewater treatment. *Environ. Pollut.*, 158:65–73.
- Hohnholt M, Geppert M, Dringen R (2010) Effects of iron chelators, iron salts, and iron oxide nanoparticles on the proliferation and the iron content of oligodendroglial OLN-93 cells. *Neurochem. Res.*, 35:1259–1268.
- Hu Y-L, Gao J-Q (2010) Potential neurotoxicity of nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, 394:115–121.

- Ibuki Y, Toyooka T (2012) Nanoparticle uptake measured by flow cytometry. *Methods Mol. Biol.*, 926:157–166.
- Jaruga P, ad Dizdaroğlu M (1996) Repair of products of oxidative DNA base damage in human cells. *Nucleic Acids Res.*, 24:1389–1394.
- Jeng HA, Swanson J (2006) Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *J. Environ. Sci. Health Part A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, 41:2699–2711.
- Kain J, Karlsson HL, Möller L. (2012) DNA damage induced by micro- and nanoparticles - interaction with FPG influences the detection of DNA oxidation in the comet assay. *Mutagenesis*, 27:491–500.
- Kanwar JR, Sun X, Punj V, Sriramoju B, Mohan RR, Zhou S-F, Chauhan A. Kanwar RK (2012) Nanoparticles in the treatment and diagnosis of neurological disorders: untamed dragon with fire power to heal. *Nanomedicine*, 8:399–414.
- Karlsson HL, Cronholm P, Gustafsson J, Möller L (2008). Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. *Chem. Res. Toxicol.*, 21:1726–1732.
- Kenzaoui BH, Bernasconi CC, Hofmann H, Juillerat-Jeanneret L (2012) Evaluation of uptake and transport of ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles by human brain-derived endothelial cells. *Nanomed.*, 7:39–53.
- Kim J-E, Shin J-Y, Cho M-H (2012) Magnetic nanoparticles: an update of application for drug delivery and possible toxic effects. *Arch. Toxicol.*, 86:685–700.
- Klein S, Sommer A, Distel LVR, Neuhuber W, Krysch C (2012). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as radiosensitizer via enhanced reactive oxygen species formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 425:393–397.
- Kolhatkar AG, Jamison AC, Litvinov D, Willson RC, Lee TR (2013) Tuning the magnetic properties of nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.*, 14:15977–16009.
- Krais A. Wortmann L, Hermanns L, Feliu N, Vahter M, Stucky S, Mathur S, Fadeel B (2014) Targeted uptake of folic acid-functionalized iron oxide nanoparticles by ovarian cancer cells in the presence but not in the absence of serum. *Nanomedicine*, 10:1421–1431.
- Kunzmann A, Andersson B, Vogt C, Feliu N, Ye F, Gabrielsson S, Toprak MS, Buerki-Thurnherr T, Laurent S, Vahter M, Krug H, Muhammed M, Scheynius A, Fadeel B (2011) Efficient internalization of silica-coated iron oxide nanoparticles of different sizes by primary human macrophages and dendritic cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 253:81–93.
- Kwon J-T, Hwang S-K, Jin H, Kim D-S, Minai-Tehrani A, Yoon H-J, Choi M, Yoon T-J, Han D-Y, Kang Y-W, Yoon BI, Lee JK, Cho MH (2008) Body distribution of inhaled fluorescent magnetic nanoparticles in the mice. *J. Occup. Health*, 50:1–6.
- Larumbe S, Gómez-Polo C, Pérez-Landazábal JI, Pastor JM (2012) Effect of a SiO₂ coating on the magnetic properties of Fe₃O₄ nanoparticles. *J. Phys. Condens. Matter*, 24:266007.
- Le Renard P-E, Jordan O, Faes A, Petri-Fink A, Hofmann H, Rüfenacht D, Bosman F, Buchegger F, Doelker E (2010) The in vivo performance of magnetic particle-loaded injectable, in situ gelling, carriers for the delivery of local hyperthermia. *Biomaterials*, 31:691–705.
- Lévy M, Lagarde F, Maralioiu V-A, Blanchin M-G, Gendron F, Wilhelm C, Gazeau F (2010) Degradability of superparamagnetic nanoparticles in a model of intracellular environment: follow-up of magnetic, structural and chemical properties. *Nanotechnology*, 21:395103.
- Li Y, Liu Zhong Y, Zhang D, Wang Wang An Y., Lin, Gao, Zhang (2011) Biocompatibility of Fe₃O₄@Au composite magnetic nanoparticles in vitro and in vivo. *Int. J. Nanomedicine*, 6:2805-19.
- Lloyd DR, Phillips DH (1999) Oxidative DNA damage mediated by copper(II), iron(II) and nickel(II) Fenton reactions: evidence for site-specific mechanisms in the formation of double-strand breaks, 8-hydroxydeoxyguanosine and putative intrastrand cross-links. *Mutat. Res.*, 424:23–36.
- Lodhia J, Mandarano G, Ferris N, Eu P, Cowell S (2010). Development and use of iron oxide nanoparticles (Part 1): Synthesis of iron oxide nanoparticles for MRI. *Biomed. Imaging Interv. J.*, 6:e12.
- Lynch I, Dawson KA (2008) Protein-nanoparticle interactions. *Nano Today*, 3:40–47.

- Magdolenova Z, Collins A, Kumar A, Dhawan A, Stone V, Dusinska M (2014). Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in vivo studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8:233–278.
- Mahmoudi M, Azadmanesh K, Shokrgozar MA, Journeay WS, Laurent S (2011) Effect of Nanoparticles on the Cell Life Cycle. *Chem. Rev.*, 111:3407–3432.
- Mahon E, Hristov DR, Dawson KA (2012) Stabilising fluorescent silica nanoparticles against dissolution effects for biological studies. *Chem. Commun. (Camb.)*, 48:7970–7972.
- Malvindi MA, De Matteis V, Galeone A, Brunetti V, Anyfantis GC, Athanassiou A, Cingolani R, Pompa PP (2014) Toxicity assessment of silica coated iron oxide nanoparticles and biocompatibility improvement by surface engineering. *PLoS One*, 9:e85835.
- Mesárošová M, Kozics K, Bábelová A, Regendová E, Pastorek M, Vnuková D, Buliaková B, Rázga F, Gábelová A (2014) The role of reactive oxygen species in the genotoxicity of surface-modified magnetite nanoparticles. *Toxicol. Lett.*, 226:303–313.
- Morgan DO (2007) *The cell cycle: principles of control*. New Science Press-Oxford University Press. Londres.
- Moroz P, Jones SK, Gray BN (2002) Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions. *Int. J. Hyperth.*, 18:267–284.
- Mosmann T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65:55–63.
- Namvar F, Rahman HS, Mohamad R, Baharara J, Mahdavi M, Amini E, Chartrand .S, Yeap, SK (2014) Cytotoxic effect of magnetic iron oxide nanoparticles synthesized via seaweed aqueous extract. *Int. J. Nanomedicine*, 9:2479–2488.
- National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) (2006) Approaches to Safe Nanotechnology. Managing the health and safety concerns associated with engineered nanomaterials. Disponible en: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2009-125/pdfs/2009-125.pdf>.
- Nikolova T, Dvorak M, Jung F, Adam I, Krämer E, Gerhold-Ay A, Kaina B (2014). The γ H2AX assay for genotoxic and nongenotoxic agents: comparison of H2AX phosphorylation with cell death response. *Toxicol. Sci.*, 140:103–117.
- Nüsse M, Beisker W, Kramer J, Miller BM, Schreiber GA, Viaggi S, Weller EM, Wessels JM (1994) Measurement of micronuclei by flow cytometry. *Methods Cell Biol.*, 42 PtB:149–158.
- Pfaller T, Colognato R, Nelissen I, Favilli F, Casals E, Ooms D, Leppens H, Ponti J, Stritzinger R, Puentes V, Boraschi D, Duschi A, Oostingh GJ (2010) The suitability of different cellular in vitro immunotoxicity and genotoxicity methods for the analysis of nanoparticle-induced events. *Nanotoxicology*, 4:52–72.
- Pisanic TR. 2nd, Blackwell JD, Shubayev VI, Fiñones RR, Jin S (2007) Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons. *Biomaterials*, 28:2572–2581.
- Puntarulo S (2005) Iron, oxidative stress and human health. *Mol. Aspects Med.*, 26:299–312.
- Roman D, Locher F, Suter W, Cordier A, Bobadilla M (1998). Evaluation of a new procedure for the flow cytometric analysis of in vitro, chemically induced micronuclei in V79 cells. *Environ. Mol. Mutagen.*, 32:387–396.
- Salata O (2004) Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J. Nanobiotechnology*, 2:3.
- Salvati A, Pitek AS, Monopoli MP, Prapainop K, Bombelli FB, Hristov DR, Kelly PM, Åberg C, Mahon E, Dawson KA (2013) Transferrin-functionalized nanoparticles lose their targeting capabilities when a biomolecule corona adsorbs on the surface. *Nat. Nanotechnol.*, 8:137–143.
- Sánchez-Flores M, Pásaro E, Bonassi S, Laffon B, Valdiglesias V (2015) γ H2AX assay as dna damage biomarker for human population studies: Defining experimental conditions. *Toxicol. Sci.*, 144:406–413.
- Santamaria A (2012) Historical overview of nanotechnology and nanotoxicology. *Methods Mol. Biol.*, 926:1–12.
- Savolainen K, Alenius H, Norppa H, Pylkkänen L, Tuomi T, Kasper G (2010) Risk assessment of engineered nanomaterials and nanotechnologies – a review. *Toxicology*, 269:92–104.
- Sayes CM, Warheit DB (2009) *Characterization of nanomaterials for toxicity assessment*. Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol., 1:660–670.

