



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO:
UTILIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE
PLATA COMO AGENTE ANTIBACTERIANO EN
INFECCIONES ÓSEAS**

Autor: Adela González Jiménez

Tutor: Ana García Fontecha

Convocatoria: Junio 2018

ÍNDICE

1. Resumen.....	3
2. Introducción y Antecedentes.....	3
2.1. El aparato locomotor y el hueso.....	3
2.2. Los biomateriales.....	5
2.3. Infección bacteriana en implantes óseos	6
2.4. La plata y las nanopartículas de plata (AgNPs)	8
3. Objetivos.....	10
4. Metodología.....	10
5. Resultados y Discusión.....	11
5.1. Síntesis de nanopartículas de plata metálica (AgNPs).....	11
5.2. Propiedades antibacterianas de las AgNPs.....	12
5.3. Toxicidad de las AgNPs en el organismo humano.....	14
5.4. Resistencia de cepas bacterianas a la acción de las AgNPs)....	16
6. Conclusiones.....	17
7. Bibliografía.....	17

1. Resumen

El aparato locomotor está formado por el sistema óseo y el sistema muscular y permite realizar funciones vitales (movimiento) a la vez que sirve como sostén y protección de los órganos del cuerpo.

El envejecimiento progresivo de la población y el aumento de las afecciones articulares degenerativas generan un incremento en las patologías óseas, comprometiendo al aparato locomotor. Esto da lugar a un aumento de fracturas y defectos óseos, difíciles de tratar en algunos casos.

Los avances en la ciencia de materiales y la biomedicina son determinantes en este ámbito, ya que buscan diseñar nuevos biomateriales para posteriormente implantarlos con el fin de reemplazar, reparar y regenerar el tejido óseo dañado. Sin embargo, en algunas ocasiones, su aplicación clínica puede presentar varios problemas. Uno de estos problemas es que tras la intervención quirúrgica puede tener lugar una infección bacteriana que generaría la formación de un *biofilm*. La plata es un agente citotóxico que podría utilizarse como medida preventiva para evitar la formación de un *biofilm* bacteriano en implantes, mediante su incorporación al propio biomaterial.

El propósito de este trabajo es documentar el uso de las nanopartículas de plata metálica (AgNPs) como agente antibacteriano. Se indicarán sus diferentes métodos de síntesis, se estudiará su mecanismo de acción frente a las bacterias, su posible toxicidad en el organismo humano y resistencias por parte de algunas cepas bacterianas.

Palabras clave: Biomateriales, regeneración de hueso, *biofilm*, nanopartículas de plata, propiedades antibacterianas.

2. Introducción y Antecedentes

2.1. El aparato locomotor y el hueso

El aparato locomotor o sistema músculo esquelético está formado por el sistema óseo y el sistema muscular. Los huesos, cartílagos y ligamentos articulares forman el sistema óseo mientras que el sistema muscular está formado por músculos y tendones que se unen a los huesos generando movimiento al contraerse. Además el aparato locomotor sirve de sostén y protección de los órganos del cuerpo.

El hueso, principal componente del esqueleto, tiene gran importancia por su papel mecánico (sostén/movimiento), metabólico y sintético (por ejemplo, la hematopoyesis, que es la formación de los glóbulos rojos y tiene lugar principalmente en la médula roja del hueso).

El hueso está compuesto por tejidos duros y blandos. Dentro de los tejidos blandos destaca el tejido cartilaginoso, que recubre al hueso en las articulaciones y se encarga de proteger gran parte de los órganos del cuerpo. El tejido duro más importante es el tejido óseo (tipo de tejido conectivo, constituido por osteocitos y componentes extracelulares calcificados), y éste tejido óseo se diferencia a su vez en dos tipos según su densidad¹:

1-. **Hueso compacto (cortical)**: Se trata de una masa sólida de matriz ósea dispuesta en láminas con canalículos que permiten la comunicación y nutrición de los osteocitos.

2-. **Hueso esponjoso (reticulado, trabecular)**: Las láminas intersticiales se encuentran de forma irregular formando una estructura esponjosa en cuyos huecos se encuentra la médula ósea roja. Dentro también se sitúan los osteocitos y los vasos sanguíneos.

