

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Medikuntzako Gradua / Grado en Medicina

Aplicación de nanopartículas antimicrobianas en medicina

Egilea /Autora:
María Gil Castellanos

Zuzendariak / Directoras:
Estibaliz Mateo Alesanco
Andrea Guridi Cortaberria

© 2023, María Gil Castellanos

Leioa, 2023eko apirilaren 27a / Leioa, 27 de abril de 2023

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a mis tutoras, Andrea Guridi y Estibaliz Mateo, por guiarme y ayudarme durante todo este camino y de la forma en la que lo han hecho. Gracias además por conseguir que mi interés por la investigación y el futuro sea todavía mayor. También agradecer a mis padres por apoyarme siempre, ante cualquier circunstancia y enseñarme a luchar por mis objetivos. Y a Miguel, por enseñarme lo que es ser valiente.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	Pág. 1
1.1. LA NANOTECNOLOGÍA CONTRA LAS ENFERMEDADES	
INFECCIOSAS	Pág. 1
1.2. NANOTECNOLOGÍA CONTRA LA RESISTENCIA	
ANTIMICROBIANA	Pág. 2
1.3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....	Pág. 3
1.4. TIPOS DE NANOPARTÍCULAS	Pág. 4
2. OBJETIVOS	Pág. 8
3. METODOLOGÍA	Pág. 8
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	Pág. 10
4.1. NANOPARTÍCULAS ANTIBACTERIANAS	Pág. 10
4.2. NANOPARTÍCULAS ANTIFÚNGICAS	Pág. 17
4.3. NANOPARTÍCULAS ANTIVIRALES	Pág. 26
4.4. NANOPARTÍCULAS ANTIPARASITARIAS	Pág. 33
5. CONCLUSIONES	Pág. 39
6. BIBLIOGRAFÍA	Pág. 40
7. ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de acción de las NP al penetrar en la membrana bacteriana.....	Pág. 3
Figura 2. CMI de los diferentes nanocompuestos con estreptomicina (STR) y neomicina (NEO).....	Pág. 11
Figura 3. Zona de inhibición (mm) producida por Fe ₃ O ₄ , Fe ₃ O ₄ /DOPA y por diferentes cantidades (mg/disco) de Fe ₃ O ₄ /DOPA/Van	Pág. 11
Figura 4. Diferentes tipos de NP desarrolladas contra hongos.....	Pág. 17
Figura 5. Administración de antifúngicos con NP.....	Pág. 19
Figura 6. Susceptibilidad antimicótica de NP de ZnO-AMB-PEG, ZnO-AMB y AMB libre contra <i>C. albicans</i> y <i>C. neoformans</i>	Pág. 20

Figura 7. Mecanismos de acción de los sistemas de administración de nanopartículas antivirales Pág. 27

Figura 8. Esquema del proceso de fagocitos para la absorción de las nanopartículas cargadas con fármacos..... Pág. 34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de nanopartículas según su composición, características principales y aplicaciones en medicina.....Pág. 5

Tabla 2. Criterios de inclusión y exclusión Pág. 9

Tabla 3. Artículos seleccionados en base a las estrategias de búsqueda..... Pág. 9

Tabla 4. Estudios analizados acerca de nanoformulaciones antibacterianas.... Pág. 13

Tabla 5. Estudios analizados acerca de nanoformulaciones antifúngicas Pág. 22

Tabla 6. Estudios analizados acerca de nanoformulaciones antiviralesPág. 29

Tabla 7. Estudios analizados acerca de nanoformulaciones antiparasitarias Pág. 36

RESUMEN

Introducción: las limitaciones que presentan los fármacos convencionales para tratar las enfermedades infecciosas genera la necesidad de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas que hagan frente a este problema de interés mundial. En este contexto la nanotecnología surge como alternativa para tratar infecciones causadas por distintos patógenos resistentes a los fármacos antimicrobianos disponibles, contra aquellos que producen cáncer o para el desarrollo de vacunas más efectivas contra ellos.

Objetivos: el objetivo de este Trabajo Fin de Grado es realizar una revisión bibliográfica para conocer las posibles aplicaciones de las nanopartículas en el ámbito de la medicina contra microorganismos patógenos.

Metodología: se ha seguido la guía PRISMA y se han consultados las bases de datos y metabuscadores: *MEDLINE*, *PubMed*, *UpToDate*, *Google Scholar*, además de libros incluidos en la plataforma *ClinicalKey Student*, entre otras.

Resultados: múltiples ensayos han probado la eficacia antimicrobiana de diferentes tipos de nanopartículas en combinación con distintos fármacos, naturales y sintéticos, contra microorganismos, incluyendo bacterias, hongos, virus y parásitos. Además, se han descrito diferentes mecanismos de acción de las nanopartículas, así como sus múltiples aplicaciones.

Conclusión: las nanopartículas suponen una estrategia antimicrobiana efectiva como alternativa a los fármacos convencionales en la prevención y tratamiento de enfermedades infecciosas. Las nanopartículas descritas han demostrado actividad antimicrobiana intrínseca, una mejora del efecto antimicrobiano de los fármacos con los que se conjugan, así como capacidad de dirigir fármacos hasta el lugar de acción. A pesar de ello, se necesita más investigación en este área para su posible uso clínico y comercialización.

ABSTRACT

Introduction: the limitations of conventional drugs to treat infectious diseases creates the need to develop new therapeutic strategies to treat this worldwide problem. In this context, nanotechnology appears as an alternative to treat infections caused by different pathogens resistant to available antimicrobial drugs, against those microorganisms that cause cancer or for the development of more effective vaccines against them.

Objectives: the aim of this Final Degree Project is to perform a literature review to determine the possible applications of nanoparticles in the medical area against pathogenic microorganisms.

Methodology: the PRISMA guide was applied and the several databases and meta-search engines were consulted: MEDLINE, PubMed, UpToDate, Google Scholar, as well as books included in the ClinicalKey Student platform, among others.

Results: multiple assays have demonstrated the antimicrobial efficacy of different types of nanoparticles in combination with natural and synthetic drugs against microorganisms, including bacteria, fungi, viruses and parasites. In addition, different mechanisms of action of nanoparticles have been described, as well as their multiple applications.

Conclusion: nanoparticles represent an effective antimicrobial strategy as an alternative to conventional drugs in the prevention and treatment of infectious diseases. The nanoparticles described have demonstrated intrinsic antimicrobial activity, an enhancement of the antimicrobial effect of the drugs with which they are combined, as well as the ability to target drugs to the site of action. However, more research is needed in this area for potential clinical use and commercialization.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA NANOTECNOLOGÍA CONTRA LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Las enfermedades infecciosas causadas por diferentes microorganismos constituyen una creciente amenaza para la salud pública a nivel mundial (1). La limitada eficacia de los fármacos actuales debido al desarrollo de mecanismos que confieren resistencia frente a ellos, o los efectos secundarios de las terapias convencionales, son hoy en día algunos de los problemas inherentes a las enfermedades causadas por microorganismos. Algunas de las limitaciones de los fármacos antimicrobianos convencionales son su baja biodisponibilidad y estabilidad oral, la baja solubilidad en agua, la baja tasa de transporte a través de membranas celulares y múltiples efectos adversos sistémicos, además del inconveniente añadido de la inadecuada administración de estos agentes (2). Por ello, es necesario el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas que hagan frente a los desafíos actuales. Entre ellas, la nanotecnología está cobrando cada vez más importancia como alternativa en el desarrollo de nuevos sistemas antimicrobianos.

La nanotecnología es la ciencia que involucra estructuras, dispositivos y sistemas con novedosas funciones y propiedades debido a la disposición de sus átomos en la escala de 1-100 nanómetros. Esta nueva aproximación tecnológica se puede aplicar en casi todos los campos científicos, entre los que se incluye el de la medicina. La nanomedicina, emplea las nanoterapias usando nanopartículas (NP) de dimensiones menores a 100 nanómetros con el fin de incrementar el bienestar y la salud humana. Estas NP permiten actuar como vehículos de administración de fármacos, potenciar el efecto antimicrobiano de los fármacos o dosificar de distinta manera productos estimuladores de la respuesta inmunitaria. El desarrollo de las NP como vehículos de fármacos antimicrobianos mejora la actividad del fármaco y garantiza su liberación de manera sostenida y con una alta eficacia, ofreciendo además la posibilidad de penetrar e internalizarse en las biopelículas de microorganismos patógenos. Además, estas NP pueden usarse como terapias efectivas e incorporarse en biomateriales con el fin de potenciar o inducir propiedades antiinfecciosas. Estas ventajas las consiguen gracias a sus propiedades intrínsecas como su pequeño tamaño que les permite interactuar con

los sistemas biológicos a nivel molecular, asegurando su paso a través de barreras biológicas. La amplia área de superficie específica que presentan estas NP en relación con su volumen es también otra propiedad que les hace ser más eficaces (3,4,5).

1.2. NANOTECNOLOGÍA CONTRA LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La introducción de los antimicrobianos en la práctica clínica es una de las intervenciones más prevalentes y significativas para el control de las enfermedades infecciosas, salvando millones de vidas y constituyendo una revolución en medicina. Sin embargo, los mecanismos evolutivos de resistencia a los fármacos (Anexo I) siempre han estado presentes en los microorganismos. Además, estos microorganismos son capaces de transferir estos genes por diferentes mecanismos como la conjugación, traducción o transformación, entre otros.

La excesiva prescripción y el uso abusivo e inadecuado de antibióticos en los seres humanos, en la agricultura, ganadería, en la industria alimentaria y agropecuaria, junto con el incumplimiento de tratamientos por parte del paciente o automedicaciones sin pautas adecuadas, además de prácticas de higiene inadecuadas en algunos entornos hospitalarios son algunas de las causas que han llevado a un aumento en el número de microorganismos resistentes y a la actual crisis creciente de resistencia a los antimicrobianos. Esta capacidad de los microorganismos para sobrevivir a concentraciones de antibióticos que inhiben o matan a otras de su misma especie, supone un problema global con importantes repercusiones para la salud humana a medio y largo plazo, debido a la importante morbilidad y mortalidad asociada (6).

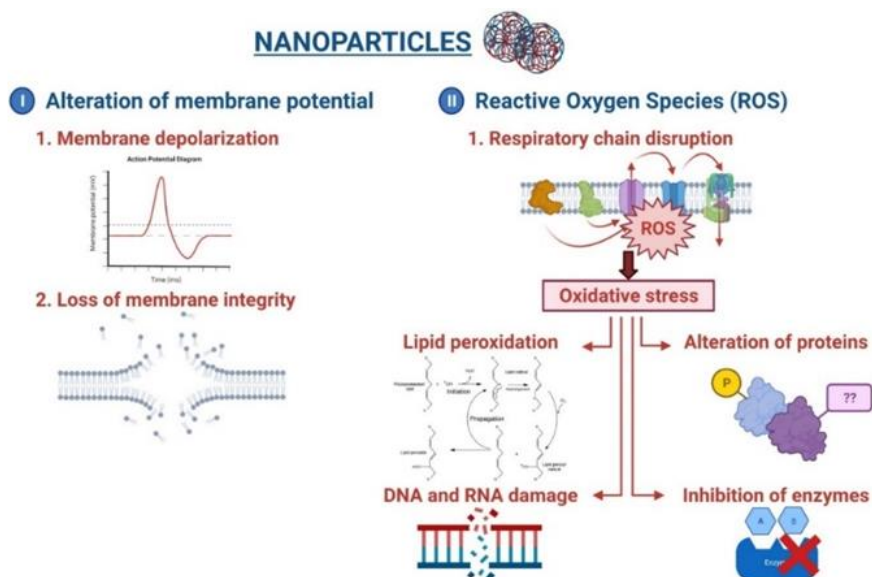
Para combatir y paliar esta amenaza y poder emplear terapias efectivas contra estos microorganismos se están investigando nuevas herramientas contra las enfermedades infecciosas mortales. Actualmente se están llevando a cabo múltiples enfoques basados en nanopartículas para su empleo en la creación de medicamentos nanoterapéuticos antimicrobianos (5,7,8).

1.3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE NANOPARTÍCULAS

Las NP al tener mecanismos de acción que difieren a los de los antibióticos estándar, son alternativas útiles contra los organismos resistentes a múltiples fármacos (MDRO).

Estas se pueden emplear para el transporte de agentes antimicrobianos, pueden ayudar en la administración de nuevos fármacos incluso pueden tener actividad antimicrobiana por sí mismas. Además, las NP pueden asegurar una liberación más dirigida contra la diana, permitir el paso a través de barreras biológicas e impactar y dañar la membrana celular microbiana, incluso pueden alterar el interior celular e impedir la formación de biopelículas. Todo esto lo consiguen a través de los siguientes mecanismos de acción recogidos en la (Figura 1) (7 modificada).

a)



b)

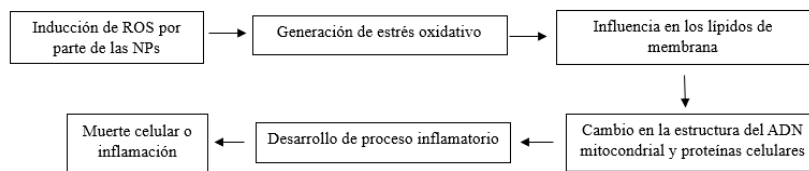


Figura 1. Mecanismo de acción de las NP al penetrar en la membrana bacteriana: a) Alteración del potencial de membrana, b) Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (7 modificada).

1.4. TIPOS DE NANOPARTÍCULAS

La nanomedicina ha desarrollado diferentes tipos de NP antimicrobianas como alternativas terapéuticas contra los microorganismos que producen cáncer, contra microorganismos resistentes a los fármacos antimicrobianos disponibles actualmente, o para el desarrollo de vacunas más efectivas y eficaces, entre otras (3,4,5).

Además, existen diferentes sistemas de encapsulación de los agentes antimicrobianos con el fin de protegerlos y que sean liberados en el lugar de acción, permitiendo una administración dirigida y una liberación sostenida (Anexo II). De este modo se consigue un aumento de la actividad antimicrobiana y una reducción de la toxicidad de los fármacos debido a que actúan únicamente en su lugar diana, por lo que la dosis de fármaco necesaria es menor. Esto da lugar a una disminución de los efectos secundarios (5,9).

La eficacia de las NP como portadores de agentes antimicrobianos puede mejorarse mediante la adición de diferentes moléculas en su superficie. Estas moléculas permiten la liberación específica de la carga antimicrobiana en el lugar deseado, gracias a que los ligandos específicos de la superficie de las NP aumentan el reconocimiento selectivo y la unión a células o moléculas concretas del organismo, aumentando además la captación celular y disminuyendo la citotoxicidad. La modificación de la superficie de las NP se realiza por métodos físicos, químicos o biológicos utilizando ligandos o grupos funcionales sensibles a estímulos. Estos ligandos pueden ser estimulados de manera local o externa y así lograr que la NP tenga una actividad antimicrobiana óptima (Anexo III) (5).

Por último, en la composición de la NP, donde se incluye la presencia de oro, plata o zinc hace que la NP tenga actividad antimicrobiana por sí misma, lo cual potencia los efectos de los fármacos actuando de manera sinérgica. Esto aumenta la eficacia terapéutica y reduce la resistencia al fármaco encapsulado.

De manera general y considerando todo lo anterior, las NP se pueden clasificar según su composición en NP inorgánicas y NP orgánicas. Dentro de cada una de ellas se han desarrollado diferentes tipos con distintas aplicaciones que se detallan en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Tipos de nanopartículas según su composición, características principales y aplicaciones en medicina.

Tipos de nanopartículas (NP)	Características	Aplicaciones	Referencias
NP inorgánicas			
<u>NP de plata (AgNPs)</u>	<p>Tamaño pequeño entre 10 y 100 nm y alta estabilidad química.</p> <p>Presentan actividad antimicrobiana intrínseca debido a la interacción de la plata contra la cadena de transporte de electrones y el ADN bacteriano. Además, tienen la capacidad de destruir paredes celulares y membranas, producir especies reactivas de oxígeno (ROS), inactivar enzimas y desnaturalizar proteínas.</p> <p>Pueden inhibir el crecimiento de células tumorales destruyendo ultraestructuras celulares, e inducir su apoptosis.</p> <p>Cuentan con posibilidad de síntesis biológica, enfoque más económico y respetuoso con el medio ambiente.</p>	<p>Actividad antibacteriana</p> <p>Actividad antiviral</p> <p>Actividad antifúngica</p> <p>Actividad antiparasitaria</p> <p>Actividad anticancerígena</p> <p>Adyuvantes de vacunas</p> <p>Agentes antidiabéticos</p>	10, 11
<u>NP de oro (AuNPs)</u>	<p>Tamaño entre 2 y 100 nm.</p> <p>Varios tipos: nanoesferas (2-100nm), nanorod (10-100 nm) o nanoshell (100nm) lo que determina su distribución, que alcanzan células diana y una óptima eliminación del organismo.</p> <p>Presentan propiedad de resonancia de plasmón superficial que les proporciona la capacidad de absorber o dispersar la luz a determinadas longitudes de onda.</p> <p>Su superficie puede ser funcionalizada con una amplia variedad de ligandos como fármacos, polímeros, material genético o marcadores.</p> <p>Presentan biocompatibilidad con el organismo.</p>	<p>Diagnóstico y tratamiento de cáncer: quimioterapias tumorales, radioterapia, terapia fotodinámica y terapias génicas</p> <p>Actividad antiviral</p> <p>Actividad antiparasitaria</p>	12, 13, 14,
<u>NP de óxido de hierro (Fe₂O₃)</u>	<p>Tamaño < 100 nm.</p> <p>Permite recubrirlas con otros materiales como citratos, aminas, polímeros, o compuestos inorgánicos. Esto junto con la forma (nanoesférica, nanotubos, nanodiscos o nanovarillas) y carga (positiva o negativa) les proporciona propiedades farmacocinéticas específicas, estabilidad física, una mayor biodistribución e interacción con el sistema biológico. El hierro es fácilmente metabolizable en el organismo y cuenta con propiedades magnéticas lo que facilita dirigir y concentrar estas NP a los sitios de interés, además de la posibilidad de generar calor al aplicar un campo magnético alterno.</p>	<p>Diagnóstico y tratamiento de cáncer: agentes de contraste en imágenes de resonancia magnética y desarrollo de sistemas de administración de fármacos en terapias dirigidas como terapias génicas.</p> <p>Actividad antibacteriana.</p>	15, 16