- Seaton A, Tran L, Aitken R, Donaldson K (2010) Nanoparticles, human health hazard and regulation. *J. R. Soc. Interface*, 7 Suppl 1:S119–S129.
- Shah V, Taratula O, Garbuzenko OB, Patil ML, Savla R, Zhang M, Minko T (2013) Genotoxicity of different nanocarriers: possible modifications for the delivery of nucleic acids. *Curr. Drug Discov. Technol.*, 10:8–15.
- Singh N, Manshian B, Jenkins GJS, Griffiths SM, Williams PM, Maffei TGG, Wright CJ, Doak SH (2009) NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*, 30:3891–3914.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL (1988) A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res.*, 175:184–191.
- Skaper SD, Floreani M, Ceccon M, Facci L, Giusti P (1999) Excitotoxicity, oxidative stress, and the neuroprotective potential of melatonin. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 890:107–118.
- Smith CC, O'Donovan MR, Martin A (2006) hOGG1 recognizes oxidative damage using the comet assay with greater specificity than FPG or ENDIII. *Mutagenesis*, 21:185–190.
- Soenen SJH, De Cuyper M (2009) Assessing cytotoxicity of (iron oxide-based) nanoparticles: an overview of different methods exemplified with cationic magnetoliposomes. *Contrast Media Mol. Imaging*, 4:207–219.
- Stone V, Johnston H, Schins RF (2009) Development of in vitro systems for nanotoxicology: methodological considerations. *Crit. Rev. Toxicol.*, 39:613–626.
- Suh WH, Suslick KS, Stucky GD, Suh Y-H (2009) Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience. *Prog. Neurobiol.*, 87:133–170.
- Sun C, Lee JSH, Zhang M (2008) Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 60:1252–1265.
- Sun J, Zhou S, Hou P, Yang Y, Weng J, Li X, Li M (2007) Synthesis and characterization of biocompatible Fe₃O₄ nanoparticles. *J. Biomed. Mater. Res.*, A 80:333–341.
- Suzuki H, Toyooka T, Ibuki Y (2007) Simple and easy method to evaluate uptake potential of nanoparticles in mammalian cells using a flow cytometric light scatter analysis. *Environ. Sci. Technol.*, 41:3018–3024.
- Tanaka T, Halicka D, Traganos F, Darzynkiewicz Z (2009) Cytometric analysis of DNA damage: phosphorylation of histone H2AX as a marker of DNA double-strand breaks (DSBs). *Methods Mol. Biol.*, 523:161–168.
- Taton TA (2002) Nanostructures as tailored biological probes. *Trends Biotechnol.*, 20:277–279.
- Tetley TD (2007) Health effects of nanomaterials. *Biochem. Soc. Trans.*, 35:527–531.
- Thomsen LB, Linemann T, Pondman KM, Lichota J, Kim KS, Pieters RJ, Visser GM, Moos T (2013) Uptake and transport of superparamagnetic iron oxide nanoparticles through human brain capillary endothelial cells. *ACS Chem. Neurosci.*, 4:1352–1360.
- Toyokuni S, Sagripanti JL (1999) Iron chelators modulate the production of DNA strand breaks and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Free Radic. Res.*, 31:123–128.
- Valdiglesias V, Laffon B, Páraso E, Méndez J (2011) Okadaic acid induces morphological changes, apoptosis and cell cycle alterations in different human cell types. *J. Environ. Monit.*, 13:1831–1840.
- Valdiglesias V, Giunta S, Fenech M, Neri M, Bonassi S (2013a) γ H2AX as a marker of DNA double strand breaks and genomic instability in human population studies. *Mutat. Res.*, 753:24–40.
- Valdiglesias V, Costa C, Kiliç G, Costa S, Páraso E, Laffon B, Teixeira JP (2013b) Neuronal cytotoxicity and genotoxicity induced by zinc oxide nanoparticles. *Environ. Int.*, 55:92–100.
- Valdiglesias V, Costa C, Sharma V, Kiliç G, Páraso E, Teixeira JP, Dhawan A, Laffon B (2013c) Comparative study on effects of two different types of titanium dioxide nanoparticles on human neuronal cells. *Food Chem. Toxicol.*, 57:352–361.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 160:1–40.
- Vasir JK, Labhasetwar V (2005) Targeted drug delivery in cancer therapy. *Technol. Cancer Res. Treat.*, 4:363–374.

- Veranth JM, Kaser EG, Veranth MM, Koch M, Yost GS (2007) Cytokine responses of human lung cells (BEAS-2B) treated with micron-sized and nanoparticles of metal oxides compared to soil dusts. *Part. Fibre Toxicol.*, 4:2.
- Wagner V, Dullaart A, Bock A-K, Zweck A (2006) The emerging nanomedicine landscape. *Nat. Biotechnol.*, 24:1211–1217.
- Wang B, Feng W, Zhu M, Wang Y, Wang M, Gu Y, Ouyang H, Wang H, Li M, Zhao Y, Chai Z, Wang H (2009) Neurotoxicity of low-dose repeatedly intranasal instillation of nano- and submicron-sized ferric oxide particles in mice. *J. Nanopart. Res.*, 11:41–53.
- Warheit DB (2008) How meaningful are the results of nanotoxicity studies in the absence of adequate material characterization? *Toxicol. Sci.*, 101:183–185.
- Weissleder R, Stark DD, Engelstad BL, Bacon BR, Compton CC, White DL, Jacobs P, Lewis J (1989) Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity. *Am. J. Roentgenol.*, 152:167–173.
- Wiogo HTR, Lim M, Bulmus V, Yun J, Amal R (2011) Stabilization of magnetic iron oxide nanoparticles in biological media by fetal bovine serum (FBS). *J. Surf. Colloids* 27:843–850.
- Wu W, He Q, Jiang C (2008) Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies. *Nanoscale Res. Lett.*, 3:397–415.
- Wu W, Chen B, Cheng J, Wang J, Xu W, Liu L, Xia ., Wei H, Wang X, Yang M, Yang L, Zhang Y, Xu C, Li J (2010) Biocompatibility of Fe₃O₄/DNR magnetic nanoparticles in the treatment of hematologic malignancies. *Int. J. Nanomedicine*, 5:1079–1084.
- Xiang J-J, Tang J-Q, Zhu S-G, Nie X-M, Lu H-B, Shen S-R, Li X-L, Tang K, Zhou M, Li G-Y (2003) IONP-PLL: a novel non-viral vector for efficient gene delivery. *J. Gene Med.*, 5:803–817.
- Xiao-feng P, Bo D, Qiang Z (2009) Synthesis of magnetic nanobiomaterials and its biological effects. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 9:1369–1373.
- Xie H, Hu L, Li G (2010) SH-SY5Y human neuroblastoma cell line: in vitro cell model of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Chin. Med. J. (Engl.)*, 123:1086–1092.
- Xuan S, Wang F, Lai JMY, Sham KWY, Wang Y-XJ, Lee S-F, Yu JC, Cheng CHK, Leung, KC-F (2011) Synthesis of biocompatible, mesoporous Fe₃O₄ nano/microspheres with large surface area for magnetic resonance imaging and therapeutic applications. *Appl. Mater. Interfaces*, 3:237–244.
- Yi DK, Lee SS, Papaefthymiou GC, Ying JY (2006). Nanoparticle Architectures Templated by SiO₂/Fe₂O₃ Nanocomposites. *Chem. Mater.*, 18:614–619.
- Zhang T, Qian L, Tang M, Xue Y, Kong L, Zhang S, Pu Y (2012) Evaluation on cytotoxicity and genotoxicity of the L-glutamic acid coated iron oxide nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 12:2866–2873.
- Zhao J, Castranova V (2011) Toxicology of nanomaterials used in nanomedicine. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.*, 14:593–632.