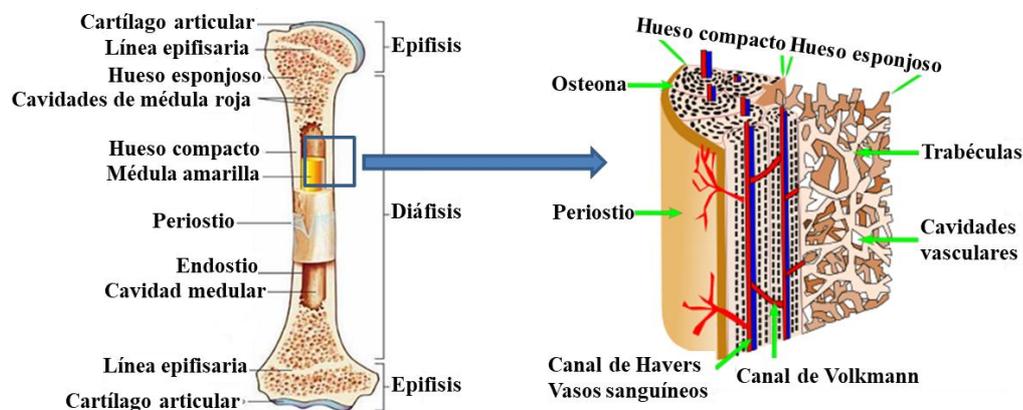


Figura 1. Estructura y partes del hueso. Imagen adaptada de referencia²

La composición química del hueso es de un 25% de agua, 30% de materia orgánica (mayoritariamente colágeno) y 45% de materia inorgánica (fosfatos y carbonatos de calcio, mayoritariamente en forma de hidroxapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)). La composición inorgánica del hueso no permanece fija, sino que continuamente es modificada junto al componente orgánico en el proceso de remodelación ósea. Este proceso se lleva a cabo en un 25% de las superficies del hueso trabecular y 5% del cortical. La diferencia entre la cantidad de hueso destruido y formado se conoce como balance óseo, siendo su valor igual a cero hasta los 30-40 años². Es en este momento cuando el balance óseo empieza a ser negativo, y comienza el “envejecimiento óseo”, que se caracteriza por la pérdida de masa y calidad ósea. Esto da lugar a patologías como la osteoporosis (disminución de la masa ósea)³.

El proceso de remodelación ósea comienza con la osificación intramembranosa, en la cual las células mesenquimatosas pluripotenciales se diferencian a osteoblastos. Sin embargo, también se pueden especializar en condroblastos mediante la osificación endocondral, que

tiene lugar mayoritariamente entre la epífisis y metáfisis de los huesos largos, permitiendo el crecimiento longitudinal del hueso al degenerarse y ser sustituido por los osteoblastos⁴.

Cuando se produce una fractura ósea se desencadena una respuesta inflamatoria, es decir, se produce la activación del sistema del complemento y el aumento de quimioquinas. Los monocitos y los macrófagos se activan y producen la liberación del factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF) que favorece la expresión del plasminógeno y la procólagenasa. Tras 3 ó 5 días se produce el tejido de granulación, en el cual el colágeno sirve de anclaje para las células que se diferenciarán en osteoblastos y condroblastos. Posteriormente, mediante la maduración de este tejido se forma el “callo óseo”. Tras esta fase, en un periodo de 3 a 6 meses tiene lugar la reparación ósea (activación-reabsorción-formación): los osteoclastos se activan produciendo las lagunas de Howship que se completan con osteoblastos y forman la unidad básica multicelular. Los osteoblastos a su vez producen sustancia osteoide para favorecer la fase de mineralización. Esta tiene lugar en dos etapas: primero se forman cristales de hidroxiapatita por acumulación de calcio y fósforo, y posteriormente se propaga entre las fibrillas de colágeno⁵.

El envejecimiento progresivo de la sociedad actual y el aumento de las afecciones articulares degenerativas están generando un incremento en el número de patologías óseas comprometiendo al aparato locomotor. Aparece así un aumento en las fracturas y defectos óseos, difíciles de tratar en algunos casos. Los avances en la ciencia de materiales y biomedicina han sido determinantes en el ámbito de los defectos y patologías óseas, ya que buscan diseñar nuevos materiales (biomateriales) con el fin de reemplazar, reparar y regenerar el tejido óseo dañado.