<u>NP de óxido de zinc (ZnO-NPs)</u>	<p>ZnO es un material semiconductor compuesto cuya morfología y química superficial influye en su biodistribución y eficacia en los sistemas biológicos.</p> <p>Propiedades de fotooxidación y fotocatalíticas además de propiedades antimicrobianas a través de la generación de iones zinc (alteran membranas celulares microbianas) y provocando estrés oxidativo (ROS) y daño en el DNA.</p> <p>Potencial antiviral debido a que el zinc inhibe procesos como la entrada del virus, traducción de material genético o la actividad de diferentes enzimas, porque desencadena la producción de las citoquinas.</p> <p>Causa deformaciones en hifas fúngicas e inhibe el crecimiento de diferentes especies de hongos.</p> <p>Presentan efectos citotóxicos sobre células cancerosas, a través de producción de ROS, alteraciones de componentes celulares (lípidos y proteínas) y sistemas de reacción redox con respuestas proinflamatorias de las células cancerosas contra las ZnO NPs que inducen apoptosis de estas células.</p>	<p>Actividad antibacteriana: mediante inactivación fotodinámica.</p> <p>Actividad antiviral.</p> <p>Actividad antifúngica.</p> <p>Actividad anticancerígena.</p>	17
<u>NP de óxido de titanio (TiO₂-NPs)</u>	<p>TiO₂ tiene un tamaño de 1 a 100nm y cuenta con características de fotoactividad por lo que al interactuar con la luz ultravioleta produce ROS provocando la inducción de muerte celular.</p> <p>Sus propiedades fotoquímicas permiten el desarrollo de terapias fotodinámicas contra distintos microorganismos y células cancerosas.</p> <p>Presentan una baja toxicidad, aunque es reseñable la toxicidad cutánea y la toxicidad sistémica por permeación cutánea tras una exposición dérmica crónica.</p>	<p>Actividad antibacteriana.</p> <p>Actividad antifúngica.</p> <p>Actividad antiparasitaria.</p> <p>Aplicación en tratamiento de enfermedades mediante terapias fotodinámicas.</p>	18
<u>NP de óxido de magnesio (MgO-NPs)</u>	<p>Tamaño < 100nm y con una alta relación superficie-volumen, lo que aumenta su reactividad química. Esto junto con su capacidad para liberar iones de magnesio las dota de propiedades antimicrobianas pudiendo inhibir el crecimiento y proliferación de una amplia variedad de microorganismos.</p> <p>Presentan baja toxicidad y un método de síntesis respetuoso con el medio ambiente.</p>	<p>Actividad antibacteriana.</p> <p>Actividad antiviral.</p> <p>Actividad antifúngica.</p>	19
NP orgánicas			
<u>Nanoformulaciones basadas en polímeros</u>	<p>Compuestos por polímeros naturales como polisacáridos, quitosano y alginato o por polímeros sintéticos como el ácido proliláctico, el ácido láctico co-glicólico y la polivinilpirrolidona Aseguran una liberación estimulada del fármaco por variaciones de pH o estímulos químicos y previenen su degradación antes de llegar al lugar de acción, por lo que aumenta su biodisponibilidad y reduce los efectos tóxicos en otros lugares.</p> <p>Presentan propiedades como una amplia variedad, versatilidad y facilidad de funcionalización, lo que mejora la solubilidad del fármaco, entrada de la carga en el sitio deseado y actividad contra patógenos.</p> <p>Se distinguen dos tipos (Anexo II):</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Nanocápsulas</u>: incorporación del fármaco en su núcleo. - <u>Nanoesferas</u>: absorción del fármaco en la superficie o unión en la matriz. <p>Óptimas para la administración de fármacos a las células diana, mediante tres mecanismos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Por reacción enzimática: ocurre la degradación del polímero en el sitio objetivo y la liberación del fármaco. - Por hinchazón de la NP polimérica seguida de hidratación y liberación del fármaco por difusión. 	<p>Actividad antimicrobiana mediante sistemas de administración de fármacos.</p>	5, 20

- Por desprendimiento del fármaco del polímero.

<u>Nanoformulaciones basadas en lípidos</u>	Tamaño entre 10 y 1000nm. Biodegradables, biocompatibles, inertes, no son tóxicas ni inmunogénicas, fácilmente disponibles y baratas. Externa superficie con gran capacidad de carga de fármacos, liberación controlada y rendimiento del fármaco. Capacidad de aumentar la biodisponibilidad del fármaco que transportan, mejorando su perfil farmacocinético, reduciendo su toxicidad y logrando concentraciones óptimas en sitios que de otro modo serían inaccesibles. Incluyen: liposomas, nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), nanoemulsiones y nanosuspensiones.	Actividad antiviral. Actividad antiparasitaria.	21
<u>Nanoformulaciones basadas en carbono</u>	Presentan propiedades únicas como alta conductividad eléctrica, resistencia mecánica y estructuras porosas, con capacidad de penetración celular además de un peso ultraligero. Involucran la utilización de materiales de carbono a escala nanométrica (1-100nm), tales como: nanotubos de carbono, nanopartículas de óxido de grafeno y fullerenos.	Actividad antiviral. Actividad anticancerígena.	21

2. OBJETIVOS

Las propiedades beneficiosas inherentes a las NP y la gran cantidad de posibilidades y alternativas que estas ofrecen son una buena alternativa como terapia antimicrobiana contra las enfermedades infecciosas.

El objetivo principal de este trabajo es, realizar una revisión exhaustiva de la bibliografía para recoger las posibles aplicaciones de las nanopartículas en el ámbito de la medicina, contra microorganismos de interés actual, incluyendo bacterias, hongos, virus y parásitos. Para ello, se plantearon los siguientes objetivos parciales:

- Identificar las limitaciones de los fármacos antimicrobianos disponibles, en relación con la prevención y tratamiento de enfermedades de interés clínico causadas por los microorganismos patógenos.
- Describir los diferentes tipos de nanopartículas disponibles, así como sus propiedades y mecanismos de acción.
- Analizar la eficacia de las nanopartículas contra microorganismos clínicamente relevantes y determinar su potencial uso como alternativa a los fármacos convencionales utilizados contra dichos patógenos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

La búsqueda de información para realizar este Trabajo de Fin de Grado comenzó el 16/11/22, empleando como fuente principal la base de datos *MEDLINE* consultada a través del motor de búsqueda *PubMed*. Además, la selección de artículos se ha ampliado mediante la propia bibliografía aportada por los estudios encontrados, así como mediante las plataformas *UpToDate*, *Google Scholar* y libros incluidos en *ClinicalKey Student*, incluyendo también páginas web oficiales como la Organización Mundial de la Salud.

Para la selección de los artículos científicos considerados en la presente revisión bibliográfica, se tuvieron en cuenta diferentes criterios tanto de inclusión como de exclusión (**Tabla 2**).

Tabla 2. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Artículos completos de acceso gratuito	Artículos no disponibles de forma completa
Artículos publicados en los últimos 10 años	Artículos publicados hace más de 10 años
Artículos escritos en inglés o castellano	Artículos escritos en un idioma diferente del inglés o el castellano

Se realizaron diferentes búsquedas para los distintos bloques en los que se ha estructurado el trabajo (**Tabla 3**).

Tabla 3. Artículos seleccionados en base a las estrategias de búsqueda.

	Estrategia de búsqueda	Artículos en Pubmed	Artículos seleccionados
Nanopartículas antibacterianas	<i>"antibiotic resistance", "nanoparticles", "bacterias"</i>	55	6
Nanopartículas antifúngicas	<i>"fungal infections", "nanoparticles"</i>	43	5
Nanopartículas antivirales	<i>"antiviral therapy" "nanotechnology"</i>	49	4
Nanopartículas antiparasitarias	<i>"parasites" "leishmaniasis" "nanoparticles"</i>	30	4

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan diferentes aplicaciones de NP para tratar las infecciones producidas por distintos grupos de microorganismos, incluyendo bacterias, virus, hongos y parásitos.

4.1. NANOPARTÍCULAS ANTIBACTERIANAS

Se han empleado diferentes tipos de NP contra las infecciones bacterianas. Entre ellas, las NP de metal y óxido metálico que actúan sobre las células bacterianas principalmente a través de la liberación de iones metálicos, aumentando la producción de ROS y afectando al metabolismo bacteriano. Las NP inorgánicas de plata, AgNPs, destruyen las paredes celulares bacterianas, producen ROS y dañan la estructura del ADN. Además, destacan por su bajo riesgo de resistencia contra ellas. Otras NP inorgánicas (incluyendo, Ag, Au, Fe₂O₃, ZnO, TiO₂ y MgO), constituyen sistemas de carga y administración de fármacos como la estreptomicina, neomicina, vancomicina, cefalexina y ciprofloxacino, consiguiendo efectos más potentes contra los patógenos. Estas NP inorgánicas cargadas con antibióticos se han ensayado con resultados prometedores contra cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus spp*, entre otras (5). En el caso de NP orgánicas, concretamente las poliméricas, han sido empleadas para la encapsulación de fármacos antibacterianos, como levofloxacino, gentamicina, rifampicina, doxiciclina, ampicilina o vancomicina. Estas NP poliméricas en sinergia con los fármacos antibacterianos encapsulados han sido eficazmente probados contra *S. aureus*, *E. coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, entre otros (5,10).

En los últimos años, se han llevado a cabo varios estudios en los que se han probado contra patógenos bacterianos diferentes tipos de nanopartículas con fármacos, ya sea como recubrimientos o incorporándose a los poros del material (5,8).

Asimismo, se han probado nanoestructuras basadas en magnetita (óxido de hierro) y se ha detectado una mayor actividad antibacteriana al incluir los fármacos en estas NP que cuando se administra el fármaco de forma libre (22,23). La actividad antimicrobiana de esta nanoterapia mostró ser dependiente de especie como se muestra

en la (Figura 2), en la que los valores de la concentración mínima inhibitoria son menores en *P. aeruginosa* que en *S. aureus* con los dos fármacos ensayados (23).

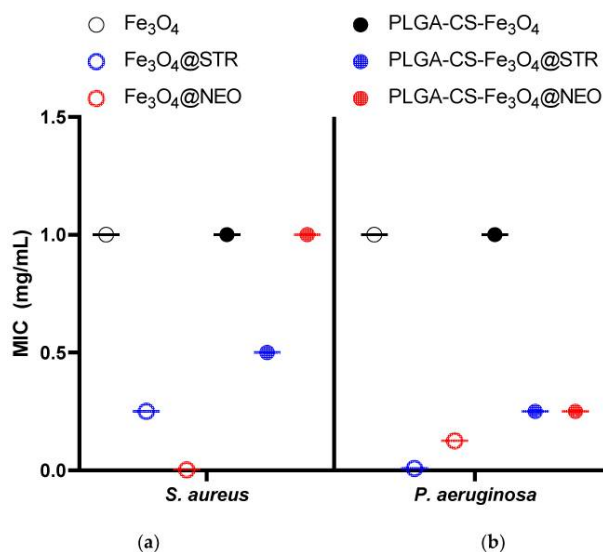


Figura 2. CMI de los diferentes nanocompuestos con estreptomicina (STR) y neomicina (NEO) para a) *S. aureus* y b) *P. aeruginosa* (22).

De igual manera en la (Figura 3) se puede comprobar que estas NP son más eficaces contra *Bacillus subtilis*, que contra *S. aureus* y *E. coli* (23).

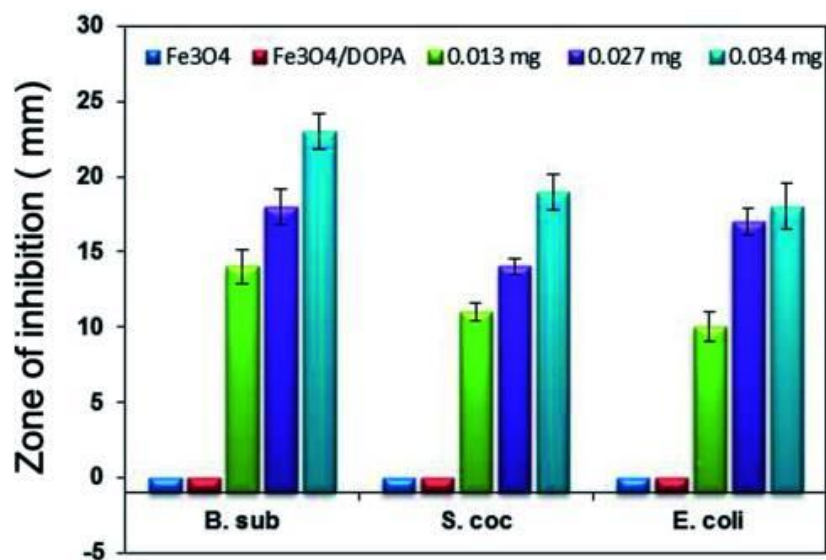


Figura 3. Zona de inhibición (mm) producida por Fe₃O₄, Fe₃O₄/DOPA y por diferentes cantidades (mg/disco) de Fe₃O₄/DOPA/Van contra las bacterias *B. subtilis*, *S. aureus* y *E. coli* (23).

Estas NP de Fe_3O_4 han mostrado ser eficaces contra *S. aureus*, pero esta especie presentó una mayor sensibilidad a las NP de sílice cargadas con NP de plata (24). Sin embargo, cuando las NP de sílice se preparan con bromuro de cetiltrimetilamonio y NP de plata, los valores de CMI para *S. aureus* y *E. coli* publicados hasta la fecha son los más bajos (24).

En otro estudio, los valores de CMI contra *E. coli* al emplear nanopartículas de quitosano cargadas con aceite esencial de canela *Cinnamomun zeylanicum* (23) fueron significativamente menores que las CMI del aceite esencial puro (25). Por lo que se puede comprobar, comparando ambos estudios, que el mismo compuesto antimicrobiano contra el mismo microorganismo, muestra mayor efectividad al combinarlo con NP que en su forma libre.

En el estudio realizado por Castro W. et al (2021) se ensayó ciprofloxacino incluido en NP de óxido de hierro mesoporoso salinizado (MIONS-APTES) y se observó actividad contra biopelículas de *S. aureus*. Este trabajo ha demostrado por primera vez, que el ciprofloxacino con NP MIONS tiene actividad contra biopelículas (26). Sin embargo, un mayor efecto de la encapsulación de ciprofloxacino contra biopelículas también fue observado por Kashef et al. (2020) al evaluar el efecto de este fármaco en niosomas (27).

En la **Tabla 4**, se detallan varios estudios donde se analizaron las nanopartículas con fármacos antimicrobianos como alternativas de tratamiento contra las infecciones bacterianas.

Tabla 4. Estudios analizados acerca de nanoformulaciones antibacterianas.

Tipos de NP	Agente antimicrobiano	Patógeno diana	Mecanismo de acción	Resultados	Ref.
NP de magnetita (Fe₃O₄ NP)	Estreptomicina (STR) Neomicina (NEO)	<i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	<p>La STR y NEO, antibióticos aminoglucósidos actúan a nivel ribosomal, impidiendo la formación del complejo de iniciación de la síntesis proteica.</p> <p>Las nanoestructuras con el fármaco tienen efecto sinérgico. Dañan a las bacterias al interferir con su grupo -tiol de la base respiratoria, o mediante la liberación de iones metálicos que aumentan la producción de ROS e inhiben el crecimiento bacteriano.</p> <p>Permiten una administración controlada del fármaco en el lugar de acción, aumentando su eficacia terapéutica y disminuyendo la toxicidad.</p>	<p>El tamaño de las NP era de 15,1 nm y la morfología esférica.</p> <p>El <u>efecto antimicrobiano</u> se evaluó por la determinación de las concentraciones inhibitorias mínimas (CMI). Las NP con STR presentaron valores de CMI más bajos, en comparación con las que tenían NEO. Se observó una eficacia antibacteriana dependiente de la cepa. Los valores de CMI fueron dos veces menores en <i>P. aeruginosa</i> en comparación con <i>S. aureus</i> tanto para STR como para NEO al combinar los fármacos antimicrobianos con las NP de magnetita. (Figura 2)</p> <p>Las NP en microesferas poliméricas, mejoraron la biocompatibilidad y se mantuvo el efecto antimicrobiano.</p>	22
NP de magnetita (Fe₃O₄ NP)	Vancomicina	<i>B. subtilis</i> <i>Streptococcus</i> <i>E. coli</i>	<p>La vancomicina, antibiótico glicopeptido, se une irreversiblemente a los residuos terminales d-alanil-d-alanina de los carbohidratos ácido N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. Esta unión bloquea la acción de las transglucosilasas y transpeptidasas impidiendo la formación del peptidoglicano bacteriano y provocando la muerte bacteriana.</p> <p>Las NP con vancomicina son capaces de unirse a una amplia gama de bacterias a través de interacciones ligando-receptores. Las NP presentan propiedades magnéticas de las NP y con un imán externo, la mezcla de estas NP con dihidroxifenilalanina (DOPA) y Vancomicina (Fe₃O₄ NP-DOPA-Van) se une a las bacterias y las separa del medio en el que se encuentren. La administración es dirigida y las NP se acumulan en el sitio de infección, aumentando las concentraciones del fármaco en el lugar de interés y reduciendo la toxicidad sistémica.</p>	<p>El tamaño de las NP era de 10-20 nm.</p> <p>El <u>efecto antimicrobiano</u> se evaluó mediante el método de ensayo de difusión de agar. Las NP de magnetita solas o combinadas con DOPA no presentaron acción bactericida, pero al combinarlas con vancomicina y DOPA se obtuvo actividad antibacteriana significativa. Además, a mayor concentración de NP Fe₃O₄NP/DOPA/Van mayor capacidad de inhibición bacteriana., resultando la zona de inhibición ordenada (ZI) <i>B. subtilis</i> (23mm) > <i>Streptococcus</i> (20mm) > <i>E. coli</i> (18mm). (Figura 3)</p>	23