VIDA DA
REAL ACADEMIA GALEGA DE CIENCIAS

RESUMO DA MEMORIA DAS ACTIVIDADES DA ACADEMIA DURANTE O ANO 2016

APERTURA DO CURSO ACADÉMICO E ENTREGA DOS PREMIOS DE INVESTIGACIÓN ERNESTO VIÉITEZ CORTIZO 2015

Ambos os dous acontecementos celebráronse conxuntamente nunha única sesión, o día 20 de Xaneiro.

No acto de Apertura de Curso, o Secretario da Academia deu lectura á memoria de actividades correspondente ao ano 2015

A lección maxistral correu a cargo da Profa. Dra. Dna. Alicia Estévez Toranzo, baixo o título “O micromioma humano: da escuridade á omnipresenza”.



Lección maxistral da Dra. Alicia Estévez

A continuación procedeuse a entrega dos Premios de Investigación Ernesto Viéitez Cortizo 2015 despois de que o Secretario dese lectura á certificación dos acordos do Pleno da Academia do 16 de decembro de 2015 en que se aprobou a concesión dos premios.

Finalmente interveu o Prof. Dr. D. Miguel Á. Ríos Fernández, Presidente da Real Academia Galega de Ciencias, quen, tras facer referencia a ambas as dúas efemérides, clausurou a sesión.

PUBLICACIÓNS

No ano 2016 a Real Academia Galega de Ciencias editou o volume XXXV da súa Revista, con axuda do financiamento achegado pola Fundación Barrié.

A páxina web da Academia, con una actualización permanente, permite facer un seguimento das actividades desenvolvidas pola Entidade. As redes Facebook e Twitter facilitan a comunicación social e o intercambio de opinión no ámbito científico.

CURSOS DE CONFERENCIAS

XIX AVANCES EN CIENCIA E TECNOLOXÍA

Ciclo: TECNOLOXÍAS DA INFORMACIÓN E DAS COMUNICACIÓNS: O FUTURO XA CHEGOU

Un país que pretenda ter un sistema produtivo sustentable, baseado no coñecemento e na aprendizaxe permanente non pode ser un mero consumidor dos produtos e servizos das Tecnoloxías da Información e das Comunicacóns, TICs, que outros desenvolven. A presenza destas tecnoloxías é tal que ninguén pode permanecer alleo a elas e aos seus avances. Por todo iso, a RAGC, en colaboración coa CEG e baixo o patrocinio da Deputación de A Coruña, organizou o ciclo de conferencias titulado Tecnoloxías da Información e das Comunicacóns: O Futuro xa chegou, que tivo lugar do 12 ao 15 de Decembro co obxectivo de dar a coñecer con rigor algún dos ámbitos nos que as TICs están tendo ou terán en pouco tempo un impacto enorme na formación de profesionais, na I+D e na produción de bens e servizos. O Ciclo estivo

coordinado polo Académico Prof. Senén Barro Ameneiro e contou coas primeiras figuras relacionadas coas TICs, tanto da Empresa privada como da Universidade e da Administración que desenvolveron temas tan interesantes como o Big Data e Data to Text; Colaboración entre máquinas e humanos a través do Crowd-computing; Centros de I+D+i en TIC: conexión co tecido productivo; ¿Poden as máquinas detectar as nosas emocións?, así como una reflexión sobre as causas e consecuencias da pouca presenza de mulleres no ámbito das TICs. O ciclo desenvolveuse en conferencias e mesas de debate e levouse a cabo con éxito na sede da Confederación de Empresarios de Galicia.

Conferencias

Dr. D. Alberto Bugarín Diz

CiTIUS, Universidade de Santiago de Compostela

Valen máis cen palabras que un millón de datos: Big Data e Data to Text

Dr. D. José Pazos Arias

Universidade de Vigo, Académico Numerario da RAGC

Colaboración entre máquinas e humanos a través do Crowd-computing

Dra. Dona Nieves Rodríguez Brisaboa

Universidade de Vigo

Como xestionar a mobilidade de persoas? Novas solución para un vello problema

Dra. D^a. Carmen García Mateo

Atlantic, Universidades de Vigo

Poden as máquinas detectar as nosas emocións? Por que terían que facelo?

Mesas de debate

1) *Estamos formando profesionais que necesita o sector das TIC?*

Moderador: Antonio Rodríguez del Corral

Presidente do Cluster TIC

Participantes na mesa:

Tino Fernández Pico, Presidente de Altia; **Santiago Cárdenas Botas**, Director Regional Noroeste de Tecnocom; **Antonio Agrasar Cascallar**, Conselleiro Delegado de Plexus; **Francisco Javier Rodríguez Martínez**, Tesoureiro de CPEIG e Director da ETSEI da Universidade de Vigo.

2) *Da Universidade á Empresa (propia)*

Moderador: Senén Barro Ameneiro

Universidade de Santiago de Compostela, Académico Numerario RAGC

Participantes na mesa:

Victor Alvarez Santos, CEO de Situm Technologies, Spin-off da USC;

Guillermo López Taboada, CEO de Torus Software, Spin-off da UdC;

Fernando Vázquez Núñez, Director Xeral de Imatia, Spin-off da UVigo.

3) *Centros de I+D+i en TIC: conexión co tecido productivo*

Moderador: Javier García Tobío

Director do CESGA

Participantes na mesa:

Paulo Félix Lamas, Director do CiTIUS, USC; **Manuel F. González Penedo**,

Coordinador do CITIC, UdC; **Luis Pérez Freire**, Director Xeral de Gradient.

4) *Moi poucas mulleres en TIC: causas e consecuencias*

Moderadora: Susana López Abella, Secretaria Xeral de Igualdade

Participantes na mesa:

Amparo Alonso Betanzos, Presidenta Da Asociación Española para la Inteligencia Artificial e profesora da UdC; **Mar Pereira Alvarez**, Directora da Axencia para a Modernización Tecnolóxica de Galicia; **Iñigo Cuiñas Gómez**, Director da Escola de Enxenería da UVigo; **Fernando Suárez Lorenzo**, Presidente do Colexio Profesional de Enxeñaría Informática de Galicia

CICLO DE CONFERENCIAS DR. D. LUIS ASOREY GARCÍA OS SOUTOS DE CASTIÑEIROS EN GALICIA

Como en anos anteriores, a Deputación Provincial de Lugo patrocinou este ciclo que tivo lugar no mes de Novembro, no salón de Actos da Deputación. Este ano o ciclo estivo adicado aos Soutos de Castiñeiros en Galicia, e foi coordinado polo Académico Prof. Antonio Rigueiro Rodríguez. O tema elixido é de palpitante actualidade e como consecuencia o ciclo tivo unha grande

repercusión e unha grande asistencia de público, no que destacou a presenza de numerosos produtores e persoas relacionadas coa produción e comercialización da castaña. Investigadores de recoñecido prestixio e especialistas do tema abordaron aspectos tan interesantes para o sector como as técnicas de multiplicación dos castiñeiros, as variedades ou cultivares presentes en Galicia, tratamentos culturais e silvícolas máis adecuados, o estado sanitario dos soutos, a indicación xeográfica protexida Castaña de Galicia, problemática da comercialización e industrialización.

A Consellería de Cultura, Educación e Ordenación Universitaria recoñeceu este Ciclo como Actividade Formativa para o Profesorado non Universitario.