2.2. Los biomateriales

Un biomaterial se define como una “sustancia no farmacológica apta para la inclusión en sistemas que aumentan o sustituyen la función de los tejidos o órganos corporales”⁶.

Los biomateriales se pueden clasificar en 3 familias: metales (acero inoxidable, titanio, aleaciones diversas, etc.), polímeros (silicona, politetrafluoretileno, poliolefinas, etc.) y cerámicas (zirconia, vidrios mesoporosos, etc.). Estas últimas, las cerámicas, se subdividen a su vez en en 3 generaciones dependiendo de la función que realicen (reemplazar, reparar o regenerar)⁷.

La primera generación presenta poca reactividad química, son las llamadas cerámicas inertes. Son biocompatibles pero tienden a encapsularse en forma de quistes fibrosos.

Algunos ejemplos son la alúmina (Al_2O_3) o la zirconia (ZrO_2) que en la actualidad se emplean para implantes permanentes que requieren una elevada resistencia mecánica.

La segunda generación interacciona con los tejidos biológicos dando lugar a un comportamiento bioactivo y/o bioreabsorbible. Un material bioactivo es aquel que forma un enlace estable con el tejido en el que ha sido implantado, pretendiendo en este caso una fijación tanto morfológica como biológica con el tejido óseo. Las biocerámicas más representativas son los fosfatos de calcio (ej. β -TCP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), OCP ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), y vidrios bioactivos (ej. Bioglass 45S5®) y pueden ser conformados en forma de polvo, piezas densas o cementos. En el caso de los vidrios bioactivos la unión con el tejido óseo se produce por la formación de una capa de carbonato de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{CO}_3, \text{PO}_4)_6(\text{CO}_3, \text{OH})_2$). En clínica se utilizan como relleno de defectos óseos (actúan entre el implante y el hueso impidiendo fricciones no deseables), reconstrucción ósea en cirugía máxilo-facial, sustitución ósea y como recubrimientos de implantes dentales y prótesis metálicas.

Las cerámicas de primera y segunda generación presentan una gran densidad para que su resistencia mecánica sea similar a la del hueso y su papel es el de reemplazar (primera generación) o reparar (segunda generación) el tejido óseo dañado.

La tercera generación sustituye y regenera el tejido óseo dañado. Dentro de este grupo destacan los vidrios mesoporosos bioactivos que presentan una mesoporosidad ordenada (3-9 nm de diámetro). Al presentar una gran superficie específica, pueden actuar como soportes de células y sustancias biológicamente activas (factores de crecimiento, proteínas...) que se liberan de forma sostenida y genera una estimulación celular. Estos vidrios mesoporosos bioactivos son redes de sílice y fósforo modificadas (ej. SiO_2 -CaO- P_2O_5 , SiO_2 -CaO- Na_2O - P_2O_5 , etc.). Al ser solubles, se favorece su degradación facilitando la regeneración ósea y la formación de nuevo hueso.

2.3. Infección bacteriana en implantes óseos

En algunas ocasiones, la aplicación clínica del uso de biomateriales puede presentar varios problemas. Uno de estos problemas es que tras la intervención quirúrgica puede tener lugar una infección bacteriana, lo cual puede provocar una posible retirada del implante.

Esta infección da lugar en algunos casos a osteomielitis (infección del hueso normalmente producida por bacterias del género *Staphylococcus* y que da lugar a un proceso inflamatorio que conduce a la destrucción del hueso). Sin embargo, en otros muchos casos se forma un revestimiento de bacterias sobre el implante. Es decir, se forma un *biofilm*, que puede inhibir

el efecto de antibióticos en esa zona, requiriendo una segunda intervención quirúrgica que aumenta el riesgo y el coste del tratamiento y el sufrimiento del paciente. En el año 2006 afectó al 2% de prótesis articulares y 5% de dispositivos fijación de fractura implantados, sin embargo entre los años 2011 y 2014 se estima que un 44,2% de las intervenciones para prótesis de cadera y rodilla presentaron posteriores infecciones por *Staphylococcus aureus*⁸.