NPs de magnetita recubiertas de mucílago de semilla de albahaca (Fe ₃ O ₄ -BSM-CPX)	Cefalexina	<i>B. cereus</i> <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>S. typhimurium</i>	Las NP Fe ₃ O ₄ actúan como portador magnético, orientándose y dirigiéndose por control remoto hasta el punto de infección mediante la aplicación de un campo magnético. Proporcionan una liberación controlada y sostenida del fármaco, evitando su amplia difusión por otros tejidos. La cefalexina actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose preferentemente a las proteínas de unión a penicilina (PBP). El mucílago de semilla de albahaca cuenta con propiedades antibacterianas y se emplea como estabilizador, reduciendo la interacción de las partículas, y como consecuencia su tamaño.	El tamaño de las NP fue de 6 nm, forma esférica. Las pruebas antibacterianas de difusión de disco in vitro demostraron que la zona de inhibición de Fe ₃ O ₄ -BSM-CPX es mayor que la de CPX puro a las mismas dosis. Al emplear NP se potencian las propiedades antibacterianas de CPX. El aumento en el <u>recubrimiento</u> de las NP conduce a una disminución del tamaño de estas y a una reducción de sus propiedades magnéticas. La <u>liberación del fármaco</u> es bifásica, una liberación rápida del 52% del fármaco en las primeras dos horas, debido al cambio de pH al entrar en la sangre, posteriormente una liberación más lenta y estable del 38% del fármaco dentro de las 88h.	28
NPs de óxido de hierro mesoporoso (MIONs) y NPs de óxido de hierro mesoporoso salinizado (MIONS-APTES)	Ciprofloxacino	<i>S. aureus</i>	Las NP de óxido de hierro cuentan con capacidad antibacteriana y antibiopelícula a través de la producción de ROS, daños en la membrana celular y la internalización de las NP. El ciprofloxacino inhibe la topoisomerasa II y las topoisomerasas tipo IV, alterando la replicación, transcripción, reparación y recombinación del ADN bacteriano.	Tamaño promedio de las NPs: 79 nm. Forma esférica. La <u>actividad antibiótica</u> se evaluó por método de formación de biopelículas. Las NP solas no alteraban la formación de las biopelículas. Las NP cargadas con ciprofloxacino mostraron células dispersas y una pérdida completa de la arquitectura de las biopelículas. Las NP con CIRPO presentaron mayor actividad antibiopelícula a concentraciones menores (132, µg/mL) que el CIPRO libre. El estudio cinético de liberación mostró que MIONs y las MIONs funcionalizadas con 3-aminopropil-trietoxisilano (APTES) permitían una liberación controlada del fármaco. El ciprofloxacino cargado en MION-APTES siguió una cinética más lenta, cerrando el ciclo de liberación después de 8 días. El MION liberó el 100% del fármaco en 6 días.	26
NP de sílice mesoporosa (MSN) cargadas con bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB)	NPs de plata	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	Las NP de sílice incluyen a las NP de Ag a su estructura, utilizadas como soporte, para evitar que estas se dispersen por el entorno biológico y pierdan actividad antibacteriana con el tiempo. El CTAB se emplea para la síntesis MSN y actúa como agente antibacteriano a través de la formación de ROS. La estructura mesoporosa en las NP MSN-Ag almacena CTAB facilitando el contacto bacteriano con el nanocompuesto por medio de interacciones electrostáticas. Las AgNPs alteran la permeabilidad de la membrana de <i>E. coli</i> e inhiben la replicación del ADN de <i>S. aureus</i> , además liberan iones de Ag que atacan las paredes celulares bacterianas, induciendo la formación de ROS y desestabilizando los ribosomas, dañando así al ADN.	El tamaño de las NPs obtenidas fue de 100-110nm, y forma cuasiesférica. La <u>concentración inhibitoria mínima</u> de NP de sílice cargadas con CTAB + AgNPs, fue de 31,25 µg/mL para <i>E. coli</i> y 15,63 µg/mL para <i>S. aureus</i> . El MSN-AgNP mostró una <u>inhibición completa del crecimiento bacteriano</u> después de 12h. Las MSN solas demostraron propiedades bactericidas moderadas puesto que quedaban varias colonias bacterianas sin inhibir. Mediante el <u>método de difusión de disco</u> se estudió la sensibilidad de las bacterias a las MSN y MSN-AgNP. Las zonas de inhibición de MSN-AgNP contra <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> fueron 159,1 y 187,2 mm respectivamente, lo que sugiere mayor sensibilidad de <i>S. aureus</i> a las NP comparada con la otra cepa. No se observaron cambios significativos en las zonas de inhibición de MSN contra <i>E. coli</i> (Gram negativa), aunque <i>S. aureus</i> (Gram positiva) sí que mostró susceptibilidad. Esta discrepancia puede atribuirse a la diferencia en las estructuras de membrana de las dos cepas.	24

NP de quitosano (CSNP)	Levofloxacin	<i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i>	<p>El levofloxacin inhibe la ADN girasa y la topoisomerasa IV por lo que impide la replicación del material genético bacteriano impidiendo la división celular y el crecimiento bacteriano.</p> <p>Al combinar las CSNP y el gel in situ con el LFX se consigue una acción antibacteriana prolongada de este fármaco debido a una lenta liberación de este. Además, esta combinación permite una mayor disponibilidad de LFX en la superficie corneal.</p>	<p>El tamaño medio oscila entre $161,9 \pm 3,32$ y $283,97 \pm 4,21$ (este depende de la cantidad de quitosano, a mayor cantidad, mayor tamaño).</p> <p>El efecto antimicrobiano se evaluó por la determinación del <u>diámetro de la zona de inhibición</u>. Este fue mayor al emplear LFX-CSNP gel in situ (4,8 y 5,8 cm para <i>P. aeruginosa</i> y 4,9 y 5,2 cm para <i>S. aureus</i>) que LFX- sol (2,4 y 1,4 cm para <i>P. aeruginosa</i> y 2,6 y 1,6 cm para <i>S. aureus</i>) tanto a las 12h como a las 24h respectivamente. Además, la zona de inhibición de LFX-CSNP gel in situ era significativamente mayor ($p < 0,05$) a las 24h y este tenía la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano durante un periodo prolongado de tiempo en comparación con LFX-sol. Por histopatología se evaluó la <u>toxicidad</u> y se vio que no se produjo ningún cambio en el tejido ocular tras aplicar la formulación de LFX-CSNP gel in situ, por lo que este resultó seguro para su uso como aplicación ocular.</p>	29
NP de quitosano (CSNP)	Aceite esencial de canela: Cinnamomun zeylanicum (CE)	<i>E. coli</i> <i>Eriwinia carotovora</i> <i>Pseudomona fluorescens</i>	<p>La acción antimicrobiana de la CE está relacionada con dos de sus componentes: cinamaldehído y eugenol. Estos inhiben la síntesis de una enzima microbiana esencial y causan además daño a la pared celular bacteriana.</p> <p>Dañan la membrana celular actuando como inhibidores de la ATPasa y reprimiendo las proteínas involucradas con la asociación de citoquinas.</p> <p>La encapsulación en los sistemas de administración (CSNP) mejoran su actividad antimicrobiana, protegiéndolo de las sustancias bioactivas, mejorando su estabilidad y permitiendo una liberación progresiva del compuesto bioactivo en el sitio de interés.</p>	<p>Rango de tamaño: 20-80 nm y forma esférica.</p> <p>La <u>actividad antimicrobiana</u> se evaluó mediante las CIM. Las CSNP solas consiguieron la inhibición completa (100%) a una concentración > 1500 ppm. CE-CSNP mostraron inhibición completa contra <i>E. carotovora</i> y <i>P. fluorescens</i> a 187 ppm y contra <i>E. coli</i> a 375 ppm. Las CSNP cargadas con CE mostraron un rendimiento superior en comparación con las CSNP y CE solos contra las bacterias probadas. Al encapsularse el CE por las CSNP ofreció una mayor <u>actividad antibacteriana</u>. <i>P. fluorescens</i> mostró mayor sensibilidad a las NP con el fármaco cargado que <i>E. carotovora</i> y <i>E. coli</i>. La <u>liberación in vitro</u> de CE presenta dos fases. Una primera en la que se descarga el 19,8% de CE a pH 7 durante los primeros 9 días, y posteriormente una descarga más lenta donde la descarga de CE fue de prácticamente 0. (Esto puede deberse a la ineficacia de las soluciones tampón para romper las partículas y liberar el fármaco). Pasados 40 días se descargó 21,4% de CE en soluciones tampón a pH 7.</p>	30
NP de quitosano (CSNP)	Aceite esencial de ortiga (NEO)	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>B. cereus</i> <i>L. monocytogenes</i>	<p>Al emplear partículas de tamaño nanométrico (CSNP) estas penetran en la membrana celular y dañan la pared celular bacteriana demostrando potencial antibacteriano.</p> <p>Además, la hidrofobicidad de los NEO les permite descomponer los lípidos de la membrana celular bacteriana, causando la fuga de iones y compuestos celulares y como consecuencia, la muerte celular.</p>	<p>Tamaño medio: $208,3 \pm 44,5$nm y $369,4 \pm 48,1$ nm y forma esférica.</p> <p>La <u>actividad antibacteriana</u> se midió por halos de inhibición. Las CSNP cargadas con NEO presentaron valores de 4,11 cm, 3,53cm, 3,46cm, 3,95cm 3,45 cm para <i>S. aureus</i>, <i>L. monocytogenes</i>, <i>S. typhi</i>, <i>E. coli</i> y <i>B. cereus</i> respectivamente. Estos fueron mayores que los obtenidos con CSNP y NEO independientes. El <u>volumen inhibitorio mínimo (VIM)</u> para las CSNP cargadas con NEO fue de 4μL contra las cinco bacterias probadas. El NEO puro fue de 4μL para las 4 primeras bacterias mencionadas y de 8μL para <i>E. coli</i>. Para las CSNP la MIV fue de 16μL para las cepas examinadas. Por tanto, las CSNP cargadas con NEO mostraron</p>	31

				<p>mayor actividad antibacteriana que NEO puro o CSNP sin NEO. Además, las CSNP que no estaban cargadas con NEO mostraron una reducción significativa ($P < 0,05$) en el crecimiento bacteriano en comparación con el control, mostrando por tanto la actividad antibacteriana de quitosano.</p>	
NPs de alginato- quitosano	Rifampicina (RIF) y ácido ascórbico (ASC)	S. aureus sensible a metilicina (MSSA) S. aureus resistente a metilicina (MRSA) S. aureus cepa ATCC	<p>La superficie funcionalizada de RIF/ASC NP juega un papel crucial en los procesos de adhesión de las NP en la superficie bacteriana, alterando la integridad de la membrana celular, permeabilizándola y facilitando la captación celular y penetración de la combinación antibiótica RIF/ASC por las bacterias, con la consecuente destrucción bacteriana por la acción combinada de los antibióticos. Aun así, se sigue investigando más acerca del mecanismo de acción antibacteriano de este compuesto que parece ser el resultado de los efectos colaborativos entre las NP y la combinación de antibióticos.</p> <p>Las NP de alginato-quitosano cargadas con RIF/ASC actuarían como un sistema de administración de antibióticos efectivo para infecciones intracelulares pulmonares.</p>	<p>La RIF y el ASC cocargados en NP de ALG/CS forman nanocompuesto RIF/ASC NP, cuya <u>actividad antimicrobiana</u> se midió con los valores de CMI. Las NP cargadas con RIF/ASC mostraron una disminución de los valores de CMI de 0,2 a 0,025 $\mu\text{g/ml}$ (8 veces) contra la cepa <i>S. aureus</i> ATCC y de 3,125 a 1,6 $\mu\text{g/ml}$ (2 veces) contra MRSA. No se observó variación de RIF combinado con ASC. Para la cepa MSSA las NPs RIF/ASC mostraron un valor de CMI similar al obtenido con RIF libre, además la RIF libre no mostró efecto bactericida contra ninguna de las tres cepas, por lo que fue considerada bacteriostática. Por su parte, las NP solas no mostraron actividad antibiótica. El <u>examen morfológico</u> de las bacterias se probó sobre la cepa ATCC de <i>S. aureus</i> (control), estos tienen forma esférica y un tamaño de 600nm aproximadamente, con superficie lisa y regular. Las bacterias tratadas con NPs solas presentaron una morfología similar a la del control. Las tratadas con RIF mostraron diferentes cambios morfológicos (formas anómalas, bordes irregulares e indefinidos), y aquellas tratadas con NP RIF/ASC mostraron una gran mayoría de células afectadas, con un tamaño considerablemente menor y una mayor cantidad de desechos celulares.</p>	32
NPs de alginato- quitosano (NPs Alg-CS)	Endolisina MR-5	Lys S. aureus	<p>Lys MR-5 actúa mediante el reconocimiento y unión a la pared celular de las bacterias grampositivas hidrolizando enlaces peptidoglicanos específicos, rompiendo la pared celular y causando muerte bacteriana.</p> <p>Las NP actúa como sistema de administración de fármacos solventando la inestabilidad y la vida media corta in vivo de las endolisinas, mediante una liberación prolongada y controlada y protegiendo las proteínas de la degradación.</p> <p>El CS se adhiere al ácido lipoteicoico cargado negativamente de las bacterias grampositivas, dañando de la membrana, cambiando su permeabilidad y derivando en la fuga de contenido intracelular que resulta en la muerte celular. Además, las NP de Alg-CS retienen agua y quelan metales produciendo interacciones con el ADN microbiano.</p>	<p>Tamaño de las NP Alg-CS cargadas con LysMR-5: 46-58 nm, forma esférica.</p> <p>La <u>eficacia antibacteriana</u> se evaluó mediante el ensayo de difusión de pozos de agar y ensayo de hidrólisis de peptidoglicano. Las NP Alg-CS libres y las NP Alg-CS cargadas con LysMR5 mostraron una zona de inhibición de $5 \pm 18\text{mm}$ y $2,22 \pm 5,3\text{mm}$ respectivamente. En el ensayo de hidrólisis, la zona de hidrólisis se observó solo alrededor de las NP cargadas con LysMR-5. El <u>efecto bactericida</u> se evaluó por microscopía electrónica de barrido (SEM). Las micrografías SEM de bacterias tratadas con LysMR-5 libre, NPs de Alg-Chi cargadas con LysMR-5 mostraron alteraciones morfológicas tras tratamiento, indicando actividad bactericida tras tratamiento. El <u>perfil de liberación in vitro</u> de LysMR-5 mostró un comportamiento de liberación bifásico, una liberación inicial rápida de casi el 40% hasta 4h, seguida de una liberación lenta y sostenida que alcanzó un máximo del 81% a las 36h. Las NP mostraron <u>citotoxicidad insignificante</u>, confirmando biocompatibilidad para su uso en estudios in vivo.</p>	33

4.2. NANOPARTÍCULAS ANTIFÚNGICAS

Las infecciones causadas por hongos suponen un importante problema de salud debido a la alta morbilidad e incluso mortalidad que producen, principalmente en pacientes inmunocomprometidos. Existe un escaso número de fármacos antifúngicos para tratar estas infecciones y muchos de ellos presentan efectos secundarios adversos y cierta toxicidad. Además, las infecciones causadas por ciertas especies fúngicas que desarrollan resistencias a estos fármacos son cada vez mayores (34, 35).

La nanotecnología se plantea como opción para solventar estos problemas, ofreciendo estrategias como la encapsulación de NP biocompatibles, el diseño de NP con sistemas eficientes de administración de antifúngicos e incluso el uso de las propias NP por sus propiedades antimicóticas intrínsecas (36). En la (Figura 4) se muestra un esquema con diferentes tipos de NP con actividad antifúngica.

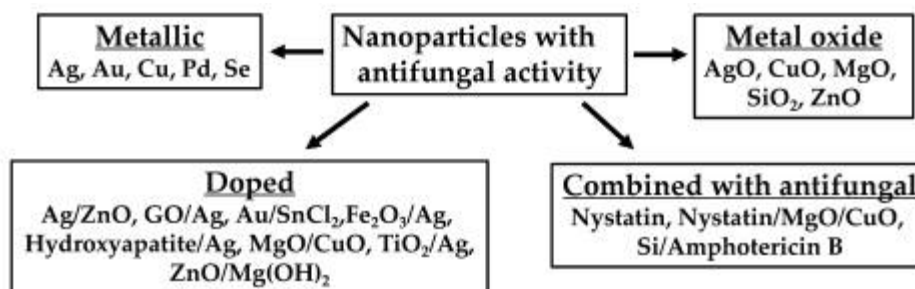


Figura 4. Diferentes tipos de NP desarrolladas contra hongos (36).

Las NP tienen numerosos mecanismos de acción, y en ocasiones de forma simultánea, los hongos tendrían que evolucionar de múltiples maneras para adquirir resistencia. Además, las NP se pueden sintetizar y combinar con antifúngicos para aumentar sus capacidades antimicóticas. La adición de antifúngicos a las NP puede beneficiar la eficacia de diferentes formas; puede aumentar la rugosidad de las superficies de las NP lo que conlleva a daños mecánicos en los microorganismos o una mayor área de superficie. Además, cuando los antifúngicos se encuentran encapsulados en las NP en lugar de recubiertos se reduce su toxicidad, pueden mejorar su actividad, alterar la morfología de las NP y reducir la citotoxicidad en células humanas. Algunos de los

mecanismos de acción de daño celular fúngico por parte de las NP son los siguientes (34, 36):

- Daños en la membrana: a través de la microscopia se ha visto que el contacto directo e incrustación de estas NP con la pared celular fúngica induce cambios morfológicos como contracción de su superficie, agregación celular, formación de hoyos o poros y deformación general de la célula fúngica. Además, las membranas internas también se distorsionan por disposición alterada de orgánulos y disminución del contenido citoplasmático. Las NP también pueden generar **ROS** que atacan a los monómeros de la pared celular, rompiendo enlaces glucosídicos y provocando poros, lo que lleva a la muerte del hongo.
- Interacciones con el ADN: las NP más pequeñas pueden penetrar en el interior celular sin la necesidad de dañar la pared. Una vez en el interior el mecanismo de lesión antimicótico incluye la fragmentación mitocondrial, la despolimerización de ribosomas y daños a la cromatina. Además, las NP se pueden intercalar entre los ácidos nucleicos intracelularmente uniéndose al ADN y destruyéndolo. Algunos tipos de NP pueden causar daño directo del ADN por condensación nuclear y fragmentación del ADN lo que da lugar a disfunción celular y apoptosis.
- Liberación de iones: dependiendo del tipo de NP que libere los iones estos actuarán de un modo u otro, algunos pueden inducir la producción de ROS que afectarían a los grupos -tiol del hongo y se alteraría el potencial redox intracelular provocando la apoptosis celular. En algunos casos la toxicidad de las NP se debe principalmente a la actividad iónica.
- Daño en hifas y esporas: algunas NP como AgNP, MgO NP, o ZnO NP tienen la capacidad de deformar las hifas y modificar sus patrones de crecimiento, agrupando y adelgazando estas estructuras y, por tanto, inhibiendo la formación del micelio. Además, las NP pueden dañar conidios, distorsionando su estructura e inhibiendo la germinación y el desarrollo y, como consecuencia, el crecimiento fúngico. Esto lo llevan a cabo a través de la unión de la NP a la superficie de la espora cargada negativamente, envolviéndose alrededor de la pared celular de la espora e inhibiendo el transporte y absorción de nutrientes.