Conferencias:

Dr. D. Antonio Rigueiro Rodríguez

Departamento de Producción Vexetal e Proxectos de Exeñaría da USC

Os soutos de castiñeiros. Castiñeiros senlleiros de Galicia

Dr. D. Juan Luis Fernández Lorenzo

Departamento de Producción Vexetal e Proxectos de Exeñaría da USC

Técnicas de multiplicación dos castiñeiros para soutos mansos

Dr. D. Santiago Pereira Lorenzo

Departamento de Producción Vexetal e Proxectos de Exeñaría da USC

As variedades ou cultivares de castiñeiro en Galicia

Dr. D. Roque Julio Rodríguez Soalleiro

Departamento de Producción Vexetal e Proxectos de Exeñaría da USC

Creación de soutos mansos. Tratamentos culturais e silvícolas

D. Manuel López Pérez

Secretario da Indicación Xeográfica Protexida Castaña de Galicia

A indicación xeográfica protexida Castaña de Galicia. Comercialización e industrialización da castaña. Problemática do sector

Dra. Dona Fina Lombardero Díaz

Departamento de Producción Vexetal e Proxectos de Exeñaría da USC

Estado sanitario dos soutos galegos

Mesa de debate

A biota dos soutos

Moderador: Antonio Rigueiro Rodríguez, USC

Participantes na mesa:

Antonio Rodríguez Guitián, USC; Augusto de Castro Lorenzo, USC; Julián Alonso Díaz, Presidente da Asociación Micolóxica Lucas.

DÍA DA CIENCIA EN GALICIA 2016 IGNACIO RIBAS MARQUÉS E ENTREGA DO PREMIO GALICIA DE XORNALISMO CIENTÍFICO



A Real Academia Galega de Ciencias, na súa sesión plenaria do 16 de Decembro de 2015, acordou nomear ao Prof. Dr. D. Ignacio Ribas Marqués como Científico Galego do ano 2016 sobre a base da súa labor como químico orgánico. Esta foi a novena edición do Día da Ciencia en Galicia, ata agora chamado Día do Científico Galego.

O acto central do homenaxe a D. Ignacio Ribas tivo lugar o día 8 de outubro, na Aula Magna da Facultade de Química da USC baixo a presidencia do seu Reitor, con gran presenza de público, autoridades, antigos alumnos,

familiares, etc. No mesmo acto celebrouse a entrega do I Premio Galicia de Xornalismo Científico, convocado pola RAGC e patrocinado pola Axencia Galega de Innovación GAIN, dotado con 4.000 € netos e que o xurado acordou, por unanimidade, conceder ao xornalista D. Raúl Romar García, polo seu artigo publicado na Voz de Galicia, *“Galicia reclutará 1.000 pacientes en el mayor ensayo para tratar la artrosis”*.



Raúl Romar recollendo o premio

Ambos actos celebráronse conxuntamente nunha sesión única e axustáronse ao seguinte programa:

- Benvida e apertura do acto polo Presidente da RAGC.
- Proxección dun vídeo homenaxe a D. Ignacio Ribas no que participaron antigos alumnos.
- Conferencia: “Ignacio Ribas, Fundador da Escola Galega de Química Orgánica” impartida polo Prof. Dr. D. Luis Castedo, Catedrático de Química Orgánica da USC.
- Entrega do I Premio Galicia de Xornalismo Científico
- Peche do acto polo Presidente da Real Academia Galega de Ciencias, Prof. Dr. D. Miguel Á. Ríos Fernández, finalizando co himno galego.



Momento da homenaxe a D. Ignacio

En colaboración coa Fundación Pedro Barrié de la Maza, a través da súa Área de Investigación e Educación, editouse unha Unidade Didáctica relacionada coa vida e obra de D. Ignacio Ribas e un pequeno vídeo que se difundiron a todos os centros escolares de Galicia.

O mesmo 8 de Outubro, por parte do Concello de Santiago de Compostela e en colaboración coa Real Academia Galega de Ciencias, tivo lugar o acto de colocación dunha placa en homenaxe a D. Ignacio Ribas con motivo da celebración do Día da Ciencia en Galicia no Parque das Ciencias Isidro Parga Pondal.

Como actos complementarios a homenaxe de D. Ignacio Ribas caben destacar a exposición con publicacións, condecoracións, placas, etc. de D. Ignacio, facilitadas pola súa familia, que estivo exposta na planta baixa da Facultade de Química durante 4 semanas; a edición dun folleto divulgativo sobre a vida e obra de D. Ignacio así como unha exposición itinerante en Institutos de Ensino Superior preparados polo Colexio de Químicos de Galicia, e a celebración de dúas conferencias nas Universidades de Santiago e A Coruña a cargo do Prof. Luis Castedo Expósito. Finalmente, o Consello da Cultura de Galicia editou unha reportaxe específica lembrando a D. Ignacio Ribas que pode consultarse na súa páxina web.



Imaxe da exposición do Día da Ciencia en Galicia

PREMIOS Á TRANSFERENCIA DE TECNOLOXÍA

Durante o ano 2016 a Real Academia Galega de Ciencias (RAGC), co patrocinio da Axencia Galega de Innovación (GAIN), convocou a segunda edición dos **Premios á Transferencia de Tecnoloxía en Galicia** con premios en tres modalidades:

a) **Premio a un traballo de investigación aplicada**, dotado con **6.000 €** netos e una axuda para a formación dun membro do equipo dotado con 4.000 € netos.

b) **Premio empresarial a un caso de éxito en transferencia de tecnoloxía en Pemes**, dotado con **12.000 €** netos

c) **Premio empresarial a un caso de éxito en transferencia de tecnoloxía en grandes empresas**, dotado con **6.000 €** netos para o Grupo de Investigación e a entrega dunha placa honorífica para a empresa.

O Xurado, composto por membros da RAGC, GAIN, IGAPE e CEG, decidiu, por unanimidade, conceder o premio de investigación aplicada ao titulado “Nuevas estrategias para la prevención y el tratamiento de enfermedades orales bacterianas” do que son autores os doutores Ana M^a Otero Casal, Andrea Muras Mora, Celia Mayer Mayer, Manuel Romero Bernárdez, Natalia Mallo Seijas, Tamara Camino Martínez, Lucía G^a Jartín,

del Dpto de Microbioloxía e Parasitoloxía da USC; Vanesa Blanc Pociello, de Dentaïd Research Center e José Manuel Pose Rodríguez, M^a de la Paz Otero Casal y José M^a Suárez Quintanilla, do Dpto de Cirurxía e Especialidade Médico-Cirúrxica da USC.

O premio á axuda para a formación foi recollido por Andrea Muras Mora.

O premio de Pemes foi concedido a empresa EVASA, con sede en As Pontes (A Coruña), que desenvolveu o traballo en colaboración co Instituto Tecnolóxico de Materiais de Asturias (ITMA), recolleu o premio o Presidente do Consello de Administración, D. José M^a González Pardo.

O premio a grandes empresas recaeu na empresa REGANOSA, con sede en Mugardos (A Coruña). O equipo de investigación premiado, quen pertence ao Instituto Tecnolóxico de Matemática Industrial (ITMATI), está formado por Alfredo Bermúdez de Castro, Julio Glez. Díaz, Francisco José González Diéguez, Paula Raña Míguez, Ángel Manuel González Rueda, José Manuel Abuín Mosquera, Diego Rodríguez Martínez, Alejandro Saavedra Nieves, Xíán López Álvarez, Adolfo Núñez Fernández e Íker González Santamaría.

A placa conmemorativa foi recollida polo Director Xeral de Reganosa, D. Emilio Bruquetas Serantes, de mans do Conselleiro de Economía, Emprego e Industria, D. Francisco Conde López.



Intervención do Conselleiro, Sr. D. Francisco Conde

O día 11 de Novembro de 2016 tivo lugar no Pazo de San Roque a cerimonia de entrega destes premios nun solemne acto que estivo copresidido polo Conselleiro de Economía, Emprego e Industria D. Francisco Conde e o Presidente da Academia Prof. Miguel Angel Ríos. No nome dos investigadores premiados falou o Prof. Alfredo Bermúdez de Castro. D. José María González Pardo agradeceu a Academia e a GAIN o premio en nome da pequena empresa EVASA e o mesmo fixo D. Emilio Bruquetas Serantes no nome de REGANOSA.