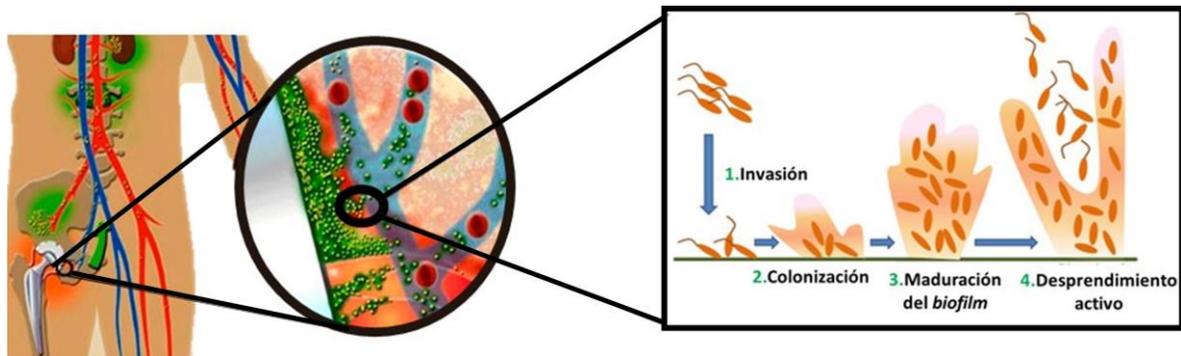


Figura 2. Etapas en la formación del *biofilm*. Imagen adaptada de referencia⁹

La formación del *biofilm* (Figura 2) ocurre en diferentes etapas^{9,10}:

- 1-. **Invasión:** se produce el contacto de las bacterias planctónicas sobre la superficie a colonizar, a menos de 1 nm, produciendo una unión reversible por interacciones físicas (por ejemplo: electrostáticas).
- 2-. **Colonización:** las bacterias se unen de forma irreversible a la superficie mediante ligandos específicos de receptores de sus pilis, fimbrias y flagelos y da lugar a la formación de microcolonias. Esto da lugar a cambios en su fenotipo que le permiten adaptarse al medio.
- 3-. **Maduración del *biofilm*:** comienza la liberación de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que forma el glicocálix como soporte para el *biofilm*, a la vez que las bacterias se dividen de forma activa.
- 4-. **Desprendimiento activo:** las bacterias planctónicas de las capas más externas se desplazan para colonizar nuevas superficies.

Debido a la repercusión que las patologías óseas tienen en la sociedad actual, cada vez son más el número de intervenciones quirúrgicas en las que se incluyen implantes óseos en el organismo. Es por ello que hoy en día se está investigando cómo evitar una posible infección bacteriana del biomaterial-implante, para ello una posible solución es la inclusión en su matriz sustancias antibióticas o con un papel bactericida.

La plata es un agente citotóxico que podría utilizarse como medida preventiva para evitar la formación de un *biofilm* bacteriano en implantes, mediante su incorporación al propio biomaterial.

2.4. La plata y las nanopartículas de plata (AgNPs)

La plata (Ag) es un metal de transición con número atómico 47 que se encuentra en el grupo 11 de la tabla periódica. Dentro de sus características destaca su conductividad (63×10^6 S/m), gran estabilidad química y buena actividad catalítica que presenta.