- Efectos sobre la formación de biopelículas: las biopelículas fúngicas son comunidades de células fúngicas que se adhieren a una superficie y presentan mayor resistencia. Se ha demostrado que las NP son capaces de inhibir estas formaciones, a través de la irrupción en la pared celular que impulsa la inhibición de la formación de hifas, las cuales son cruciales para la adherencia y la formación de estas biopelículas. Además, las NP pueden también afectar a biopelículas preformadas al depositarse sobre las sustancias poliméricas extracelulares de las biopelículas que son esenciales para la integridad estructural.

Por otro lado, son varios los nanosistemas de administración de agentes antifúngicos. En la (Figura 5) se recogen de manera esquemática.

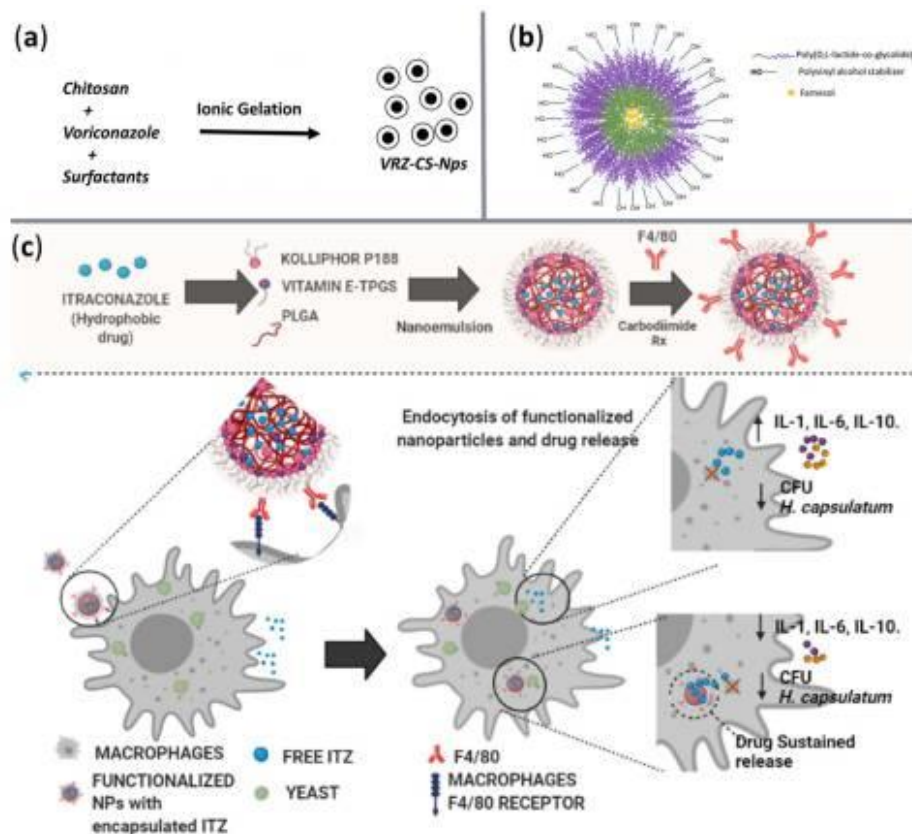


Figura 5. Administración de antifúngicos con NP. A) NP de quitosano cargadas de voriconazol. B) PLGA NP cargadas con farnesol. C) PLGA NP con anticuerpo anti-F4/80 para administrar itraconazol (5).

La mayoría de los estudios sobre nanoformulaciones se han desarrollado contra *Candida albicans*, uno de los agentes causales de las candidiasis que es la enfermedad fúngica más común.

En algunos estudios, se ha comparado la actividad antifúngica de anfotericina B (AmB) libre y combinada con NP poliméricas (ZnONPs-AmB y ZnO-AmB-PEG) contra las especies fúngicas *C. albicans* y *Cryptococcus neoformans*, evaluando las concentraciones mínimas inhibitorias de estos compuestos (**Figura 6**). Se detectó que la NP ZnO-AmB-PEG tuvo mayor efecto antifúngico frente a *C. neoformans* que frente a *C. albicans* y la encapsulación añadiendo el polímero PEG favorece positivamente la inhibición del crecimiento fúngico. (37)

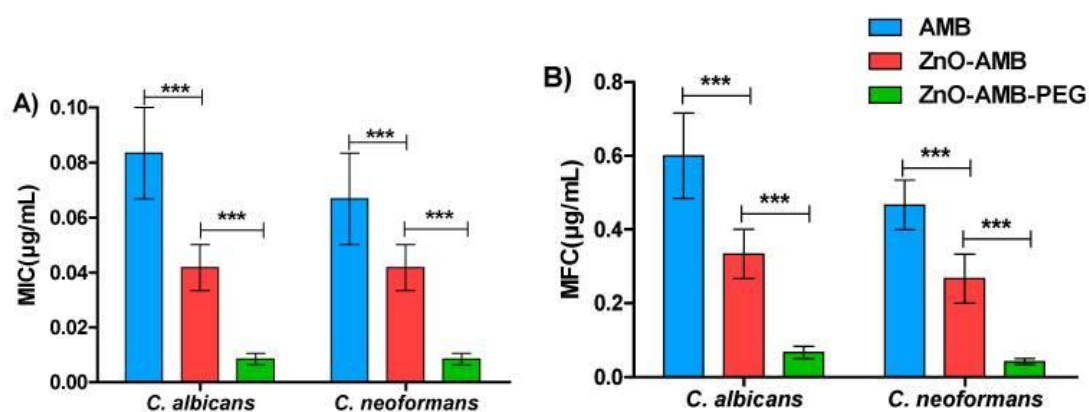


Figura 6. Susceptibilidad antimicótica de NP de ZnO-AMB-PEG, ZnO-AMB y AMB libre contra *C. albicans* y *C. neoformans*. A) Concentración inhibitoria mínima (CMI). B) Concentración fungicida mínima (CFM) (37).

El uso del polímero poliácido láctico-co-glicólico (PLGA) contra *C. albicans* mostró también un efecto antifúngico mayor al utilizarlo en estas NP poliméricas cargadas con el fármaco, en comparación con estas NP combinadas con fármacos sin el polímero e incluso con los fármacos en su forma libre (38,39). Además, estas NP de PLGA combinadas con farnesol mostraron actividad contra biopelículas de *C. albicans* reduciendo en un 35% la formación de las biopelículas en comparación con el farnesol solo. Este mayor efecto antifúngico podría atribuirse al pequeño tamaño, a su liberación de manera sostenida que alarga el tiempo de inhibición y a como impactar esta NP con el hongo. La dispersión acuosa uniforme de estas NP aumenta el contacto

con las esporas y células del hongo, conduciendo a una rápida internalización del fármaco (38,39).

Además, estas NP poliméricas se han formulado con el aptámero AD-1 y al probarlas contra *C. albicans* presentó un efecto antifúngico mayor (39,40). Se comprobó que no presentan toxicidad y que ocurre un reconocimiento específico entre el aptámero AD-1 y las moléculas de glucano de *C. albicans*, lo que proporciona que el fármaco actúe todavía más específicamente y disminuyan los efectos secundarios. Además, cabe destacar las propiedades contra biopelículas de estas NP al combinarlas con irradiación ecográfica, ya que esta combinación da lugar a un efecto sinérgico contra biopelículas de *C. albicans* tanto in vitro como in vivo (40).

Por último, en el estudio realizado por Al-Maghrabi et al. (2020) (41) en el que probaron SLN cargadas con nitrato de miconazol contra *C. albicans*, se encontró mayor inhibición que en los resultados reportados por Aljaeid et al. (2016) donde emplearon las mismas NP (42) y que la microemulsión de nitrato de miconazol probada por Haroon Khalid (2018) contra el mismo hongo (43). Por lo que en este estudio se han obtuvieron los mejores resultados en relación con la actividad antimicrobiana del miconazol contra *C. albicans* en comparación con lo recogido en la literatura hasta entonces (41)

En la **Tabla 5** se recogen estos y otros estudios basados en investigaciones acerca de las NP como potenciales estrategias de tratamiento de la infecciones antifúngicas:

Tabla 5. Estudios analizados acerca de nanoformulaciones antifúngicas.

Tipo de NP	Agente antimicrobiano	Patógeno diana	Mecanismo de acción	Resultados	Ref.
Nanopartículas de plata (AgNP)	Nistatina (NYT) Fluconazol (FLU)	<i>C. albicans</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i>	Las AgNP se unen a proteínas con azufre presentes en la membrana celular microbiana, provocando cambios morfológicos y pérdida del contenido intracelular. Intracelularmente inhiben enzimas de la cadena y se unen a compuestos que contienen fósforo como el ADN, impidiendo la reproducción celular. Generan ROS causando necrosis. Por otro lado, la NYT actúa sobre el ergosterol y la formación de poros en la membrana plasmática. El FLU inhibe la enzima 450 α -desmetilasa del citocromo P14 bloqueando la biosíntesis de ergosterol.	Tamaño promedio: 80nm (NYT-NP) y 25 nm (FLU-NP) y forma esférica. Contra <i>A. brasiliensis</i> la NYT (400 μ g / ml) mostró una <u>inhibición</u> del 80% y el FLU no tuvo efecto. La combinación con AgNP a 400 μ g/ml (FLU-AgNP) inhibió el crecimiento al 100% y NYT-AgNP mostro una eficacia del 80-95%. La combinación de ambas NP a 200 μ g / ml (NYT-AgNP + FLU- AgNP) inhibió el 90% del crecimiento. Contra <i>C. albicans</i> NYT y FLU (300 μ g / ml) solos inhibieron el 30-33% del crecimiento. Al combinar con AgNP a la misma concentración, la inhibición aumentó al 50-62%. La combinación de NP (NYT-AgNP + FLU- AgNP) causó una inhibición del 100% a (200 μ g / ml). Por tanto, los resultados mostraron que las AgNP mejoran significativamente los efectos antimicóticos de NYT y FLU en comparación con los fármacos solos. Además, los resultados de las muestras indicaron una respuesta dosis-dependiente contra los hongos analizados.	44
Nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) y polímero polietilenglicol (PEG)	Anfotericina B (AmB)	<i>C. albicans</i> <i>C. neoformans</i>	La AMB se une al ergosterol y provoca poros en la membrana y la muerte celular. La unión covalente de PEG al fármaco mejora su solubilidad y su farmacocinética. Las NP de ZnO-AMB-PEG entran fácilmente a través de las membranas celulares fúngicas. Las NP de ZnO permiten la liberación sostenida del fármaco mejorando su absorción y potenciando su actividad.	Tamaño promedio: 662,3 \pm 24,7 nm y forma esférica. Contra <i>C. albicans</i> y <i>C. neoformans</i> , las NP de ZnO-AMB-PEG disminuyeron significativamente la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima de fungicidas (MFC) en comparación con las NP ZnO-AMB y el AMB libre. (Figura 6) En los ensayos murinos, para evaluar la toxicidad, los parámetros renales, creatinina y BUN se redujeron significativamente al inyectar en ratas ZnO-AMB-PEG en comparación con AMB libre o ZnO-AMB, lo que demostró la capacidad significativa de ZnO- AMB-PEG de reducir la <u>nefrotoxicidad</u> asociada a anfotericina.	37
Nanopartículas de quitosano (CSNP)	Voriconazol	<i>C. albicans</i>	El voriconazol desmetila el 14 α -lanosterol, inhibiendo la síntesis de ergosterol. La NP polimérica de quitosano aumenta la absorción percutánea y la difusión transdérmica del fármaco, al interactuar con lípidos y queratina del estrato corneo de la piel.	Tamaño medio entre 167 \pm 8,23 y 475 \pm 15,3 nm y forma esférica. Las NP de quitosano cargadas con voriconazol inhiben significativamente el crecimiento de <i>C. albicans</i> , en comparación con voriconazol simple. Las <u>zonas de inhibición</u> para CSNP cargadas con voriconazol fueron mayores, debido al efecto sinérgico del fármaco y el quitosano. Las NP permiten una mayor penetración dérmica del fármaco, así como su retención en la piel, lo que mejora su <u>actividad antimicrobiana</u> . Las CSNP cargadas con voriconazol son prometedoras para mejorar la biodisponibilidad de la administración transdérmica, haciendo posible una administración tópica y mejorando el efecto antifúngico del voriconazol contra la candidiasis cutánea.	45

Nanopartículas de quitosano-alginato	Aceite de orégano (OrO)	<i>C. albicans</i>	El aceite de orégano contiene timol y carvacrol, que tienen la capacidad de dañar la pared celular de <i>Candida</i> e inhibir su crecimiento. Las NP de quitosano-alginato incorporan el OrO en una dispersión acuosa impidiendo que se volatilice y degrade, lo que facilita su aplicación farmacéutica.	Tamaño: 320nm y forma esférica. Las NP con OrO inhibieron el crecimiento bacteriano de manera más eficiente a concentraciones más bajas que la forma pura del aceite. Las CIM de OrO-NP fueron de 4 a 32 veces más bajas que las de OrO, lo que demuestra una mayor eficacia de las NP. Se evidencia una mejor actividad antifúngica del aceite de orégano encapsulado en NP de quitosano-alginato.	46
Nanopartículas de poliácido láctico-co-glicólico (PLGA)	Farnesol	<i>C. albicans</i>	El farnesol inhibe la transición levadura-hifa de <i>C. albicans</i> . Inhibe la etapa inicial de adhesión de la formación de biofilm, aumenta la permeabilidad de los protones afectando las funciones de la membrana celular. Las NP de PLGA actúa como sistemas de administración de fármacos para superar las deficiencias del farnesol mediante su encapsulación.	El tamaño de las NPs de PLGA cargadas con F (NPs F-PLGA) es de 140 nm. Los <u>efectos ultraestructurales</u> en las células de <i>C. albicans</i> se evaluaron por microscopía electrónica de transición (TEM). El farnesol produjo daños en la pared y membrana de pocas células y no afectó a su morfología. Las NP F-PLGA provocaron deterioro de la morfología celular y una expansión de la pared celular con un aumento de daños tanto en ella como en la membrana, además de aumentos significativos de vacuolizaciones en el citoplasma. La <u>actividad antibiofilm</u> se estudió mediante la prueba de reducción XTT. Las NP F-PLGA disminuyeron un 53% la formación de biopelículas. El farnesol presentó una reducción del 18%.	38
Nanopartículas de poliácido láctico-co-glicólico (PLGA)	Itraconazol (ITZ)	<i>C. albicans</i>	El Itraconazol inhibe la síntesis del ergosterol afectando a la formación de la membrana plasmática del hongo. Las NP encapsulan el fármaco, y lo protegen de la degradación, y mejorando su biodisponibilidad, absorción, solubilidad, y proporcionando una liberación controlada.	Tamaño promedio: 176.96 ± 24,32 y forma esférica. En cuanto a la <u>actividad antifúngica</u> se estudió con el método de difusión de disco. Las NP vacías no tuvieron efectos. Las suspensiones acuosas de ITZ y NP PLGA-ITZ inhibieron significativamente el crecimiento antifúngico. Estas últimas mostraron mayor zona de inhibición. La <u>liberación in vitro</u> del fármaco mostró una liberación bifásica, una liberación inicial de ráfaga del 31,88% del fármaco en 6h y una fase posterior con en estado estacionario con aproximadamente el 45,01% liberado tras 72h, demostrando una posible administración constante de ITZ durante tres días consecutivos.	39
Nanopartículas PLGA funcionalizadas con anticuerpos anti-F4/80	Itraconazol (ITZ)	<i>Histoplasma capsulatum</i>	El itraconazol inhibe la síntesis de ergosterol. Las NP de PLGA encapsula al fármaco para protegerlo y mejorar sus propiedades. Los Ac anti-F4/80 proporcionan una liberación dirigida y controlada en macrófagos. El ITZ encapsulado mejora sus propiedades antifúngicas mediante la modulación de la expresión génica de citoquinas anti y proinflamatorias en macrófagos. Las NPs con Ac mejoran la terapia dirigida a macrófagos aumentando su endocitosis y la concentración intracelular del fármaco.	La <u>actividad antifúngica</u> se evaluó mediante las CMI de ITZ libre y encapsulado en los nanoportadores funcionalizados (o no) con Ac anti- F4/0. Los resultados de las CMI mostraron que el ITZ encapsulado requirió una concentración de 0,015 µg/mL, en cambio, el ITZ libe 0,007 µg/mL. Esto se debe al tipo de <u>liberación cinética</u> de las NP, donde después de 7h las ITZ-PLGA NPs logran una liberación del 40% del ITZ y esta continúa hasta las 72h logrando el 43% de liberación del fármaco. Para inhibir el 100% del crecimiento del hongo se necesita más concentración de ITZ encapsulado que libre. En cambio, los autores plantean que en el modelo in vivo esta liberación podría alcanzar el 100% debido a la degradación de los enlaces éster del PLGA que se producen aceleradamente al reconocer las células del organismo las NP como agentes extraños. Los resultados mostraron que las NPs funcionalizadas no mostraban efectos citotóxicos. El <u>efecto antifúngico</u> se evaluó mediante el recuento de unidades	47