Os premiados co Conselleiro de Economía, Emprego e Industria, o Reitor da USC e o Presidente da RAGC

PREMIOS DE INVESTIGACIÓN ERNESTO VIÉITEZ CORTIZO 2016

O xurado calificador reuniuse o 28 de Outubro de 2016 para propoñer os traballos gañadores e o Pleno da Academia do 14 de Decembro aprobou, por unanimidade, a proposta do xurado. Os traballos premiados foron:

• Premio na modalidade de Traballo de Investigación

“Detección rápida de anisákidos mediante espectrometría de masas PRM (Parallel Reaction Monitoring)”

Autores: Drs. D^a. Mónica Carrera Mouriño, D. José Manuel Gallardo Abuín, D. Santiago Pascual del Hierro, D. Ángel Francisco González González y D^a. María Isabel Medina Méndez, do Instituto de Investigacións Mariñas (IIM) de Vigo, CSIC.

• Mención Honorífica para un Traballo de Investigación

“Caracterización espectral do signo constante da función de Green dos problemas $(k, n - k)$ ”

Autores: Drs. D. Alberto Cabada Fernández e D^a. Lorena Saavedra López, do Departamento de Análisis Matemática, Facultade de Matemáticas, da Universidade de Santiago de Compostela

• Premio Promoción de Novos Investigadores menores de 28 anos

“La ingesta de dieta alta en grasa disminuye la producción por el estómago de FNDC5, una proteína a la que se le ha atribuido un papel protector frente a la obesidad”

Autora: D^a Silvia Barja Fernández, da Fundación Ramón Domínguez, do Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela.

• Mención Honorífica Premio Promoción de Novos Investigadores

“Reconocimiento selectivo de largas secuencias de ADN con construcciones peptídicas multicomponentes”

Autora: D^a. Jéssica Rodríguez Villar, do Centro Singular de Investigación en Química Biolóxica e Materiais Moleculares (CIQUS), USC.



Premios Investigación Ernesto Viéitez Cortizo 2016 coa Presidencia do acto

INCORPORACIÓN DE NOVOS ACADÉMICOS

Durante o ano 2016 tivo lugar a incorporación de novos Académicos Numerarios, segundo resolución do Pleno da Academia do 16 de Decembro de 2015, de acordo coa seguinte secuencia:

Prof. Dr. D. Juan José Nieto Roig, Catedrático da USC. Tomou posesión o 24 de Abril de 2016. Pronunciou o discurso de entrada baixo o título: “Matemáticas para la complejidad”. O discurso de contestación correu a cargo do Académico Prof. Gerardo Rodríguez López

Prof. Dr. D. Juan Manuel Lema Rodicio, Catedrático da USC na área de Enxeñaría Química. Tomou posesión o 25 de Maio de 2016. Pronunciou o discurso de entrada sobre “Do Antropocentrismo ao Ecocentrismo ou da Enxeñaría sanitaria á Enxeñaría Ambiental”. A contestación correu a cargo do Académico Prof. Franco Fernández González

Prof. Dr. D. José Juan Pazos Arias, Catedrático da Uvigo no Dpto. De Enxeñaría de Telemática. Tomou posesión o 29 de Xuño de 2016. Pronunciou o discurso de entrada sobre: “Crecimiento exponencial de la información.

Del Big Data al Small data”. Contestou a seu discurso o Académico Prof. Fernando Pérez González

Prof. Dr. D. José Ramón Cancelo de la Torre, Catedrático da UdC no Dpto. de Economía Aplicada II. Tomou posesión o 14 de Setembro de 2016. Pronunciou o discurso de entrada sobre: “La crisis de la eurozona: una historia de desequilibrios y asimetrías”. Contestou a o seu discurso o Académico Prof. Luis Caramés Vieitez

CONVENIOS

Este ano a Academia asinou os seguintes convenios de colaboración:

- Coa Excma. Deputación Provincial da Coruña, para o desenvolvemento dos XIX Avances en Ciencia e Tecnoloxía.
- Coa Excma. Deputación de Lugo para a celebración do Ciclo de Conferencias Dr. D. Luis Asorey García.
- Coa Axencia Galega de Innovación para o patrocinio dos Premios á Transferencia de Tecnoloxía en Galicia e o Premio Galicia de Xornalismo Científico.

Así mesmo, a Academia mantén coa Confederación de Empresarios de Galicia o Convenio Marco para a difusión social da ciencia en Galicia e sua aproximación ao sector empresarial galego; e coa Fundación Pedro Barrié de la Maza o convenio de colaboración destinado a publicacións e outras actividades.

NECROLOXÍA

Durante o ano 2016 a Academia sufriu a perda de tres dos seus Académicos de Número. O Prof. Dr. D. Ramón de Vicente Vázquez faleceu en Ferrol, o 19 de Febreiro de 2016; o Prof. Dr. D. Odón Luis Abad Flores que faleceu na Coruña o 26 de maio e o Prof. Dr. D. Luis Suárez-Llanos Gómez, que faleceu en Santiago de Compostela o 9 de xullo de ese mesmo ano.

IN MEMORIAM



Ramón de Vicente Vázquez

El día 19 de Febrero de 2016 se recibía en la sede de la Academia, desde Ferrol, la triste e inesperada noticia del fallecimiento de nuestro compañero Ramón de Vicente Vázquez. Hombre jovial y de una gran vitalidad aportó siempre su conocimiento y experiencia a través de la Sección de Ciencias Técnicas, sección en la que estaba encuadrado desde su ingreso en la Academia en el año 2000. Su discurso de entrada en la Institución versó sobre “Génesis de la Ciencia Nuclear. La radioactividad y el descubrimiento del radio”.

Ramón de Vicente nos deja una experiencia vital rica en experiencias que, de alguna forma, definen su personalidad. Ingeniero naval de formación, formó parte de la plantilla de Astano, fue Catedrático por la Universidad de A Coruña y primer director de la Escuela de Ingenieros Técnicos Navales. Hizo su incursión en la política, siendo parlamentario autonómico y ostentó el cargo

de Conselleiro de Industria, Enerxía e Comercio (1982-1983) en el Gobierno del Sr. Fernández Albor. En el año 2003 recibió la Medalla de Bronce de Galicia. Durante su etapa política destacó por su empeño en modernizar la electrificación del rural gallego y la difusión a nivel nacional e internacional de la moda gallega.

Todos los que le hemos tratado dentro de la Academia destacamos su personalidad, su disposición a colaborar en los actos y eventos programados, sus atinados comentarios en los plenos y su colaboración activa en la organización de jornadas específicas, algunas de las cuales organizó directamente en Ferrol, como fueron las Jornadas en Ciencia y Tecnología. Participó en todas las reuniones convocadas hasta las últimas semanas antes de su fallecimiento. Dado su carácter abierto y amable resultaba muy fácil comunicarse con él y conservar su amistad y trato. Casado con Doña María José Aldecoa Argalla, fue padre de 6 hijos, y desde aquí queremos enviarles nuestro sentimiento de pesar.

Desde estas páginas, queremos rendir tributo a este insigne Académico y amigo, agradeciéndole su entrega, dedicación y la agradable convivencia con la que nos obsequió por su gran calidad humana.

Descanse en paz.

Antonio Ballester

Académico de Número

Real Academia Galega de Ciencias

IN MEMORIAM



Odón Abad Flores

Mi primera impresión cuando conocí a D. Odón Abad Flores, en un acto de la Real Academia Galega de Ciencias, fue el de una persona responsable y cordial. Como es natural, en tan breve período no es posible tener más que una idea somera de su personalidad. Con el discurrir del tiempo, su presencia en la vida de nuestra Institución, me permitió corroborar las cualidades anteriormente mencionadas, además de añadir otras, constitutivas de su riqueza personal, como la finura intelectual, la iniciativa y la amplitud de conocimientos, que fueron creciendo y perfeccionando en diferentes disciplinas del saber, si bien, se circunscriben, en esencia, a las ciencias experimentales y a la literatura.

En el ámbito de su actividad profesional, su amplia erudición la dedicó, en su mayor parte, al desarrollo de la Agricultura en Galicia, siendo es-

pecialmente relevante sus decisivas aportaciones al desenvolvimiento de la Concentración Parcelaria y, en definitiva, al progreso agrario y económico de nuestro país. Asimismo, detentó un importante número de cargos de elevada responsabilidad en la Administración, relacionados con sus áreas de trabajo.