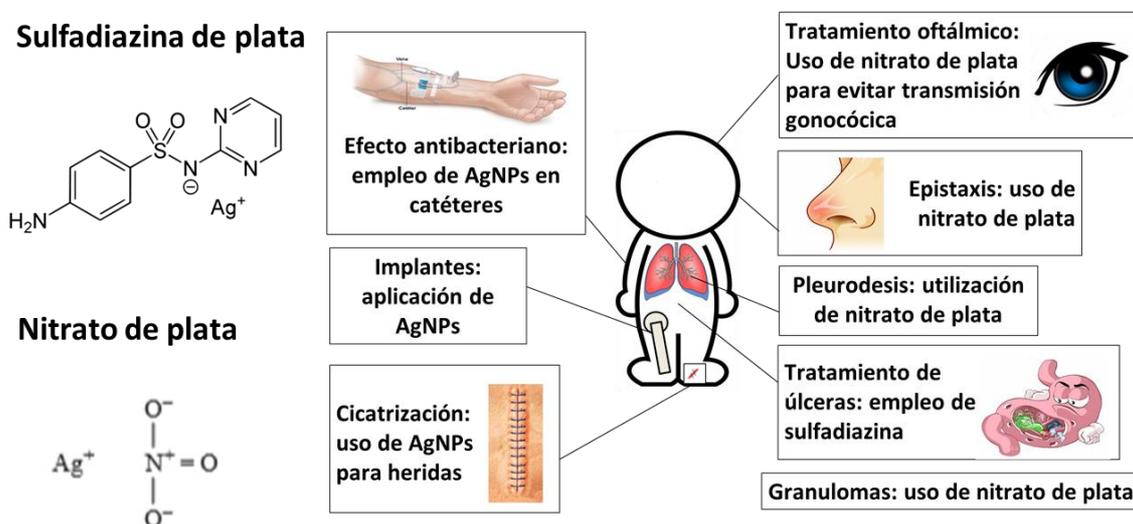


Figura 3: Aplicaciones actuales de los diferentes compuestos de plata en el cuerpo humano.

Imagen adaptada de referencia¹¹

En el campo de la ciencia de materiales y ciencias de la salud, la plata presenta una actividad antimicrobiana que la ha permitido incorporarse a los productos sanitarios (Figura 3) en vendajes, catéteres, pastas, cementos e implantes dentales.

Su efecto antibacteriano se conoce desde la antigüedad. Los romanos ya utilizaban vasos de plata para mantener el agua libre de microorganismos. Hipócrates (siglo V-IV a.c.) la utilizaba en bebidas para tratar úlceras y Avicena (siglo X-XI) para purificar la sangre¹².

Actualmente su forma de uso más común es la sal nitrato de plata (AgNO_3) y se utiliza impregnándose de numerosos vendajes como antiséptico en heridas¹³. Otro derivado de plata muy utilizado desde 1960 es la sulfadiazina argéntica que sirve para el tratamiento de quemaduras¹².

Actualmente, los avances científicos han permitido desarrollar nuevos campos en el ámbito de la medicina, como es el caso de la nanomedicina. Esto ha permitido un progreso en el uso de la plata en la medicina, ya que está comenzando a estudiar su uso como nanopartículas embebidas en biomateriales y formar así nanomateriales.

Se define nanomaterial como “aquel material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50% o más de las

partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 y 10 nm”¹⁴. Presenta la ventaja de tener una mayor relación superficie volumen que le permite un mayor contacto con el entorno.

Anteriormente en este trabajo se hablaba del problema que supone la infección de una prótesis o implante óseo. Una posible solución es el empleo de nanomateriales, especialmente los que incluyen AgNPs. Recientes estudios¹⁵ relacionan el uso de AgNPs con un aumento de la fosfatasa alcalina (enzima hidrolítica cuyo déficit se da como respuesta a un deterioro óseo) y del gen Bmp6 (iniciador de la diferenciación de osteoblastos). Así se presenta con gran importancia su inclusión en cementos óseos como futura y nueva aplicación.

En el caso de las nanopartículas de plata (AgNPs) se presentan en forma de clústeres de átomos de plata con un diámetro de 1 a 100 nm¹¹. El uso de AgNPs presenta la ventaja de que su tamaño le permite entrar en el interior de las bacterias. Sin embargo, también puede penetrar en el interior de células por lo que hay que tener en cuenta su toxicidad, que se comentará posteriormente.

Este trabajo busca dar una visión globalizada del actual uso de la plata en forma de nanopartículas para evitar la formación del *biofilm* bacteriano en implantes. Se hará una revisión de su síntesis y mecanismo de acción así como su posible toxicidad en el organismo humano y resistencias que puedan presentar las bacterias formadoras del *biofilm*.

3. Objetivos

Debido a la evolución de la nanomedicina en el campo de los implantes óseos y el aumento de resistencias a antibióticos, este trabajo tiene los siguientes objetivos:

- Describir los diferentes métodos de obtención de nanopartículas de plata (AgNPs).
- Describir el mecanismo de acción de las AgNPs como agentes antibacterianos.
- Valorar la aplicación de las AgNPs en implantes óseos para la prevención de infecciones.
- Analizar la posible toxicidad de las AgNPs en el ser humano y resistencias de la bacterias a la acción de las AgNPs.