				<p>formadoras de colonias (UFC). Las NP redujeron significativamente la cantidad de UFC en comparación a las NP desnudas a una concentración menor a 0,007 µg/mL. Esto se explicaría debido al aumento de la endocitosis por los macrófagos al funcionalizar las NP (por uniones de superficie entre ambas entidades). Las ITZ-PLGA NP funcionalizadas podían <u>modular la respuesta inmune</u> de los macrófagos infectados, reduciendo las expresiones IL-1β, INF-γ e IL-6 (citoquinas proinflamatorias). Esta reducción fue más significativa cuando estas NP se recubrían con F4/80.</p>		
<p>Nanopartículas de PLGA-PEG funcionalizadas con aptámeros (AD-1)</p>	<p>Anfotericina B (AmB)</p>	<p>B</p>	<p><i>C. albicans</i></p>	<p>La anfotericina B se une al ergosterol de la membrana, altera su composición y provoca la muerte del hongo.</p> <p>El aptámero AD1 unido a las NP actúa como ligando específico produciendo una mayor unión a <i>C. albicans</i> por su alta afinidad a los (1-3)- β-D- glucanos de la pared celular de este hongo. Estos glucanos también son uno de los principales componentes de la matriz extracelular de las biopelículas por lo que su unión a ellos supone uno de los mecanismos de acción esenciales contra la formación de biopelículas.</p> <p>Las NPs actúa como sistemas de administración de fármacos. Se conjugan además con los aptámeros AD1 mediante la funcionalización de su superficie.</p>	<p>El tamaño de las AD1-AmB-NPS fue de 273,9 ± 1,1.</p> <p>Los <u>efectos antifúngicos sinérgicos antifúngicos in vitro</u>, se evaluaron mediante la cuantificación de la tasa de supervivencia de <i>C. albicans</i> y la actividad de las biopelículas. Todos los tratamientos que contenían AmB redujeron significativamente la supervivencia del hongo en comparación con el grupo control. Las NP AD1-AmB no redujeron significativamente la supervivencia en comparación con AmB-NPs + ultrasonidos. Las AmB-NP+ultrasonidos y las AD1-AmB-NP reducen significativamente la actividad de las biopelículas. No hay diferencias significativas entre ambos grupos.</p> <p>La <u>actividad antifúngica sinérgica in vivo</u> fue probada en ratones. AD1-AmB-NP+ ultrasonidos mostró una inhibición antifúngica significativamente mayor (p<0,01), que la de otros grupos de tratamiento. El tratamiento con ultrasonido solo no mostró efectos antimicóticos significativos. AmB, AmB-NP y AD1-AmB-NP mostraron una tendencia de <u>liberación cinética</u> similar en el tiempo y sin diferencias significativas entre ellas (p>0,05). Tras la irradiación ultrasónica se vio una concentración acumulativa significativamente mayor de AmB en las AmB-NP y AD1-AmB-NP, con una liberación inicial de aproximadamente el 30% en 12h, y una posterior liberación gradual del 75% en 144h. Esto indica que el ultrasonido podría desencadenar de manera efectiva la liberación sostenida del fármaco. En los ensayos en ratones, los marcadores bioquímicos séricos renales, BUN y creatinina, eran significativamente más bajos al inyectar AmB-NP y AD1-AmB-NP, en comparación con AmB libre.</p>	<p>40</p>
<p>Nanopartículas lipídicas solidas (SLN)</p>	<p>Nitrato de miconazol (MN)</p>	<p>de</p>	<p><i>C. albicans</i></p>	<p>El nitrato de miconazol inhibe la biosíntesis de ergosterol fúngico mediante la inhibición de la enzima 14-α-lanosterol desmetilasa asociada al citocromo P-450 fúngico, alterando la membrana celular fúngica.</p> <p>Las SLN actúan como sistemas de administración de fármacos permitiendo la penetración del fármaco a través de la piel, mediante la formación de una película lipídica</p>	<p>Tamaño de partículas de 244,2 ± 27,2 a 493,6 ± 35,3 y forma esférica.</p> <p>La <u>actividad antifúngica in vitro</u> se estimó con el diámetro de la zona de inhibición. MN-SLN mostró una mayor zona de inhibición (34 mm), que la solución de MN (18mm), contra <i>C. albicans</i>. MN-SLN <u>liberaron</u> entre un 78,21% a 93, 33% de MN de manera controlada durante 48h. Estos porcentajes de liberación fueron significativamente mayores que la cantidad liberada de solución de MN.</p> <p>Se realizaron <u>pruebas de irritación cutánea</u> puesto que el tratamiento con MN produce eritemas, lo que conlleva una mala adherencia al tratamiento por parte del paciente. Estos estudios revelaron que la fórmula simple de SLN y MN-SLN no mostraron ningún</p>	<p>41</p>

			<p>en la parte superior del estrato corneo a través de la cual el MN difunde a la piel.</p>	<p>tipo de irritación ni a las 24h ni a las 72h, mientras que la solución de MN reveló irritaciones leves tras 24h desde la aplicación y aumento del mismo tras 72h.</p> <p>En las <u>evaluación in vivo</u>, mediante estudios histopatológicos se comparó la piel de distintas ratas manteniendo un grupo control con estructura cutánea normal y diferentes grupos a los que se le indujo la infección y posteriormente se les administró tratamiento (MN solución y MN-SLC). Los grupos infectados y sin tratamiento presentaron hiperqueratosis, edema, epidermis ulcerada, erosiones e hifas fúngicas. El grupo al que se le trató con solución MN reveló áreas de erosión, ulceración mínima, hifas fúngicas y sin folículos pilosos. Por último, el grupo tratado con la fórmula MN-SLC reveló una estructura uniforme de la piel con folículos pilosos conservados. Por tanto, estos hallazgos demuestran la gran eficiencia de MN-SLC en el tratamiento tópico de la infección fúngica cutánea en comparación con la solución MN.</p>	
Nanopartículas lipídicas (NLC)	Aceite esencial de Lippia sidoides (LSEO)	<i>C. auris</i>	<p>LSEO inhibe la transformación de levaduras en hifas, la formación de biopelículas, la reducción de la biosíntesis de la membrana citoplasmática o pared celular, formación de ROS y sobreexpresión de transportadores de membrana. Debido a su compleja composición y la sinergia entre sus constituyentes, estos mecanismos pueden ocurrir simultáneamente. El mecanismo concreto de LSEO está relacionado con sus grupos funcionales, concretamente con los terpenos.</p> <p>Las NLC encapsulan estas partículas y modulan sus propiedades de liberación, mejorando su estabilidad y actividad antimicrobiana.</p>	<p>Tamaño de las partículas (213,1 a 445,5 nm).</p> <p>Contra <i>C. auris</i> las NLC cargadas con LSEO exhibieron <u>zonas de inhibición</u> más grandes, mediante la prueba de difusión en agar, en comparación con LSEO y NLC solas. Los ensayos de microdilución en caldo determinaron las CMI. La mayor actividad antifúngica se logró con NLC cargadas con LSEO (0,281 mg/mL) y con LSEO solo (0,563 mg/mL), contra <i>C. auris</i>.</p> <p>La toxicidad in vivo se evaluó mediante la inyección en larvas de <i>Galleria mellonella</i> (este modelo muestra grandes similitudes con las respuestas inmunes y tóxicas de los mamíferos). NLC cargadas con LSEO a CMI y por encima de la CIM no mataron las larvas, mostrando ausencia de toxicidad. LSEO mató al 40% de las larvas y la LSEO pura mató a todas las larvas tras 24h. Por tanto, las NLC como sistemas portadores mostraron un perfil no tóxico, lo que sugiere una estrecha relación con la biocompatibilidad mejorada de la matriz lipídica.</p>	48

4.3. NANOPARTÍCULAS ANTIVIRALES

La emergente aparición de nuevas infecciones virales en todo el mundo, así como las infecciones por virus multirresistentes y su alta transmisión, ha planteado desafíos en las terapias antivirales convencionales. Entre las limitaciones de estos fármacos antivirales se encuentran: i) interacción de los antivirales con los fármacos para patologías comunes, además de efectos secundarios tóxicos; ii) la vida media corta de los antivirales implica un aumento en la frecuencia de la medicación y un difícil cumplimiento por parte del paciente; iii) el posible desarrollo de resistencias a los medicamentos; iv) la limitada solubilidad, permeabilidad y la baja biodisponibilidad de los fármacos requiere la administración de dosis más altas y por tanto, mayores efectos tóxicos; v) algunos virus como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus del Zika o el Ébola, se propagan hasta regiones inaccesibles como el sistema nervioso central (SNC), el sistema linfático o el líquido sinovial, lo que dificulta la eficacia terapéutica; vi) dificultades en el diagnóstico y tratamiento debido a largos periodos de latencia de muchas infecciones virales; vii) dificultad para desarrollar fármacos antivirales de amplio espectro ya que cada virus tiene su propia estructura y función; viii) alteraciones del fármaco en el tracto gastrointestinal cuando su administración es por vía oral, disminuyendo su actividad.

Por ello, en los últimos años, se han explorado nuevas alternativas tanto para el diagnóstico y prevención como para el tratamiento de este tipo de infecciones, entre ellas la nanotecnología (49,50). Se han desarrollado sistemas avanzados de administración de antivirales (**Figura 7**) los cuales consisten en NP cargadas con fármacos antivirales que debido a sus características y mecanismos de acción consiguen superar las limitaciones de los fármacos convencionales (51)

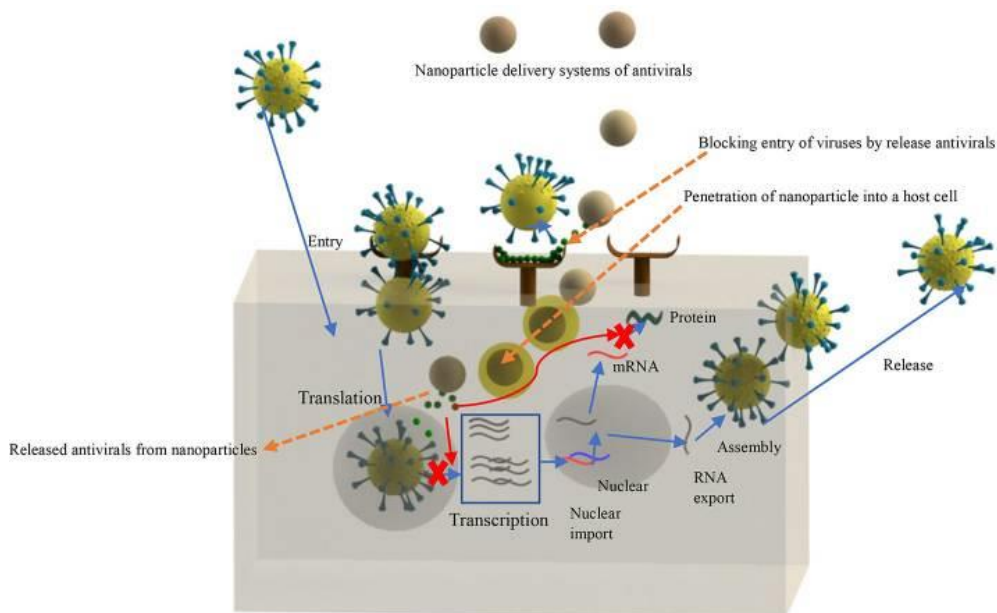


Figura 7. Mecanismos de acción de los sistemas de administración de nanopartículas antivirales.

Los antivirales encapsulados inhiben la replicación viral en la célula huésped a través de: 1) Bloqueo de los receptores antivirales. 2) Penetrando en la célula huésped e inhibiendo directamente los principales pasos de la replicación viral, incluyendo la transcripción, replicación de ADN, síntesis de proteínas y ensamblaje. 3) Liberando los fármacos antivirales transportados por las NP en el lugar de acción (51).

Se han descrito NP con un patrón bifásico, es decir, una liberación inicial y posteriormente una liberación más lenta y sostenida en el tiempo. La liberación rápida inicial da lugar a la disolución instantánea de las moléculas de fármaco absorbidas en la superficie de las NP, y en la segunda liberación el fármaco atrapado en la estructura interna de la NP difunde lentamente lo que aumenta la vida media de los fármacos y requiere una menor frecuencia de dosificación.

Las NP aplicadas al tratamiento de infecciones víricas incluyen NP de plata, NP de dióxido de titanio, NP basadas en oligo y polisacáridos y NP de lípidos sólidos. Estas NP pueden contener fármacos antivirales como docetaxel, flavonoides, zidovudina, aciclovir, ritonavir, entre otros. Estas aproximaciones se han aplicado contra varios virus como el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS- CoV-2), el virus herpes simple (VHS) o el VIH, siendo este último uno de los más estudiados (5). El VIH es un virus neurotrópico que invade el SNC y produce reservorios en él. La terapia antirretroviral combinada (ARVc) es incapaz de cruzar la barrera

hematoencefálica y la barrera del líquido cefalorraquídeo (LCR) por lo que resulta ineficiente en el tratamiento del neuroSIDA (52,53). Por ello los estudios descritos plantean combinaciones de estos fármacos con diferentes tipos de NP, las cuales actúan como sistemas de administración para poder llegar al sitio diana. Entre otros, se ha estudiado el fármaco antivírico zidovudina con diferentes NP, NP de alginato funcionalizadas con amida (GAAD NPs) y NP híbridas de ácido dextraesteárico (SA/DexNPs) (54,55). Ambas NP presentaban forma esférica y las SA/DexNPs tenían un mayor tamaño y una liberación del fármaco menor que las GAAD NPs en 24h. Además, ambas NP presentaron eficiente absorción celular sin mostrar toxicidad en las células, por lo que ambas podrían ser vectores prometedores para la administración de AZT en la terapia contra el VIH (54,55). La administración de las NP mediante nanogotas por vía nasal también se ha estudiado como alternativa no invasiva, segura y con una mayor eficacia que otras administraciones debido a la conexiones anatómicas entre la región olfativa y el SNC (56).

Debido a las importantes repercusiones de la pandemia causada por el SARS-CoV-2, se están investigando alternativas de tratamiento con NP. Entre ellos, el estudio realizado en el modelo *in vivo* en hámsters dorados por su homología con la infección producida en el ser humano. La infección por este virus fue tratada por inhalación con el nanofármaco “SNAT” (Tx-[NH₂-AgNPs]) y se observaron reducciones significativas de carga viral y de las secuelas de la infección, como la pérdida de peso o lesiones pulmonares en el modelo animal (57).

Las NP también se han aplicado como sistema de administración de vacunas de ADN y su uso como inmunoterapia contra el cáncer producido por virus (VPH-16). Este es un enfoque potencialmente prometedor ya que el sistema de administración puede dirigirse específicamente a las células presentadoras de antígenos e inducir la liberación de la vacuna de ADN en endolisosomas, pudiendo lograr una inmunidad efectiva de células T a dosis más bajas de ADN plasmídico, lo que se traduce en una mayor seguridad y rentabilidad (58).

En la **Tabla 6** se recogen con más detalle estos y otros trabajos sobre NP aplicadas contra las infecciones víricas.

Tabla 6. Estudios analizados acerca de nanoformulaciones antivirales.

Tipos de NP	Agente antimicrobiano	Patógeno diana	Mecanismo de acción	Resultados	Ref.
Nanofármaco "SNAT" (Tx-[NH ₂ -AgNPs])	Docetaxel	SARS-CoV-2	El mecanismo de acción del nanofármaco SNAT, no se conoce con certeza. Se piensa que a pH alcalino este nanofármaco podría bloquear la liberación viral endosomal, interfiriendo en el ciclo de vida del virus. Futuros estudios tienen como objetivo descifrar el mecanismo de acción exacto por el cual SNAT inhibe la infección por SARS-CoV-2 en hámsters.	SNAT mostró una disminución en el número de copias de ARN viral y una disminución significativa de los <u>títulos virales</u> en hisopos orales de hámsters infectados por SARS-CoV-2. En estudios in vivo realizados en hámster infectados, SNAT demostró una pérdida de peso corporal y lesiones pulmonares post infección significativamente menor en comparación con los no tratados o con los que recibieron solución salina. Por tanto, estos resultados in vivo sugieren el potencial de SNAT para reducir significativamente la <u>carga viral</u> , así como una efectiva reducción de la <u>perdida ponderal</u> y la <u>patología pulmonar</u> resultante. En los resultados ex vivo, SNAT no producía <u>citotoxicidad</u> y mostró <u>propiedades antioxidantes</u> en células pulmonares y cutáneas humanas.	57
Nanopartículas de alginato funcionalizadas con amida (GAAD NP)	Zidovudina (AZT)	VIH	La zidovudina inhibe la transcriptasa inversa impidiendo la replicación del virus. Las NP de alginato funcionalizadas con amida, encapsulan al fármaco y le proporcionan propiedades hidrófilas. Los grupos hidroxilo del alginato se conjugan con fármacos y proteínas, mejorando la solubilidad, aumentando el tiempo de circulación y con ello la vida media del fármaco.	El tamaño de las partículas fue de entre 437 nm a 473 nm y forma esférica. Las NP exhibieron un alto rendimiento de <u>atrapamiento de fármacos</u> . Los estudios de <u>liberación in vitro</u> de zidovudina mostraron una liberación lenta y sostenida durante un periodo prolongado de tiempo. Con una liberación inicial en ráfaga durante 2,5 h, y del 54% del fármaco en 24 h. Las NP cargadas con zidovudina mostraron una eficiente absorción en los <u>ensayos de captación intracelular</u> . Por tanto, las GAAD cargadas con fármacos son candidatas prometedoras como sistema de administración de fármacos antivirales en terapias contra el VIH. La citotoxicidad de las NP se probó in vitro contra células de glioma y neuro 2a, no se afectó la viabilidad de estas células, indicando buena biocompatibilidad.	54
Nanopartículas híbridas de ácido dextraesteárico (estructura core-shell) (SA/DexNPs)	Zidovudina (AZT)	VIH	La zidovudina inhibe la transcriptasa inversa, impidiendo la replicación viral. El nanosistema híbrido gracias a su estructura core-shell evita la liberación prematura del fármaco mejorando su estabilidad.	El tamaño de las partículas varió entre 356 nm a 730 nm y morfología esférica. Los fármacos incluidos en las NP híbridas cambiaron su <u>perfil de liberación</u> dependiendo del pH. A pH fisiológico, se observó una liberación sostenida del fármaco, teniendo lugar una liberación inicial del 28% en las primeras 10h, seguida de una liberación lenta del 42,2% hasta las 24 h. Los <u>estudios de captación celular in vitro</u> se realizaron sobre tres líneas de células neuronales y se observó mediante microscopía fluorescente. Las NP híbridas mostraron más captación en las células de glioma y en las células neuro 2a que en la AZT libre. Teniendo en cuenta los resultados, el SPN SA/DEX parece un vector prometedor para la administración de AZT y su internalización en células del SNC, para la terapia del VIH. La absorción de AZT-SA/DEX NPs se probó también en células HeLa, comprobándose su internalización en ellas. Las NP AZT-SA/DEX no exhibieron ninguna toxicidad para las células neuronales (Todos los componentes del nanosistema híbrido muestran una viabilidad celular superior al 94%, lo que indica biocompatibilidad).	55