De su bagaje científico, también nuestra Academia se vio beneficiada, tanto por sus meditadas opiniones, como por su objetividad y acierto, en la resolución de multitud de problemas, que de forma continuada iban surgiendo en el ámbito de las tareas inherentes a nuestra Institución.

Dado que la muerte es compañera inseparable de la vida, como lo es nuestra sombra tras el sol que nos ilumina; a la puerta de Odón Abad Flores vino a llamar la primera, dejándonos huérfanos de su inestimable y grata presencia, en el año que también ha llegado a término.

Tito Antonio Varela López

Académico de Número

Real Academia Galega de Ciencias

IN MEMORIAM



Luis Suárez-Llanos Gómez

El 9 de julio de 2016 se producía la triste noticia del fallecimiento del profesor Luis Suárez-Llanos Gómez, catedrático de Derecho Mercantil de la Universidad de Santiago de Compostela y miembro de número de la Academia desde el momento de su constitución. De los años 70 proceden mis recuerdos de sus clases y de su relevante participación en la vida de la Facultad de Economía, a donde había llegado desde Málaga, en 1968. Eran tiempos fundacionales en lo universitario y convulsos en lo político, y el profesor Suárez-Llanos se movió con inteligencia y soltura en los dos ámbitos, no en vano, sobre todo en el campo de las instalaciones y del profesorado, traía una rica e intensa experiencia del campus malacitano.

La buena mano de Luis en el gobierno de la Facultad desde su Decanato, que ejerció entre 1969 y 1971, con extensión, en funciones, del 74 al 80, supuso el asentamiento de un centro que nació en precario, al tiempo que se convertía en un foco catalizador de protestas sociales y políticas contra el régimen de entonces, lo que llevó a decir a la autoridad rectoral, como solía recordar el profesor Suárez-Llanos, que “olía a puro rojerío”. En este sentido, la impronta de Luis fue la de hombre dialogante y con contrastada capacidad negociadora, convirtiéndose en una de las vigas maestras de la consolidación del centro.

Desde el punto de vista docente, se trataba de un catedrático con condiciones naturales extraordinarias para la claridad expositiva, siempre a mano el código de comercio, llevando al alumnado, con maestría y meritoria amenidad, por los temas propios de la disciplina, como la empresa, el empresario y sus colaboradores, la tutela de la competencia, la letra de cambio, el cheque, las sociedades mercantiles, los contratos, el “leasing”, el “factoring”... Y todo desde aquella figura distinguida, barbada, desenvuelta, cariñosa también, siempre en disposición de escuchar y aconsejar, con un sentido personal de la estética, que le llevó a iniciar una valiosa colección de pintura y escultura de autores del país, que luego otros proseguimos.

Sencillo en las maneras, bueno en su carácter, llegado a una Compostela que amó sin olvidar el Vigo natal, le correspondió una complicada tarea y la afrontó con resolutiva voluntad y espíritu de servicio, no siempre reconocido, como suele ser común, convirtiendo ideas y quizá sueños, en hechos, de los que hoy pueden dar testimonios muchas promociones de economistas.

Luis Caramés Vieitez

Académico de Número

Real Academia Galega de Ciencias

COMPOSICIÓN DA REAL ACADEMIA

XUNTA DE GOBERNO

Miguel Ángel Ríos Fernández, Presidente
Franco Fernández González, Vicepresidente
Antonio Ballester Álvarez-Pardiñas, Secretario
Manuel Freire Rama, Tesorero
Antonio Rigueiro Rodríguez, Bibliotecario
Presidentes das Seccións

SECCIÓNS

MATEMÁTICAS, FÍSICA E FÍSICA DO COSMOS

Félix Vidal Costa (Presidente da Sección), Juan José Nieto Roig (Secretario da Sección), Vicente Pérez Villar, Luis Ángel Cordero Rego, Gerardo Rodríguez López.

QUÍMICA E XEOLOXÍA

Juan Ramón Vidal Romani (Presidente da Sección), Antonio Ballester Álvarez-Pardiñas (Secretario da Sección), Franco Fernández González, Miguel Ángel Ríos Fernández, Fernando Fraga Rodríguez.

FARMACIA E BIOLOXÍA

Alicia Estévez Toranzo (Presidenta da Sección), Manuel Freire Rama (Secretario da Sección), Tito Antonio Varela López, Ángel María Carracedo Álvarez, María Josefa Alonso Fernández, Rafael Tojo Sierra, Manuel Pereiro Miguens.

CIENCIAS TÉCNICAS

Pedro Merino Gómez (Presidenta da Sección), Juan Lema Rodicio (Secretario da Sección), Fernando Pérez González, Ramón Doallo Biempica, Senén Barro Ameneiro, Antonio Rigueiro Rodríguez, José Juan Pazos Arias.

CIENCIAS SOCIAIS E ECONÓMICAS

Juan Ramón Quintás Seoane (Presidente da Sección), Luis Caramés Viéitez (Secretario da Sección), José Ramón Cancelo de la Torre.

CONSELLO DE PUBLICACIÓNS

Miguel Ángel Ríos Fernández, Presidente

Antonio Ballester Álvarez-Pardiñas, Secretario

Luis Cordero Rego, Vocal

ACADÉMICOS NUMERARIOS

María José Alonso Fernández

Antonio Ballester Álvarez-Pardiñas

Senén Barro Ameneiro

José Ramón Cancelo de la Torre

Luis Caramés Viéitez

Ángel María Carracedo Álvarez

Luis Cordero Rego

Ramón Doallo Biempica

Alicia Estévez Toranzo

Franco Fernández González

Fernando Fraga Rodríguez

Manuel Freire Rama

Juan Manuel Lema Rodicio

Pedro Merino Gómez

Juan José Nieto Roig

José Juan Pazos Arias

Manuel Pereiro Miguens

Fernando Pérez González

Vicente Pérez Villar

Juan Ramón Quintás Seoane

Antonio Rigueiro Rodríguez

Miguel Ángel Ríos Fernández

Gerardo Rodríguez López

Rafael Tojo Sierra

Tito Antonio Varela López

Félix Vidal Costa

Juan Ramón Vidal Romaní

ACADÉMICOS DE HONRA

Excmo. Prof. Dr. Federico Mayor Zaragoza

ACADÉMICOS CORRESPONDENTES

Prof. Dr. Luis Castedo Expósito

Prof. Dra. M^a Pilar Fernández Otero

Prof. Dr. José L. Blanco González

Prof. Dr. Jaime García Lombardero

Prof. Dr. Lieven Vanhecke

Prof. Dr. Jochen Kleinschmit

Prof. Dr. Roberto Salema

Excmo. Prof. Dr. Santiago Grisolia

Prof. Dr. Fernando Noronha

Prof. Dr. Gary J. Griffin

PUBLICACIÓNS DA REAL ACADEMIA

DISCURSOS DE RECEPCIÓN DE NOVOS ACADÉMICOS

A determinación da arquitectura. **Rafael Baltar Tojo**, 1980.

As ciencias matemáticas, esas descoñecidas. **Luis A. Cordero Rego**, 1982.

Concepto de metodoloxía da antropoloxía biolóxica. Primeiras aplicacións na poboación galega. **Tito A. Varela**, 1982.

Home e técnica. **Odón Abad Flores**, 1982.

Ideas sobre la investigación agraria. **Valeriano Yepes Hernández de Madrid**, 1984.

Evolución del crecimiento, maduración y desarrollo humano en Galicia, 1900-1980. **Rafael Tojo Sierra**, 1984.

Ecuacións diferenciais e ciencia. **Gerardo Rodríguez López**, 1985.

O home dentro do sabio: Pedro Joseph de Bermés (1770-1824). **Valentín Paz Andrade**, 1985.

La historia de la micología médica. **Manuel Pereiro Miguens**, 1986.

La industrialización de la sardina hace 200 años. La pesca en Galicia en la época de Cornide Saavedra. **Francisco López Capont**, 1986.

Oceanografía de la plataforma gallega. **Fernando Fraga Rodríguez**, 1987.

Cartografía Xurisdiccional de Galicia no século XVIII. Provincia de Santiago. **Francisco Río Barja**, 1988.

El matorral como recurso renovable. **Manuel Bao Iglesias**, 1989.