Nanopartículas de hidroxipropil-β- ciclodextrina reticulados con carbonato de difenilo (HPβCD NPs)	Dolutegravir sódico (DTG)	VIH	Dolutegravir sódico inhibe la integrasa de segunda generación, y por tanto la transferencia de las cadenas, impidiendo la integridad del ADN viral del VIH en el ADN del huésped, paso esencial en la replicación viral. Las NP HPβCD aumentan la eficiencia de atrapamiento y por tanto la carga del fármaco, aumentando su solubilidad y transportándolo hasta el lugar de acción.	Tamaño de las NP de 72,47± 4,8 a 106,5 ± 5,6 nm y forma esférica. El perfil de liberación <u>in vitro</u> del fármaco siguió un patrón bifásico. Las DGT-NP mostraron una liberación del 54,28% – 97,11% del fármaco en 6h. El fármaco libre 19,12% en 6h. Las NP mostraron <u>mucoadhesión</u> en la mucosa nasal porcina y no mostraron <u>toxicidad</u> ni en dicha mucosa ni en las células de fibroblastos, mostrando 91,58± 0,93% de viabilidad celular. Se estudió además la <u>biodistribución in vivo</u> en ratas albinas y se vio que el porcentaje de transporte cerebral directo del fármaco fue significativamente mayor (P<0,05) tras la administración intranasal de NP cargadas con DGT (83,47%) que con solución DGT (72,56%). La administración intranasal de NP aumentó notablemente la concentración del fármaco en LCR. Las gammagrafías revelaron una alta radiactividad en el SNC, vejiga, hígado tras la administración intranasal de DTG-NP en comparación con la solución intranasal de DGT.	56
Nanopartículas quitosano-g-HPβCD (CS-g-HPβCD NPs)	Efavirenz (EFV)	VIH	El EFV actúa inhibiendo la transcriptasa inversa. El quitosano puede modificarse químicamente lo que permite introducir nuevas funciones al unir sus grupos amina, grupos alcohol, entre otros, con otras moléculas, modificando así las propiedades de liberación de fármacos, su solubilidad o la administración eficiente de estos. Los grupos amino del CS cargados positivamente, interaccionan con sitios cargados negativamente de los revestimientos celulares epiteliales de la mucosa potenciando la absorción y permeación. El nanocompuesto CS-g- HPβCD NP, diseñado para la administración intranasal, actúa mejorando la biodisponibilidad del fármaco en el SNC, ya que protege al fármaco de la degradación biológica y química y lo transporta extracelularmente por la vía neuronal. Facilita la endocitosis y aumenta las concentraciones del fármaco en el SNC y mejorando su biodisponibilidad en ese sistema para el tratamiento del neuro-SIDA.	Tamaño de las NP de 198±4,4 nm y forma esférica. Las NP mostraron <u>liberación sostenida</u> del fármaco (99,03± 0,3% en 8h). Las EFV-NP mostraron 4,76 veces más <u>permeabilidad</u> que la solución simple del fármaco a través de la mucosa nasal porcina. La administración intranasal de EFV-NP mostró una mayor <u>biodisponibilidad</u> en el SNC (unas 12,4 veces mayor que la solución intravenosa de EFV) y un alto porcentaje de <u>focalización del fármaco</u> (99,24%) en comparación con EFV sola. Las imágenes de <u>gammagrafía</u> revelaron una alta captación de EFV-NP en el SNC. Las NP mostraron <u>histocompatibilidad</u> con la mucosa nasal porcina y <u>no toxicas</u> para la línea celular probada (L929). Por todo esto, CS-g- HPβCD demostró ser un portador potencial en el desarrollo de EFV-NPs intranasales para su orientación en el SNC.	52
Nanogotas de quitosano decoradas con	Aciclovir	VHS-2	Aciclovir actúa inhibiendo la ADN polimerasa viral bloqueando la síntesis de ADN.	Tamaño promedio: 395,4 ± 12,6 nm, forma esférica.	59

éter de sulfobutil β-ciclodextrina (SBE- β-CD NP)			<p>El quitosano presenta una alta capacidad de mucoadhesión gracias a las interacciones electroestáticas entre sus grupos amino cargados positivamente y la capa de moco del organismo cargada negativamente, lo que permite potenciar la penetración del fármaco que transportan a través de barreras biológicas. El éter de sulfobutil β-ciclodextrina actúa de agente solubilizante del fármaco, mejorando su biodisponibilidad y su absorción.</p> <p>Por tanto, las nanogotas de quitosano con éter de sulfobutil β-ciclodextrina actúan como nanotransportadores del fármaco y permiten una liberación sostenida del mismo, su absorción transmucosa y su administración en el sitio objetivo.</p>	<p>Contra el VHS-2 las nanogotas cargadas con aciclovir exhibieron mayor <u>actividad antiviral</u> en comparación con el fármaco libre. Puede que por una mayor concentración intracelular del fármaco en la administración de nanogotas.</p> <p>Los resultados del diagrama de <u>solubilidad acuosa</u> demostraron que el ACV aumentó de manera dependiente de la concentración de ciclodextrina. Al combinar el ACV con SBE- β-CD NP aumentó su solubilidad, lo que favoreció la difusión del fármaco y un perfil de liberación in vitro prolongado sin efecto de explosión inicial. La <u>capacidad de mucoadhesión</u> del quitosano se mantuvo para la formulación en nanogotas y tras combinarla con SBE- β-CD.</p> <p>Por tanto, los resultados apoyan la viabilidad de las nanogotas de quitosano cubiertas de éter de sulfobutil β-ciclodextrina como nanotransportadores de antivirales y permitiendo la administración tópica de aciclovir en la mucosa vaginal.</p>	
Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN)	Ritonavir	VIH	<p>Ritonavir es un inhibidor competitivo de la proteasa del VIH y actúa interfiriendo en su actividad y produciendo viriones no infecciosos.</p> <p>Las SLN actúan como nanoportadores para solventar las limitaciones de permeación y orientar los fármacos hasta los reservorios de virus, evitando las bombas de eflujo P-gp y la endocitosis/fagocitosis de sistemas de degradación, gracias a su naturaleza lipofílica y su pequeño tamaño. Aumentan la biodisponibilidad y el tiempo de actuación de los antirretrovirales al aumentar la captación linfática, evitando el metabolismo de primer paso.</p>	<p>Tamaño de las SNL cargadas fue de 178-254 nm y forma esférica.</p> <p>La encapsulación del fármaco en los SLN causó una <u>liberación</u> sostenida del 40% durante 9 días, sin ninguna explosión inicial. El antígeno p24 del VIH se determinó como indicador de inhibición para la evaluación de la <u>eficacia antirretroviral</u>. El ritonavir encapsulado en SLN inhibió la producción de p24, sin mostrar diferencias significativas respecto a la inhibición del ritonavir libre en todas las concentraciones, a las 24h y a las 62h.</p>	53
Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN)	Aciclovir	VHS	<p>Aciclovir actúa bloqueando la síntesis de ADN, inhibiendo la ADN polimerasa viral y finalizando el alargamiento de la cadena de ADN viral.</p> <p>Las SLN actúan como medios de administración de fármacos con el fin de administrar los fármacos en células específicas mejorando la acción terapéutica y reduciendo efectos secundarios, a través del mecanismo anteriormente mencionado.</p>	<p>El tamaño de las SNL cargadas fue de 180 ± 1,2 nm, y forma esférica.</p> <p>Las SLN cargadas con aciclovir mostraron una liberación bifásica, con un efecto ráfaga inicial seguido de una liberación prolongada, liberando el 78% del fármaco en 35h.</p> <p>Por tanto, los resultados indican que las SLN cargadas con ACV podrían ser eficaces en el mantenimiento de la liberación del fármaco durante un periodo prolongado y como una preparación de liberación controlada para el tratamiento de infecciones virales.</p>	60

Nanopartículas de quitosano (SNP)	Vacunas ADN	VPH 16	<p>Las vacunas de ADN actúan contra la oncoproteína E7 codificada por el VPH-16, estimulando la respuesta inmunitaria mediante la producción de anticuerpos específicos contra la proteína E7 o a través de linfocitos T citotóxicos que reconocen y atacan específicamente a células que expresen esta oncoproteína. Esto se consigue mediante la incorporación de un fragmento de ADN viral que codifica para la proteína E7 en el cuerpo del paciente donde se incorpora a sus células.</p> <p>Las NP de quitosano se unen al ADN de la vacuna y lo protegen de la degradación de las nucleasas mejorando su absorción celular, permitiendo una mejor movilidad a través de las membranas celulares y la llegada de una cantidad óptima de ADN a las células presentadoras de antígeno, induciendo así la respuesta inmune.</p>	<p>El tamaño de las CSNP fue de aproximadamente 70 nm y forma esférica.</p> <p>El ensayo de respuesta de proliferación de linfocitos al antígeno E7 mostró que la proliferación fue significativamente mayor ($P < 0.001$) en ratones estimulados con CSNP-ADN E7 que en aquellos estimulados con ADN-E7 y que los grupos control. Las CSNP-ADN E7 mostraron un 50% de lisis específica, a través de la inducción de <u>la actividad de linfocitos T citotóxicos (CD8+)</u>, mostrando una actividad citolítica significativamente mayor que ADN-E7 y CSNP solos.</p> <p>Los ratones inmunizados con vacuna ADN administrada en NP de quitosano produjeron significativamente más citoquinas (INF-γ e IL-4), que el resto de grupos. La vacuna CSNP-DNA E7 mostró una regresión tumoral significativa de 1,2 a 0,8 mm³. El ADN E7 mostró una reducción del volumen tumoral de 1,2 a 0,95 mm³, pasadas seis semanas en ambos casos.</p> <p>En resumen, los resultados mostraron que los sistemas de nanoadministración basados en quitosano para la vacuna ADN E7 podrían reducir significativamente el volumen de tumores que expresen E7. Esto indica que la nanoentrega basada en quitosano promueve significativamente la inmunidad antitumoral de la vacuna de ADN.</p>	58
--	-------------	--------	--	---	----

4.4. NANOPARTÍCULAS ANTIPARASITARIAS

Las NP también se han estudiado para aplicarlas en tratamientos de infecciones parasitarias. Entre las enfermedades infecciosas producidas por parásitos, la leishmaniasis es una enfermedad tropical parasitaria producida por el protozoo *Leishmania spp.* pudiendo afectar a humanos, carnívoros y roedores y propagada por picaduras de flebótomos. Actualmente supone un importante problema de salud pública en áreas endémicas, afectando por lo menos a 102 países, con altas tasas de mortalidad, discapacidad y morbilidad. (5,61).

El mecanismo patogénico de este protozoo consiste en su crecimiento incontrolado en el interior de los macrófagos, que son las células huésped primarias en la etapa intracelular del parásito, lo que produce la alteración de la inmunidad del huésped. Las intervenciones terapéuticas actualmente disponibles para luchar contra este mecanismo no son del todo efectivas debido a sus limitaciones o efectos secundarios asociados. Entre los fármacos disponibles, el antimonio de meglumina tiene muchos efectos secundarios asociados a su ingesta y el antimonial pentavalente no se puede administrar a pacientes inmunocomprometidos, trasplantados o con enfermedades cardíacas. El fármaco miltefosina puede causar teratogenia si se administra en embarazadas. Estos fármacos quimioterápicos son caros y además el parásito ha desarrollado resistencia contra ellos debido a un mal manejo clínico en la mayoría de países subdesarrollados. Además, no existe una vacuna efectiva para su prevención.

Para solventar este problema, durante la última década se han planteado como alternativa los sistemas de administración de fármacos antileishmaniales basados en la nanotecnología, con capacidad para penetrar en los macrófagos por fagocitosis y llegar hasta el parásito, mejorar así el rendimiento de los fármacos y reducir la toxicidad sistémica (**Figura 8**) (62).

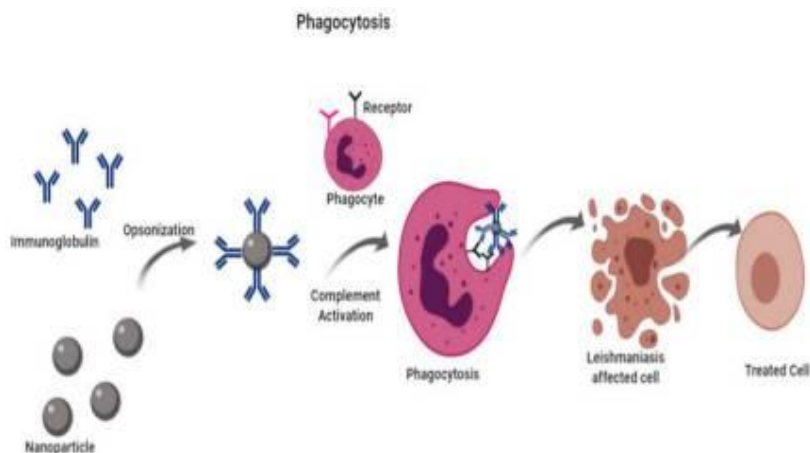


Figura 8. Esquema del proceso de fagocitos para la absorción de las nanopartículas cargadas con fármacos (62).

Han sido sintetizadas distintas NP para la administración controlada de fármacos en el tratamiento de la leishmaniasis (61,62):

- Nanopartículas metálicas: Las NP de óxido de zinc (ZnONP) han demostrado que en estudios in vitro ser eficaces contra las especies *Leishmania donovani* y *Leishmania major* (63). Las NP de plata (AgNP) producen la muerte de amastigotes y la liberación de ROS que causan daño en la membrana de los promastigotes, la forma de protozoo que causa la infección (62).
- Nanopartículas liposómicas: Los liposomas cargados positivamente son fácilmente absorbidos por los macrófagos. Además, estas NP se pueden recubrir con moléculas de azúcar para favorecer la unión con el parásito, o cargar fármacos tanto hidrófobos como hidrófilos, aunque pueden presentar inestabilidad y posible toxicidad al pasar a sangre. Un ejemplo son los liposomas con el fármaco AmB (62).
- Nanopartículas poliméricas: Se han probado las NP poliméricas Pluronic P-123 y F-127 con acción en la membrana mitocondrial del parásito o AmB incorporada a un nanoportador de quitosano tiolado anclado a manosa (64).
- Nanopartículas lipídicas: Se han probado NP lipídicas cargadas con el fármaco miltefosinas que son alquilfosfolípidos que destruyen el Ca^{2+} necesario para la homeostasis del parásito y causan la lesión de los promastigotes y su muerte. Se ha probado estas NP lipídicas con los fármacos Oryzalin y AmB (65).

En la **Tabla 7**. Se detallan los trabajos descritos para tratar con NP las infecciones parasitarias concretamente contra la leishmaniasis. En varios de los estudios se demostró que la propia NP tiene actividad antileishmanial (63,64,69). En otros estudios se incorporaron fármacos y las NP actuaron, por un lado, como vehículos de administración de fármacos y por otro, potenciando las propiedades antimicrobianas del fármaco que transportan, actuando de manera sinérgica (65-68). Hay varios estudios que han evaluado distintos tipos de NP contra la especie *L. major* y tanto las ZnO NP como las NP poliméricas han mostrado eficacia (63,64,66). Además, las ZnO NP mostraron actividad antileishmanial por sí mismas y las NP poliméricas demostraron un aumento en la eficacia de los fármacos que transportaban en comparación con su forma libre. Dependiendo de la NP empleada, el mecanismo de acción difiere, pero como norma general en todos los estudios los resultados muestran mayor efectividad del tratamiento al emplear las NP en comparación con aquellos que precinden de ellas (**Tabla 7**).

Tabla 7. Estudios analizados acerca de nanoformulaciones antiparasitarias.

Tipos de NP	Agente antimicrobiano	Patógeno diana	Mecanismo de acción	Resultados	Ref.
Nanopartículas de óxido de zinc (ZnONP)	Nanopartículas de óxido de zinc (ZnONPs)	<i>L. major</i>	Las ZnONPs ejercen efectos citotóxicos sobre los promastigotes provocando su apoptosis. El mecanismo exacto de como la inducen es aún desconocido.	El tamaño medio de las NP de zinc fue de 20 nm. <u>La inhibición del crecimiento de los promastigotes</u> dependía de la dosis de ZnONP administrada (a mayor concentración menor viabilidad de los promastigotes), mostrando un efecto máximo a la concentración de 120 µg/ml a las 72h contra los promastigotes de <i>L. major</i> . Al aumentar la concentración de las NP, el <u>número de amastigotes</u> en macrófagos infectados disminuía. Por tanto, los resultados de este estudio mostraron que las ZnONP tienen actividades antileishmaniales dependientes de la dosis y el tiempo, observándose mayores efectos necróticos y apoptóticos en el parásito a mayor tiempo y concentración de NP y obteniéndose diferencias significativas entre los grupos de prueba y control.	63
NP poliméricas Pluronic P-123 y F-127	NP poliméricas Pluronic P-123 y F-127 sin la incorporación de otros fármacos	<i>Leishmania amazonensis</i>	Las NP poliméricas producen la despolarización de las membranas mitocondriales. Los Pluronic penetran en los macrófagos infectados. Estas NP actúan como nanoportadores, potenciando la actividad del fármaco que transportan, mejorando su penetración en los macrófagos, su selectividad y efectos.	Las NP P-123 y F-127 inhibieron significativamente <u>la tasa de supervivencia de los amastigotes</u> y produjeron pérdida de potencial de membrana mitocondrial en los <u>promastigotes</u> . Las NP Pluronic P-123 y F-127 tienen un alto potencial como <u>nanoportadores</u> de agentes quimioterápicos contra microorganismos intracelulares como leishmania. Las NP Pluronic P-123 y F-127 mostraron baja <u>actividad citotóxica en macrófagos J774A1</u> . NP P-123 mostró citotoxicidad moderada para macrófagos BALB/c. Las NP Pluronic P-123 y F-127 no mostraron toxicidad en los glóbulos rojos humanos.	64
NP poliméricas de poli ácido láctico-co-glicólico (PLGA)	Anfotericina B (AmB)	<i>L. major</i>	La AmB interacciona con el ergosterol, induciendo la formación de canales de membrana que mejoran la permeabilidad a iones y pequeñas moléculas, lo que lleva a la muerte del parásito. Las NP permiten una administración directa en el sitio de infección y la liberación del fármaco de manera sostenida, reduciendo su toxicidad y los efectos secundarios.	La <u>actividad antileishmanial</u> in vitro de AmB libre y AmB NP se determinó en los promastigotes de <i>L. major</i> y en macrófagos infectados. La <u>concentración inhibitoria media (IC₅₀) en los promastigotes extracelulares</u> muestra que no hay diferencias significativas entre AmB libre y AmB NP. Contra los amastigotes en macrófagos infectados, AmB NP fueron dos veces más efectivas que las AmB libre, mostrando diferencia significativa ($p < 0,01$) entre sus IC ₅₀ . Esto podría deberse a que las NP permiten la penetración y acción de la anfotericina en los macrófagos, donde se encuentran los amastigotes. Contra <i>L. major</i> tanto la AmB libre (2-20µg/ml) como AmB NP (2-20µg/ml) inhibieron completamente el crecimiento. AmB (0,2 µg/ml) inhibió el 39% del crecimiento y AmB NP (0,2 µg/ml) inhibió el 100%, manteniendo esta eficacia estable durante 15 días, lo que indica una liberación lenta y posterior exposición a largo plazo efectivo. Esto demostró el	66

				<p>papel crucial de la encapsulación de la AmB para mejorar la inhibición del parásito durante periodos prolongados de tiempo.</p> <p>En un estudio in vivo en ratones se comparó la <u>eficacia terapéutica de la administración intralesional</u> y se vio un efecto significativamente mayor de reducción de la lesión de las AmB NP en comparación con el desoxicolato de AMB y el control. Estos hallazgos sugieren que las AmB NP mejoran la administración de anfotericina y se podrían usar para el tratamiento local de leishmaniasis cutánea.</p>	
Nanopartículas lipídicas solidas (SLN) recubiertas de quitosano	Anfotericina B (AmB)	<i>L. donovani</i>	<p>La AmB se une al ergosterol de la membrana, formando poros permeables y permitiendo el paso de cationes, aniones y electrolitos.</p> <p>Las SLN solventan los problemas de solubilidad que impiden una correcta administración y llegada hasta el sitio objetivo del fármaco.</p> <p>El recubrimiento de quitosano se une a los macrófagos, facilitando la fagocitosis.</p>	<p>Las AmB-SLN recubiertas de quitosano mostraron una mayor <u>captación e internalización</u> en los macrófagos J774A1 en comparación con las AmB-SLN no recubiertas.</p> <p>Las AmB-SLN recubiertas de quitosano mostraron un aumento significativo de la <u>inhibición de amastigotes</u> en comparación con las AmB-SLN no recubiertas.</p> <p>La actividad inmunomoduladora de los macrófagos consiste en inducir una respuesta Th1 a través de la secreción de TNF-α e IL-12. Las AmB-SLN mostraron un aumento de 1,68 y 1,84 veces en la producción de TNF-α e IL-12 respectivamente, en comparación con las no recubiertas. En los ensayos en tejidos renales y hepáticos para evaluar la <u>toxicidad</u>, se confirmó la ausencia de cualquier efecto adverso de las AmB-SLN recubiertas de quitosano.</p>	65
Nanopartículas de plata (AgNP)	Quercetina (QT) Ácido kolavenic (PGEA) Extracto vegetal de Caesalpinia pulcherrima (CPFLM)	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	<p>El mecanismo exacto por el cual las NP recubiertas de productos naturales actúan sobre las <i>acanthamebas</i> es todavía desconocido, pero se sabe que las AgNP mejoran los efectos amebicidas de los medicamentos, a través de su vehiculización hasta zonas de imposible acceso para ellos. Las QT-AgNP impiden la transformación morfológica de los trofozoítos en quistes.</p>	<p>Tamaño de las QT-AgNPs: 443nm y forma esférica.</p> <p>Los ensayos amebicidas mostraron que QT, PGEA y CPFLM redujeron significativamente el número de <i>A. castellanii</i>, mostrando efectos amebicidas significativos. Al conjugarlos con AgNP se mostró una reducción significativa de la viabilidad de las amebas en comparación con los productos naturales y las AgNP solas.</p> <p>En cuanto a la <u>citotoxicidad</u>, ninguna de las muestras exhibió >30% de daño en las células HacCaT (línea celular seleccionada de queratinocitos humanos).</p> <p>Por tanto, estos resultados muestran el uso potencial de los compuestos naturales QT, PGEA y el extracto vegetal CPFLM, conjugados con AgNP contra <i>A. castellanii</i>.</p>	67
Nanopartículas de plata (AgNP)	Bisindol sintéticos (A1 y A2) y Tiazol sintéticos (A3 y A4)	<i>Balamuthia mandrillaris</i> <i>Naegleria fowleri</i>	<p>Los tiazoles despolarizan la membrana mitocondrial induciendo la muerte celular causando apoptosis, y pueden fragmentar el ADN. Inhiben la polimerización de microtúbulos, la activación del transductor de señales de la transcripción, la modulación de la quinasa y la inhibición de la histona deacetilasa.</p> <p>Los indoles interfieren en la síntesis de ergosterol, lo que conduce a la interrupción de la membrana.</p>	<p>Tamaño de los nanoconjugados: <100nm</p> <p>Contra <i>B. mandrillaris</i> los compuestos sintéticos (A2 y A4) mostraron inducción de muerte celular del 42% y 53% respectivamente. Al conjugar A4 con AgNP aumentó su actividad amebicida, pero no de manera significativa.</p> <p>Contra <i>N. fowleri</i> solo mostró efectos amebicidas A4 (69%).</p> <p>Contra <i>B. mandrillaris</i> A1 y A3 mejoraron significativamente su actividad amebicida (39% y un 71% respectivamente), al conjugarlos con AgNP.</p> <p>Contra <i>N. fowleri</i>, al conjugar A1 y A3 con las AgNP mejoró significativamente su actividad amebicida, incrementándose un 32% y un 51% respectivamente.</p>	68

			Las AgNPs mejoran las actividades antiamebianas de estos compuestos mediante alteraciones de la permeabilidad de las membranas celulares, formación de ROS y de radicales libres. También actúan sobre el azufre y fosforo del ADN.	Los estudios de toxicidad en células HeLa mostraron que la mayoría de los compuestos expresaban citotoxicidad limitada, exceptuando Bisindol sintético (A1) que mostró 98% toxicidad contra las células humanas. Por tanto, los derivados del indol y Tiazol exhibieron potentes actividades antiamebianas, las cuales mejoraron aún más al conjugadas con NP.	
Nanopartículas de selenio (SeNPs)	Nanopartículas de selenio (SeNPs)	<i>Toxoplasma gondii</i>	Los mecanismos de actuación exactos se desconocen, pero se ha visto que aumentan las citoquinas inmoduladoras celulares (IL-12, IL-2, etc.) y algunos mediadores inflamatorios.	Para evaluar la actividad antiparasitaria, a los ratones infectados con la cepa <i>Toxoplasma gondii</i> se les inyectó distintas concentraciones de SeNP por día y se midieron los niveles de ARNm, TNF-, IL-12, IL-10 e IFN al decimoquinto día. Se vio que el número de quistes cerebrales en ratones tratados con SeNPs fue significativamente menor que el grupo control (sin tatar). Los estudios de toxicidad mostraron una baja toxicidad de las SeNPs.	69

5. CONCLUSIONES

- La búsqueda bibliográfica ha resultado de gran complejidad debido al campo tan amplio que abarcan las NP. Además, la aplicación de la nanotecnología dentro de la terapia antimicrobiana está poco desarrollada y las evidencias científicas se centran principalmente contra las infecciones bacterianas.
- Las NP mejoran el efecto antimicrobiano de los fármacos con los que se conjugan gracias a sus propiedades, además de presentar muchas de ellas, actividad antimicrobiana intrínseca.
- Las características de superficie y de vehiculización de fármacos hasta el lugar de acción que presentan las NP, además de la capacidad de liberación sostenida, consiguen disminuir los efectos secundarios en el organismo. Esto permite que se optimicen las concentraciones de antimicrobianos en el sitio diana disminuyendo la frecuencia de dosificación.
- Las NP combinadas con fármacos tiene mayor actividad contra los microorganismos, en comparación con los fármacos libres. Este efecto se ha descrito tanto con fármacos naturales como sintéticos, en nanosistemas inorgánicos, lipídicos y poliméricos.
- El efecto antimicrobiano depende del tipo de NP empleada y el agente antimicrobiano con el que se combina, así como del microorganismo concreto contra el que actúan.
- Es necesario ampliar la investigación en aplicaciones de NP antivirales, antifúngicas y antiparasitarias, así como en la adhesión y formación de biopelículas microbianas. Además, se requieren más ensayos clínicos para conocer mejor el mecanismo de acción de las NP *in vivo* y poder comercializarlas para uso clínico.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Sharmin S, Rahaman MM, Sarkar C, Atolani O, Islam MT, Adeyemi OS. Nanoparticles as antimicrobial and antiviral agents: A literature-based perspective study. *Heliyon* [Internet]. 2021 [citado el 3 de abril de 2023];7(3):e06456. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33763612/>
2. Prevención, Control y Eliminación de Enfermedades Transmisibles [Internet]. Paho.org. [citado el 17 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/prevencion-control-eliminacion-enfermedades-transmisibles>
3. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules* [Internet]. 2019 [citado el 17 de marzo de 2023];25(1):112. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31892180/>
4. Berraondo P, Rabinovich G.A.; Melero I.; Palou E. Tratamiento de la enfermedad a través del sistema inmunitario- Farreras Rozman. *Medicina Interna* [Internet]. Elsevier España, S.L.U. 2020. [consulta, 12/11/2022]. Disponible en: [Tratamiento de la enfermedad a través del sistema inmunitario - Farreras Rozman. Medicina Interna - ClinicalKey Student \(oclc.org\)](#)
5. Mercan D-A, Niculescu A-G, Grumezescu AM. Nanoparticles for antimicrobial agents delivery-an up-to-date review. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2022 [citado el 5 de enero de 2023];23(22):13862. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms232213862>
6. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Paho.org. [citado el 15 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos>
7. Anand U, Carpena M, Kowalska-Góralaska M, Garcia-Perez P, Sunita K, Bontempi E, et al. Safer plant-based nanoparticles for combating antibiotic resistance in bacteria: A comprehensive review on its potential applications, recent advances, and future perspective. *Science of the Total Environment* [Internet]. 2022 ;821(153472):153472. Disponible en : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722005642>

8. Alós J-I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica* [Internet]. 2015 [citado el 26 de enero de 2023];33(10):692–9. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-resistencia-bacteriana-los-antibioticos-una-S0213005X14003413>
9. Delavari M, Dalimi A, Ghaffarifar F, Sadraei J. In vitro study on cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on promastigote and amastigote forms of *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). *Iranian Journal of Parasitology*. 2014; [citado el 26 de enero de 2023] 9(1):6–13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4289881/>
10. Xu L, Wang Y-Y, Huang J, Chen C-Y, Wang Z-X, Xie H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics* [Internet]. 2020 [citado el 19 de febrero de 2023];10(20):8996–9031. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32802176/>
11. Rudramurthy GR, Swamy MK, Sinniah UR, Ghasemzadeh A. Nanoparticles: Alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules* [Internet]. 2016 [citado el 19 de febrero de 2023];21(7):836. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27355939/>
12. Fan M, Han Y, Gao S, Yan H, Cao L, Li Z, et al. Ultrasmall gold nanoparticles in cancer diagnosis and therapy. *Theranostics* [Internet]. 2020 [citado el 20 de febrero de 2023];10(11):4944–57. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32308760/>
13. Benelli G. Gold nanoparticles - against parasites and insect vectors. *Acta Tropica* [Internet]. 2018 [citado el 3 de marzo de 2023]; 178:73–80. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29092797/>
14. Fan J, Cheng Y, Sun M. Functionalized gold nanoparticles: Synthesis, properties and biomedical applications. *The Chemical Record* [Internet]. 2020 [citado el 4 de marzo de 2023];20(12):1474–504. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32970383/>
15. Nowak-Jary J, Machnicka B. Pharmacokinetics of magnetic iron oxide nanoparticles for medical applications. *Journal of Nanobiotechnology*

- [Internet]. 2022 [citado el 4 de marzo de 2023];20(1):305. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12951-022-01510-w>
16. Caciandone M, Niculescu A-G, Grumezescu V, Bîrcă AC, Ghica IC, Vasile B Ștefan, et al. Magnetite nanoparticles functionalized with therapeutic agents for enhanced ENT antimicrobial properties. *Antibiotics (Basel)* [Internet]. 2022 [citado el 4 de marzo de 2023];11(5):623. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics11050623>
 17. Mandal AK, Katuwal S, Tettey F, Gupta A, Bhattarai S, Jaisi S, et al. Current research on zinc oxide nanoparticles: Synthesis, characterization, and biomedical applications. *Nanomaterials (Basel)* [Internet]. 2022 [citado el 4 de marzo de 2023];12(17):3066. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9459703/>
 18. Ziental D, Czarczynska-Goslinska B, Mlynarczyk DT, Glowacka-Sobotta A, Stanisz B, Goslinski T, et al. Titanium dioxide nanoparticles: Prospects and applications in medicine. *Nanomaterials (Basel)* [Internet]. 2020 [citado el 7 de marzo de 2023];10(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32102185/>
 19. Hornak J. Synthesis, properties, and selected technical applications of magnesium oxide nanoparticles: A review. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2021 [citado el 8 de marzo de 2023];22(23):12752. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms222312752>
 20. Ratemi E. pH-responsive polymers for drug delivery applications. En: Makhoulf ASH, Abu-Thabit NY, editores. *Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications, Volume 1*. Elsevier; 2018. p. 121–41.
 21. Chakravarty M, Vora A. Nanotechnology-based antiviral therapeutics. *Drug Delivery and Translational Research* [Internet]. 2021 [citado el 8 de marzo de 2023];11(3):748–87. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s13346-020-00818-0>
 22. Caciandone M, Niculescu A-G, Grumezescu V, Bîrcă AC, Ghica IC, Vasile B Ștefan, et al. Magnetite nanoparticles functionalized with therapeutic agents for enhanced ENT antimicrobial properties. *Antibiotics (Basel)* [Internet].

- 2022 [citado el 8 de marzo de 2023];11(5):623. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35625267/>
23. Rashid M, Rabbi MA, Ara T, Hossain MM, Islam MS, Elaissari A, et al. Vancomycin conjugated iron oxide nanoparticles for magnetic targeting and efficient capture of Gram-positive and Gram-negative bacteria. RSC Advances [Internet]. 2021 [citado el 13 de marzo de 2023];11(57):36319–28. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35492746/>
24. Abduraimova A, Molkenova A, Duisembekova A, Mulikova T, Kanayeva D, Atabaev TS. Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)-loaded SiO₂-Ag mesoporous nanocomposite as an efficient antibacterial agent. Nanomaterials (Basel) [Internet]. 2021 [citado el 14 de marzo de 2023];11(2):477. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33668526/>
25. Unlu M, Ergene E, Unlu GV, Zeytinoglu HS, Vural N. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). Food Chemical Toxicology [Internet]. 2010 [citado el 14 de marzo de 2023];48(11):3274–80. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20828600/>
26. Lage WC, Sachs D, Nunes Ribeiro TA, Tebaldi ML, de Moura Y dos RS, Domingues SC, et al. Mesoporous iron oxide nanoparticles loaded with ciprofloxacin as a potential biocompatible antibacterial system. Microporous and Mesoporous Materials [Internet]. 2021;321(111127):111127. Disponible en : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1387181121002535>
27. Kashef MT, Saleh NM, Assar NH, Ramadan MA. The antimicrobial activity of ciprofloxacin-loaded niosomes against ciprofloxacin-resistant and biofilm-forming *Staphylococcus aureus*. Infection and Drug Resistance [Internet]. 2020 [citado el 14 de marzo de 2023]; 13:1619–29. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32606813/>
28. Rayegan A, Allafchian A, Abdolhosseini Sarsari I, Kameli P. Synthesis and characterization of basil seed mucilage coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as a drug carrier for the controlled delivery of cephalexin. International Journal of Biological Macromolecules [Internet]. 2018 [citado el 15 de marzo de 2023]; 113:317–28. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29481957/>

29. Ameenuzzafar, Imam SS, Abbas Bukhari SN, Ahmad J, Ali A. Formulation and optimization of levofloxacin loaded chitosan nanoparticle for ocular delivery: In-vitro characterization, ocular tolerance and antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules* [Internet]. 2018 [citado el 17 de marzo de 2023]; 108:650–9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29199125/>
30. Mohammadi A, Hosseini SM, Hashemi M. Emerging chitosan nanoparticles loading-system boosted the antibacterial activity of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil. *Industrial Crops and Products* [Internet]. 2020 ;155(112824):112824. Disponible en : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092666902030741X>
31. Hadidi M, Pouramin S, Adinepour F, Haghani S, Jafari SM. Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. *Carbohydrate Polymers* [Internet]. 2020 [citado el 20 de marzo de 2023];236(116075):116075. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32172888/>
32. Scolari IR, Páez PL, Musri MM, Petit JP, Torres A, Granero GE. Rifampicin loaded in alginate/chitosan nanoparticles as a promising pulmonary carrier against *Staphylococcus aureus*. *Drug Delivery and Translation Research* [Internet]. 2020 [citado el 20 de marzo de 2023];10(5):1403–17. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32363536/>
33. Kaur J, Kour A, Panda JJ, Harjai K, Chhibber S. Exploring endolysin-loaded alginate-chitosan nanoparticles as future remedy for staphylococcal infections. *AAPS PharmSciTech* [Internet]. 2020 [citado el 20 de marzo de 2023];21(6):233. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32794119/>
34. Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal drug resistance: Molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. *Chemical Reviews* [Internet]. 2021 [citado el 20 de marzo de 2023];121(6):3390–411. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32441527/>
35. OMS, 2022. Lista de la OMS de patógenos fúngicos prioritarios. <https://www.who.int/es/news/item/25-10-2022-who-releases-first-ever-list-of-health-threatening-fungi> (consultado el 21 de abril de 2023)