Polímeros de alta estabilidad térmica. **Santiago González-Babé Ozores**, 1991.

Sobre algúns aspectos experimentais das fluctuacións do parámetro de orde nos óxidos de cobre super conductores. **Félix Vidal Costa**, 1992.

Historia y objetivos del diseño cuantitativo de fármacos. **Franco Fernández González**, 1993.

Acto de ingreso del Excmo. Prof. Dr. D. Camilo José Cela en la Real Academia Galega de Ciencias bajo la presidencia de S.A.R. el Príncipe de Asturias D. Felipe de Borbón y Grecia, 1996.

Estructuras Dinámicas. **Vicente Pérez Villar**, 1998.

Las timosinas α en la Biología de las células de mamíferos. **Manuel Freire Rama**, 1998.

Génesis de la Ciencia Nuclear. La Radioactividad y el descubrimiento del Radio. **Ramón de Vicente Vázquez**, 2000.

Antropología y transformismo. El pensamiento biológico y la posición crítica del P. Agustino Zacarías Martínez Núñez (†). Arzobispo que fue de Santiago de Compostela. **Luis Asorey García**, 2002.

Bosques e paisaxe en Galicia. **Antonio Rigueiro Rodríguez**, 2002.

Reflexiones sobre la Ciencia y la Técnica. **Miguel Angel Ríos Fernández**, 2004.

La biotecnología vegetal aplicada a la producción forestal. **Antonio Ballester Álvarez-Pardiñas**, 2004.

A derradeira adiviña de Shannon. **Fernando Pérez González**, 2014.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discursoragc_fpg.pdf

Estado actual y retos futuros en la lucha frente a enfermedades microbianas en Acuicultura. **Alicia Estévez Toranzo**, 2014.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discurso_alicia_pdf.pdf

La naturaleza como fuente de inspiración en el diseño de nanomedicamentos.

María José Alonso Fernández, 2014.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discurso_mja.pdf

Geología de Galicia: Como armar un rompecabezas. **Juán Ramón Vidal Romaní**, 2015.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discurso_ingreso_prof._dr._d._juan_ramon_vidal_roman.pdf

Bases Científicas da Revolución dos Metais no Século XX. Unha Prospección Tecnolóxica. **Pedro Merino Gómez**, 2015.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discurso_ingreso_del_prof._dr._d._pedro_merino_gomez.pdf

Entre la Miopía y la Avaricia: Un recorrido por la Crisis Financiera.

Luis Caramés Vieitez, 2015.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/definitivo_entre_la_miopia_y_la_avaricia_version_definitiva.pdf

Acidificación do Mar: Unha Consecuencia das Emisións de CO2.

Aida Fernández Ríos, 2015.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discurso_aidafrios1.pdf

No camiño da Computación exaescala. **Ramón Doallo Biempica**, 2015.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discursoragc_doallo.pdf

Poden pensar as máquinas? **Senén Barro Ameneiro**, 2015.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discurso_senen_pdf.pdf

Matemáticas para la complejidad. **Juan José Nieto Roig**, 2016.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/ragc_discurso_27abr2016_parapublicarenpdf.pdf

Do Antropocentrismo ao Ecocentrismo ou da Enxeñaría sanitaria á Enxeñaría ambiental.

Juan Manuel Lema Rodicio, 2016.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/do_antropocentrismo_o_ecocentrismo_ou_da_enxenaria_sanitaria_a_enxenaria_ambiental.pdf

Crecimiento exponencial de la información. Del Big Data al Small data.

José Juan Pazos Arias, 2016.

<http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discurso.pdf>

La crisis de la eurozona: una historia de desequilibrios y asimetrías.

José Ramón Cancelo de la Torre, 2016.

http://www.ragc.gal/sites/default/files/discursos/discurso_ingreso_ragc_jose_ramon_cancelo_de_la_torre.pdf

OUTRAS PUBLICACIÓNS

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume I, 1982.

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume II, 1983.

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume III, 1984.

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume IV, 1985.

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume V, 1986.

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume VI, 1987.

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume VII, 1988.

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume VIII, 1989.

Boletín da Academia Galega de Ciencias, volume IX, 1990.

Revista Academia Galega de Ciencias, volume X, 1991.

Revista Academia Galega de Ciencias, volume XI, 1992.

- Revista Academia Galega de Ciencias, volume XII, 1993.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XIII, 1994.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XIV, 1995.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XV, 1996.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XVI, 1997.
- Reglamento de la Real Academia Galega de Ciencias (modificado R.D. 70/1998) (B.O.E. 18-2-1998).
- Guía de las babosas ibéricas. José Castillejo Murillo, 1998, 156 pp.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XVII, 1998.
- El desarrollo industrial pesquero en el siglo XVIII. Los salazoneros catalanes llegan a Galicia. Francisco López Capont, 1999.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XVIII, 1999.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XIX, 2000.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XX, 2001.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXI, 2002.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXII, 2003.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXIII, 2004.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXIV, 2005.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXV, 2006.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXVI, 2007.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXVIa, 2007. Volume especial adicado ao XXV Aniversario da Facultade de Física da Universidade de Santiago de Compostela
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXVII, 2008.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXVIII, 2009.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXIX, 2010.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXX, 2011.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXXI, 2012.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXXII, 2013.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXXIII, 2014.
- Revista Real Academia Galega de Ciencias, volume XXXIV, 2015.

CURSOS DE CONFERENCIAS PUBLICADOS

- “Homenaje a Cruz Gallástegui”, 1985, 191 pp.
- “La lluvia ácida”, 1987, 60 pp.
- “España y el Mercado Común”, 1988, 98 pp.

- “Especies frondosas en la repoblación de Galicia”, 1989, 67 pp.
- “Conferencias sobre el Río Miño”, 1989, 112 pp.
- “Homenaje a Valentín Paz Andrade”, 1991, 95 pp.
- “Drogodependencias”, 1991, 132 ps.
- “El hombre y su entorno”, 1992, 120 pp.
- “Las especies frondosas en la repoblación de Galicia”, 1992, 125 pp.
- “La conservación del bosque”, 1992, 131 pp.
- “El cáncer, prevención y futuro”, 1993, 206 pp.
- “Xornadas Luso-Galaicas de Ciencias, 1990-1992”, 1993, 249 pp.
- “Biotecnologías”, 1994, 155 pp.
- “Las Rías Bajas y el Arco Atlántico”, 1995, 253 pp.
- “La pesca en Galicia: Presente y futuro”, 1996, 129 pp.
- “Biodiversidad forestal”, 1997, 148 pp.
- “La conservación del medio ambiente”, 1998, 221 pp.
- “La conservación del entorno humano”, 1999, 87 pp.
- “Biotecnologías: Biotecnología alimentaria”, 1999, 262 pp.
- “Recursos agroalimentarios de Galicia”, 1999, 182 pp.
- “Las aguas de la provincia de Ourense”, 1999, 126 pp.
- “Recursos naturales de Galicia”, 1999, 105 pp.
- “Energía y Futuro”, 2000, 246 pp.
- “Aspectos actuales del cáncer”, 2001, 143 pp.
- “IV y V Avances de Ciencia y Tecnología”, 2003, 403 pp.
- “XI Jornadas Luso-Galaicas de Ciencia y Desarrollo”, 2004, 125 pp.

INSTRUCCIÓN PARA OS AUTORES

1. A *Revista da Real Academia Galega de Ciencias* é unha publicación que publica artigos científicos orixinais, de revisión, ou notas relacionadas coa Química, Física, Xeoloxía, Bioloxía, Farmacia, Matemáticas, Ciencias Técnicas, Ciencias Sociais e Económicas.

2. *Presentación dos artigos.* O manuscrito orixinal (escrito en español, galego ou inglés) en papel e unha copia electrónica en CD deberán enviarse ao **Sr. Secretario, Real Academia Galega de Ciencias, Facultade de Química-Avda. das Ciencias, s/n. 15782 Santiago de Compostela. España.** O CD (o formato PDF non é aceptable) deberá identificarse co título do traballo e o nome do autor responsable.

3. *Preparación do manuscrito.* O traballo presentarase a dobre espazo en papel DIN-A4, cunha marxe de 2.5 cm e as páxinas irán numeradas consecutivamente. A primeira páxina conterá o título do traballo e nome do autor ou autores, dirección do lugar de traballo e correo electrónico do autor responsable do traballo. Incluirase un resumo de non máis de 150 palabras no mesmo idioma no que está escrito o texto así como unha versión en inglés se o texto non está escrito neste idioma. Engadiranse 4-5 palabras clave que expresen o contido preciso do manuscrito e que utilizaranse nos índices apropiados. A continuación, incluíranse Introducción, Material e Métodos, Resultados, Discusión (estes dous últimos ben separados ou en forma combinada), Agradecementos, Bibliografía, Táboas (preparadas coa opción “Táboa” do procesador de textos, numeradas consecutivamente e co texto na parte superior da mesma), Lendas das figuras e Figuras (numeradas consecutivamente).

4. *Fotografías e figuras.* A Revista só publicará, na súa versión impresa, as fotografías e figuras dos traballos en branco e negro. Se o autor ou autores desexan a súa publicación en cor, deberán abonar o seu importe (consultar prezos) despois de remitir as probas de imprenta. As fotografías en cor poderán usarse, sen cargo algún, na edición electrónica da revista (www.ragc.cesga.es), sempre que os arquivos estean en cor. As fotografías deberán gravarse en formatos PhotoShop, .TIF ou .JPG (neste caso, coa menor compresión posible) e os gráficos poden almacenarse en formato CorelDraw (.CDR) ou en formato .EPS.

5. *Bibliografía.* As referencias bibliográficas ordenaranse alfabeticamente e dispostas como nos exemplos seguintes:

Revista Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15:473-497.

Capítulo de libro Faquar GD, Caemmerer S (1982) Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. In Lange OL, Noble PL, Osmon CB, Ziegler H (eds.) *Encyclopedia of Plant Physiology. Physiological plant ecology II*, vol 12 B. Springer, Berlín, pp 550-587.

Libro. Scharze FW, Engels J, Mattheck C (2000) *Fungal Strategies of Wood Decay in Trees.* Springer, Berlín.

As citas no texto escribíranse: Gil (2006), Smith y Robinson (1984), Kumar et al. (2005).

6. *Probas de imprenta.* As probas de imprenta, debidamente corrixidas, deberán devolverse ao editor dentro dos dez días seguintes ao da súa recepción. Modificacións substanciais do manuscrito orixinal serán cargadas aos autores.

7. *Separatas.* Non se enviarán separatas en papel. Os autores recibirán un arquivo PDF co contido do seu traballo

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

1. La *Revista de la Real Academia Galega de Ciencias* es una publicación que publica artículos científicos originales, de revisión, o notas relacionadas con la Química, Física, Geología, Biología, Farmacia, Matemáticas, Ciencias Técnicas, Ciencias Sociales y Económicas.

2. *Presentación de los artículos.* El manuscrito original (escrito en español, gallego o inglés) en papel y una copia electrónica en CD deberán enviarse al **Sr. Secretario, Real Academia Galega de Ciencias, Facultade de Química-Avda. das Ciencias, s/n. 15782 Santiago de Compostela. España.** El CD (el formato PDF no es aceptable) deberá identificarse con el título del trabajo y el nombre del autor responsable.

3. *Preparación del manuscrito.* El trabajo se presentará a doble espacio en papel DIN-A4, con un margen de 2.5 cm y las páginas irán numeradas consecutivamente. La primera página contendrá el título del trabajo y nombre del autor o autores, dirección del lugar de trabajo y correo electrónico del autor responsable del trabajo. Se incluirá un resumen de no más de 150 palabras en el mismo idioma en que está escrito el texto así como una versión del mismo en inglés si el texto no está escrito en este idioma. Se añadirán 4-5 palabras clave que expresen el contenido preciso del manuscrito y que se utilizarán en los índices apropiados. A continuación se incluirán Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión (estos dos últimos bien separados o en forma combinada), Agradecimientos, Bibliografía, Tablas (preparadas con la opción "Tabla" del procesador de textos, numeradas consecutivamente y con el texto en la parte superior de la misma), Leyendas de las figuras y Figuras (numeradas consecutivamente).

4. *Fotografías y figuras.* La Revista sólo publicará, en su versión impresa, las fotografías y figuras de los trabajos en blanco y negro. Si el autor o autores desean su publicación en color, deberán abonar su importe (consultar precios) después de remitir las pruebas de imprenta. Las fotografías en color pueden usarse, sin cargo alguno, en la edición electrónica de la revista (www.ragc.cesga.es), siempre que los archivos estén en color. Las fotografías deberán grabarse en formatos PhotoShop, .TIF o .JPG (en este caso, con la menor compresión posible) y los gráficos pueden almacenarse en formato CorelDraw (.CDR) o en formato .EPS.

5. *Bibliografía.* Las referencias bibliográficas se ordenarán alfabéticamente y dispuestas como en los ejemplos siguientes:

Revista Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15:473-497.

Capítulo de libro Faquar GD, Caemmerer S (1982) Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. In Lange OL, Noble PL, Osmon CB, Ziegler H (eds.) *Encyclopedia of Plant Physiology. Physiological plant ecology II*, vol 12 B. Springer, Berlín, pp 550-587.

Libro. Scharze FWMR, Engels J, Mattheck C (2000) *Fungal Strategies of Wood Decay in Trees*. Springer, Berlín.

Las citas en el texto se escribirán: Gil (2006), Smith y Robinson (1984), Kumar et al. (2005).

6. *Pruebas de imprenta.* Las pruebas de imprenta, debidamente corregidas, deberán devolverse al editor dentro de los diez días siguientes al de su recepción. Modificaciones substanciales del manuscrito original serán cargadas a los autores.

7. *Separatas.* No se enviarán separatas en papel. Los autores recibirán un archivo PDF con el contenido de su trabajo.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

1. The *Revista de la Real Academia Galega de Ciencias* publishes original research papers, revisions and notes concerned with the latest developments of Chemistry, Physic, Geology, Biology, Pharmacy, Mathematics, Technology, and Social and Economical Sciences.

2. *Manuscript submission.* The original typescript (written in Spanish, Galician or English) and an electronic version in CD should be submitted to **Sr. Secretario, Real Academia Galega de Ciencias, Facultade de Química-Avda. das Ciencias, s/n. 15782 Santiago de Compostela. España.** The CD (PDF is not an acceptable format) should be identified with the title of the work and the name of the corresponding author.

3. *Manuscript preparation.* Papers should be written in double spacing throughout in DIN-A4 paper with a margin of 2.5 cm all round. Use the automatic page numbering function to number the pages. The first page should include the title, name(s) and address(es) of the author(s) as well as the e-mail of the corresponding author. An abstract no longer than 150 words is to be provided, including a copy written in Spanish or Galician. A list of 4-5 keywords is to be provided directly below the abstract and should express the precise content of the manuscript, as they are used for indexing purposes. The following sections should be included: Introduction, Material and Methods, Results, Discussion (the Results and Discussion sections may be combined or separate), Acknowledgments, References, Tables (use the table function, not spreadsheets, to make tables), Legends of figures and Figures.

4. *Figures.* The journal only publishes figures in black and white, but they could appear in color in the printed version at the author's expense (consult prices). Color may be used without charge for the electronic edition (www.ragc.cesga.es) of the journal if files are supplied. The photographs should be saved in PhotoShop, .TIF or .JPG formats (in this last case, with the less compression possible). For simple line art CorelDraw (.CDR) or .EPS formats are acceptable.

5. *References.* The references should be listed in alphabetical order in the reference list and written according the following examples:

Journal article Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15:473-497.

Book chapter Faquar GD, Caemmerer S (1982) Modelling of photosynthetic response to environmental conditions. In Lange OL, Noble PL, Osmon CB, Ziegler H (eds.) *Encyclopedia of Plant Physiology. Physiological plant ecology II*, vol 12 B. Springer, Berlín, pp 550-587.

Book Scharze FWMR, Engels J, Mattheck C (2000) *Fungal Strategies of Wood Decay in Trees.* Springer, Berlín.

In the text, references should be cited by author and year: Gil (2006), Smith and Robinson (1984), Kumar et al. (2005).

6. *Proofs.* The publisher provides proofs for checking. Corrections must be restricted to typographical errors; substantial alterations will be charged to the author. Corrections should be returned to the editor within at most ten days.

7. *Reprints.* Paper reprints will be not delivered. The authors will receive a PDF file with the content of their work