36. Slavin YN, Bach H. Mechanisms of antifungal properties of metal nanoparticles. *Nanomaterials (Basel)* [Internet]. 2022 [citado el 9 de abril de 2023];12(24):4470. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36558323/>
37. Alshahrani SM, Khafagy E-S, Riadi Y, Al Saqr A, Alfadhel MM, Hegazy WAH. Amphotericin B-PEG conjugates of ZnO nanoparticles: Enhancement antifungal activity with minimal toxicity. *Pharmaceutics* [Internet]. 2022 [citado el 9 de abril de 2023];14(8). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36015271/>
38. Gursu BY, Dag İ, Dikmen G. Antifungal and antibiofilm efficacy of cinnamaldehyde-loaded poly(DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles against *Candida albicans*. *International Microbiology* [Internet]. 2022 [citado el 9 de abril de 2023];25(2):245–58. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34528147/>
39. Alhowyan AA, Altamimi MA, Kalam MA, Khan AA, Badran M, Binkhathlan Z, et al. Antifungal efficacy of Itraconazole loaded PLGA-nanoparticles stabilized by vitamin-E TPGS: In vitro and ex vivo studies. *Journal of Microbiological Methods* [Internet]. 2019 [citado el 12 de abril de 2023];161:87–95. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30738109/>
40. Hou Y, Yang M, Li J, Bi X, Li G, Xu J, et al. The enhancing antifungal effect of AD1 aptamer-functionalized amphotericin B-loaded PLGA-PEG nanoparticles with a low-frequency and low-intensity ultrasound exposure on *C. albicans* biofilm through targeted effect. *NanoImpact journal* [Internet]. 2021 [citado el 12 de abril de 2023];21(100275):100275. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35559767/>
41. Al-Maghrabi PM, Khafagy E-S, Ghorab MM, Gad S. Influence of formulation variables on miconazole nitrate-loaded lipid based nanocarrier for topical delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces* [Internet]. 2020 [citado el 12 de abril de 2023];193(111046):111046. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32416518/>
42. Aljaeid BM, Hosny KM. Miconazole-loaded solid lipid nanoparticles: formulation and evaluation of a novel formula with high bioavailability and

- antifungal activity. International Journal of Nanomedicine [Internet]. 2016 [citado el 12 de abril de 2023]; 11:441–7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26869787/>
43. Sadique A, Khalid SH, Asghar S, Irfan M, Khan IU, Rasul A, et al. Miconazole nitrate microemulsion: Preparation, characterization and evaluation for enhancement of antifungal activity [Internet]. Latamjpharm.org. [citado el 12 de abril de 2023]. Disponible en: [\(PDF\) Microemulsion Formulation for Topical Delivery of Miconazole Nitrate \(researchgate.net\)](#).
44. Hussain MA, Ahmed D, Anwar A, Perveen S, Ahmed S, Anis I, et al. Combination therapy of clinically approved antifungal drugs is enhanced by conjugation with silver nanoparticles. International Microbiology [Internet]. 2019 [citado el 15 de abril de 2023];22(2):239–46. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30810990/>
45. Shah MKA, Azad AK, Nawaz A, Ullah S, Latif MS, Rahman H, et al. Formulation development, characterization and antifungal evaluation of chitosan NPs for topical delivery of voriconazole in vitro and ex vivo. Polymers (Basel) [Internet]. 2021 [citado el 15 de abril de 2023];14(1):135. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35012154/>
46. Yoncheva K, Benbassat N, Zaharieva MM, Dimitrova L, Kroumov A, Spassova I, et al. Improvement of the antimicrobial activity of oregano oil by encapsulation in chitosan-alginate nanoparticles. Molecules [Internet]. 2021 [citado el 15 de abril de 2023];26(22):7017. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34834109/>
47. Mejía SP, López D, Cano LE, Naranjo TW, Orozco J. Antifungal encapsulated into ligand-functionalized nanoparticles with high specificity for macrophages. Pharmaceutics [Internet]. 2022 [citado el 15 de abril de 2023];14(9):1932. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36145686/>
48. Baldim I, Paziani MH, Grizante Barião PH, Kress MR von Z, Oliveira WP. Nanostructured lipid carriers loaded with Lippia sidoides essential oil as a strategy to combat the multidrug-resistant *Candida auris*. Pharmaceutics [Internet]. 2022 [citado el 15 de abril de 2023];14(1):180. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35057078/>

49. Chakravarty M, Vora A. Nanotechnology-based antiviral therapeutics. Drug Delivery and Translational Research [Internet]. 2021 [citado el 17 de abril de 2023];11(3):748–87. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32748035/>
50. Blecher K, Nasir A, Friedman A. The growing role of nanotechnology in combating infectious disease. Virulence [Internet]. 2011;2(5):395–401. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4161/viru.2.5.17035>
51. Delshadi R, Bahrami A, McClements DJ, Moore MD, Williams L. Development of nanoparticle-delivery systems for antiviral agents: A review. Journal of Controlled Release [Internet]. 2021 [citado el 17 de abril de 2023]; 331:30–44. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33450319/>
52. Belgamwar A, Khan S, Yeole P. Intranasal chitosan-g-HP β CD nanoparticles of efavirenz for the CNS targeting. Artificial Cells Nanomedicine Biotechnology [Internet]. 2018 [citado el 17 de abril de 2023];46(2):374–86. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28423949/>
53. Javan F, Vatanara A, Shakouri M. Encapsulation of ritonavir in solid lipid nanoparticles: in-vitro anti-HIV-1 activity using lentiviral particles. Journal of Pharmacy Pharmacology [Internet]. 2017 [citado el 19 de abril de 2023];69(8):1002–9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28471000/>
54. Joshy KS, Susan MA, Snigdha S, Nandakumar K, Laly AP, Sabu T. Encapsulation of zidovudine in PF-68 coated alginate conjugate nanoparticles for anti-HIV drug delivery. International Journal of Biological Macromolecules [Internet]. 2018 [citado el 19 de abril de 2023];107(Pt A):929–37. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28939525/>
55. Joshy KS, George A, Snigdha S, Joseph B, Kalarikkal N, Pothen LA, et al. Novel core-shell dextran hybrid nanosystem for anti-viral drug delivery. Materials Science and Engineering C Mater Biol Appl [Internet]. 2018 [citado el 19 de abril de 2023]; 93:864–72. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30274122/>
56. Belgamwar AV, Khan SA. Intranasal dolutegravir sodium loaded nanoparticles of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin for brain delivery in Neuro-AIDS. Journal

- Drug Delivery Science Technology [Internet]. 2019;52:1008–20. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224718314187>
57. Pokhrel LR, Williams F, Cook PP, O'Rourke D, Murray G, Akula SM. Preclinical efficacy and safety of novel SNAT against SARS-CoV-2 using a hamster model. *Drug Delivery Translational Research* [Internet]. 2022 [citado el 20 de abril de 2023];12(12):3007–16. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35441321/>
58. Tahamtan A, Ghaemi A, Gorji A, Kalhor HR, Sajadian A, Tabarraei A, et al. Antitumor effect of therapeutic HPV DNA vaccines with chitosan-based nanodelivery systems. *Journal of Biomedical Science* [Internet]. 2014 [citado el 20 de abril de 2023];21(1):69. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25077570/>
59. Donalisio M, Argenziano M, Rittà M, Bastiancich C, Civra A, Lembo D, et al. Acyclovir-loaded sulfobutyl ether- β -cyclodextrin decorated chitosan nanodroplets for the local treatment of HSV-2 infections. *International Journal* [Internet]. 2020 [citado el 20 de abril de 2023];587(119676):119676. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32738458/>
60. Parthiban R., Sathishkumar S., Ramakrishnan P. Design and evaluation of acyclovir-loaded solid lipid nanoparticles for sustained release. *Drug Invent. Today*. 2020; 14:108–111. [Google Scholar] Disponible en: [.\(researchgate.net\)](https://www.researchgate.net)
61. Nafari A, Cheraghipour K, Sepahvand M, Shahrokhi G, Gabal E, Mahmoudvand H. Nanoparticles: New agents toward treatment of leishmaniasis. *Parasite Epidemiol Control* [Internet]. 2020 [citado el 21 de abril de 2023];10(e00156):e00156. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32566773/>
62. Saleem K, Khursheed Z, Hano C, Anjum I, Anjum S. Applications of nanomaterials in leishmaniasis: A focus on recent advances and challenges. *Nanomaterials (Basel)* [Internet]. 2019 [citado el 21 de abril de 2023];9(12):1749. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31818029/>
63. Delavari M, Dalimi A, Ghaffarifar F, Sadraei J. In vitro study on cytotoxic effects of ZnO nanoparticles on promastigote and amastigote forms of

- Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER). Iranian Journal of Parasitology [Internet]. 2014 [citado el 23 de abril de 2023];9(1):6–13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25642254/>
64. Oyama J, Lera-Nonose DSSL, Ramos-Milaré ÁCFH, Padilha Ferreira FB, de Freitas CF, Caetano W, et al. Potential of Pluronic® P-123 and F-127 as nanocarriers of anti-*Leishmania* chemotherapy. Acta Tropica [Internet]. 2019 [citado el 21 de abril de 2023]; 192:11–21. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30659806/>
65. Rayegan A, Allafchian A, Kameli P. Synthesis and characterization of basil seed mucilage coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles as a drug carrier for the controlled delivery of cephalexin. International Journal of Biological Macromolecules [Internet]. 2018 [citado el 21 de abril de 2023]; 113:317–28. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29481957/>
66. Abu Ammar A, Nasereddin A, Ereqat S, Dan-Goor M, Jaffe CL, Zussman E, et al. Amphotericin B-loaded nanoparticles for local treatment of cutaneous leishmaniasis. Drug Delivery and Translational Research [Internet]. 2019 [citado el 21 de abril de 2023];9(1):76–84. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30484256/>
67. Anwar A, Ting ELS, Anwar A, Ain NU, Faizi S, Shah MR, et al. Antiamoebic activity of plant-based natural products and their conjugated silver nanoparticles against *Acanthamoeba castellanii* (ATCC 50492). AMB Express [Internet]. 2020 [citado el 21 de abril de 2023];10(1):24. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32016777/>
68. Kanwal, Mungroo MR, Anwar A, Ali F, Khan S, Abdullah MA, et al. Synthetic nanoparticle-conjugated bisindoles and hydraziny arylthiazole as novel antiamoebic agents against brain-eating amoebae. Experimental Parasitology [Internet]. 2020 [citado el 22 de abril de 2023];218(107979):107979. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32866583/>
69. Ifijen IH, Atoe B, Ekun RO, Ighodaro A. Treatments of *Mycobacterium tuberculosis* and *Toxoplasma gondii* with Selenium Nanoparticles. Bionanoscience [Internet]. 2023[citado el 23 de abril de 2023];13(1):249–77. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36687337/>

7. ANEXOS

ANEXO I:

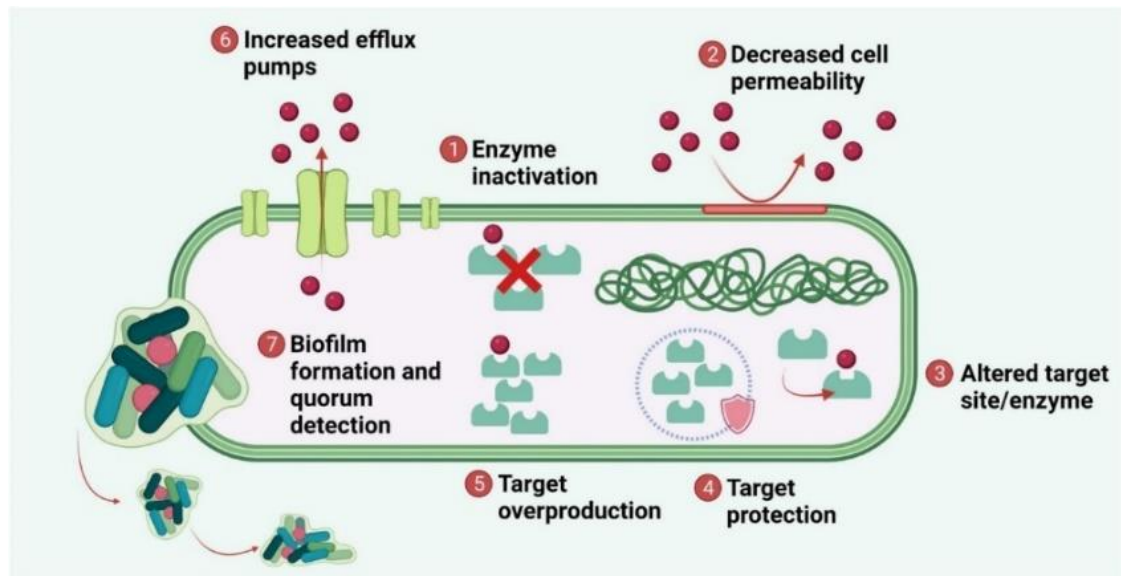


Figura 1. Mecanismos de resistencia desarrollados por las bacterias. 1) Inactivación enzimática 2) disminución de la permeabilidad celular 3) alteración del lugar diana 4) y 5) protección o sobreproducción del objetivo 6) aumento del flujo de salida a través de sobreexpresión de bombas de eflujo 7) formación de biopelículas o quórum (21).

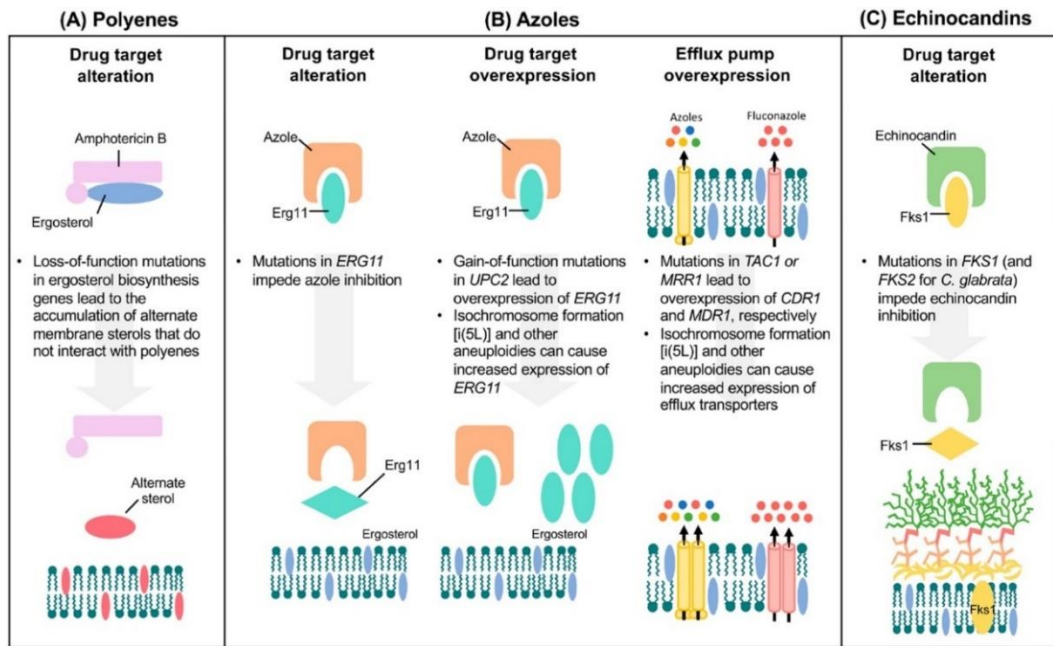


Figura 2. Algunos de los mecanismos moleculares de resistencia a fármacos antifúngicos. A) Mutaciones en los genes de biosíntesis de ergosterol (componente esencial de la membrana celular fúngica) que conducen a la producción de ergosteroles alternativos que no interactúan eficazmente con polienos y, por tanto, no se consigue dañar la membrana. B) Sustitución y sobreexpresión de la diana farmacológica (Erg11), lo que conduce a una menor afinidad de unión al fármaco y a un aumento del número de copias del objetivo del fármaco respectivamente, todo ello impide la inhibición por parte de los azoles. Además, también se pueden sobreexpresar las bombas de eflujo expulsando al fármaco del interior del hongo. C) Mutaciones en los genes FKS que codifican la subunidad catalítica de la diana del fármaco, y como consecuencia no interactúan de manera adecuada con las equinocandinas (34).

ANEXO II:

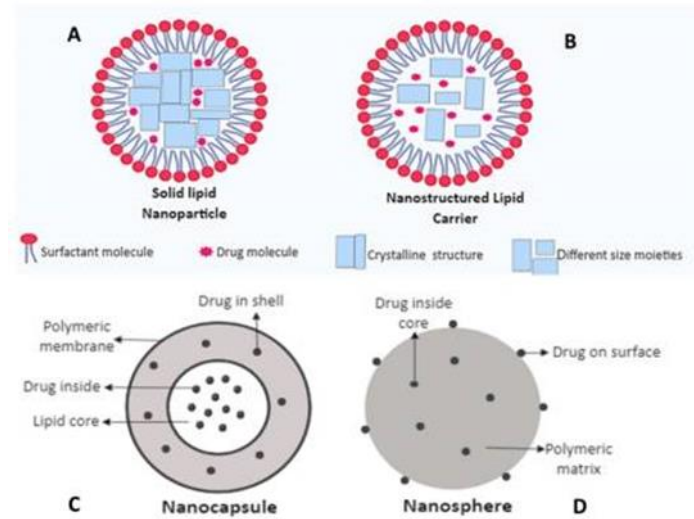


Figura 3. Estructuras de diferentes sistemas nanoportadores utilizados para la administración de fármacos (9).

ANEXO III:

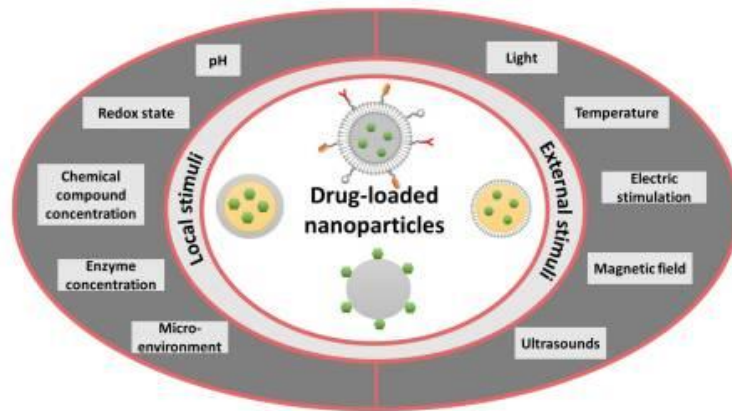


Figura 4. Nanopartículas empleadas como sistemas de administración de fármacos y expuestas a estímulos tanto locales como externos (5).