4. Metodología

Este trabajo se ha realizado mediante una revisión bibliográfica de libros y artículos científicos recogidos en bases de datos como PubMed, Google Scholar, Scopus y WOS (Web Of Science). Las palabras clave utilizadas en la búsqueda fueron sido: *biomaterials*, *bone infections*, *silver nanoparticles* y *antibacterial properties*.

Se busca mostrar una recopilación del uso actual de nanopartículas de plata en biomateriales utilizados en el sistema óseo para su posible aplicación como agente antibacteriano en la prevención de infecciones óseas.

5. Resultados y Discusión

5.1. Síntesis de nanopartículas de plata metálica (AgNPs)

Existen numerosos métodos de síntesis de AgNPs, todos ellos basados en la reducción de Ag(I) a Ag(0). Se puede controlar el tamaño y forma de las nanopartículas a través de la modificación de la velocidad de reacción. Para la síntesis de las AgNPs se requiere la presencia de 3 componentes¹⁶:

- **Precursor metálico** que contenga Ag (por ejemplo AgNO₃).
- **Agente reductor** que genere la reducción de la plata de Ag⁺ a Ag⁰.
- **Agente estabilizante** que favorezca o facilite la reacción. Por ejemplo, el ácido cítrico, aunque en los últimos años algunos estudios¹⁶ han demostrado que no es imprescindible, puesto que el alto potencial de reducción de la Ag hace que la oxidación de las AgNPs no sea favorable termodinámicamente.

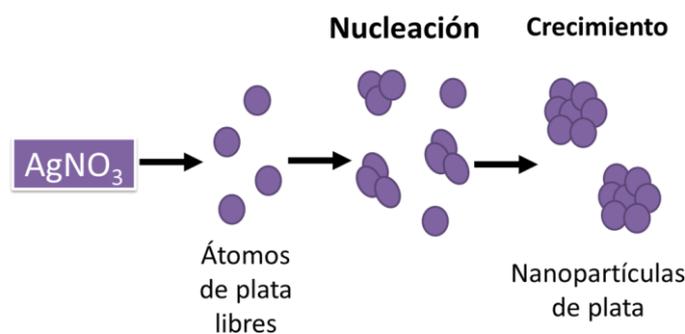
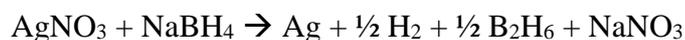


Figura 4: Síntesis de AgNPs, Imagen adaptada de referencia¹¹

El proceso de síntesis tiene lugar en **dos fases** (Figura 4): la primera consiste en la **nucleación** de los átomos de plata libres y requiere una alta energía de activación; la segunda se basa en el **crecimiento de los núcleos** formados en la etapa anterior, por lo que la energía de activación necesaria es baja.

Entre los métodos para obtener Ag NPs destacan:

- **Método de Lee-Meisel** (basado en el método de Turkevich que se utiliza para obtener partículas de oro¹⁷). El AgNO₃ actúa como precursor metálico y el citrato de sodio como el agente reductor dando lugar partículas polidispersas (de amplia variedad de tamaño de partícula^{16,18}).
- **Método de Creighton** (método más empleado). Utiliza como reductor borohidruro de sodio, obteniéndose partículas monodispersas de aproximadamente 10 nm^{18,19}:



- Utilización de **mono y polisacáridos**, que actúan como agentes estabilizantes en medio acuoso. El más común utiliza β -D-glucosa para generar AgNPs de 5 nm de diámetro^{16,20}.
- **Método de Tollens**: Se emplean aldehídos y azúcares que reducen al catión complejo $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ diamminaplata (I)^{18,21}.
- Uso de **micelas/micelas inversas**: los surfactantes actúan como “nanorreactores” para favorecer la reducción de la plata. Los más usados son el bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) y el bis(2-etilhexil)sulfosuccinato de sodio (AOT)^{16,22}.
- Uso de **dendrimeros** a partir de dos mecanismos^{16,23}:
 - Interacción con los grupos funcionales de los dendrimeros: Estabilización estérica.
 - Encapsulación: estabilización en el interior de los dendrimeros.
- **Irradiación de luz**: para soluciones acuosas con sales de plata y surfactantes^{18,24}.
- **Compuesto organometálicos**: Requiere condiciones suaves de reacción y esta libre de contaminación química. Se emplea el pentafluorofenilo de plata (I), $[\text{Ag}(\text{C}_6\text{F}_5)]$, como precursor y hexadecilamina ($\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{15}-\text{NH}_2$) para evitar la agregación.
- **Métodos biológicos**: empleo de extractos de plantas, algas, hongos o bacterias como agentes reductores^{25,26}.
- Uso de **polioxometalatos (POMs)**: Los POMs son óxidos solubles en agua que no modifican su estructura en las reacciones redox. Actúan como catalizadores de la reacción de síntesis de AgNPs y su bajo coste supone una gran ventaja para usar este tipo de síntesis²⁷. Se obtienen nanopartículas esféricas de 38 nm de diámetro²⁸.

5.2. Propiedades antibacterianas de la plata

El mecanismo de acción de la plata como agente antibacteriano no está totalmente elucidado aunque diversas fuentes bibliográficas apuntan a que la plata tiene 3 puntos de acción fundamentales^{11,13,29,30} (Figura 5):

- Por un lado, es capaz de producir la desnaturalización de las proteínas de la membrana plasmática, permitiendo la entrada de plata. También se cree que puede producir la desnaturalización de los ribosomas una vez se encuentra en el citoplasma.
- Su afinidad por nitrógeno y fósforo le permite unirse al ADN citoplasmático bacteriano, produciendo daños a este nivel.
- Presenta afinidad por grupos tioles (-SH) de los aminoácidos que forman las enzimas implicadas en la cadena de transporte electrónico de la respiración, aumentando el estrés oxidativo y produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS).

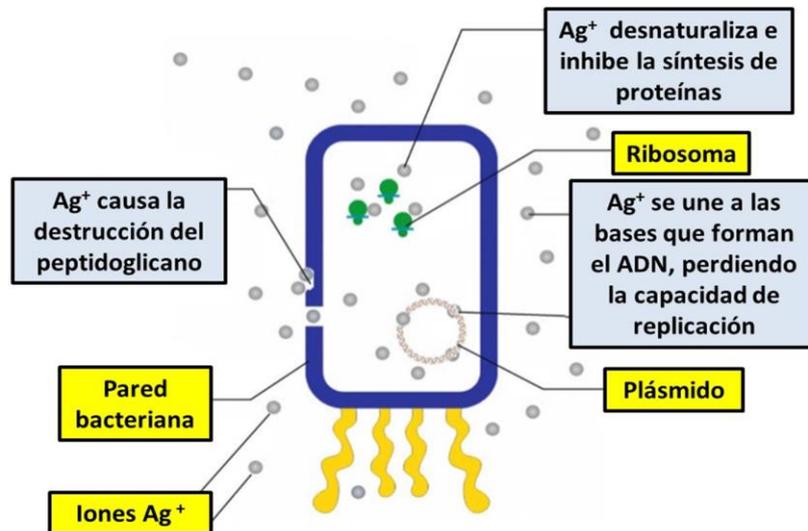
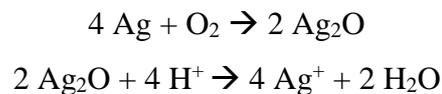


Figura 5: Mecanismo de acción de los iones Ag^+ . Imagen adaptada de referencia¹¹

La actividad antibacteriana de la plata metálica, según diferentes fuentes bibliográficas³¹⁻³³, está directamente relacionada con la liberación de iones Ag^+ . Para ello tiene lugar una oxidación (de plata (0) a plata (I)) en disolución acuosa y en condiciones ácidas^{32,33}:



Si nos ceñimos al campo de las infecciones óseas, si se lograra modular esta liberación de cationes Ag^+ del soporte implantado que contiene AgNPs, en el defecto óseo se podría a su vez regular la actividad antibacteriana tras la cirugía evitando la infección en la zona y la retirada del implante³⁴. La liberación de estos iones desde las nanopartículas se produce siguiendo una cinética exponencial (Figura 6), siendo muy rápida al principio y disminuyendo la velocidad con el paso del tiempo³⁵.

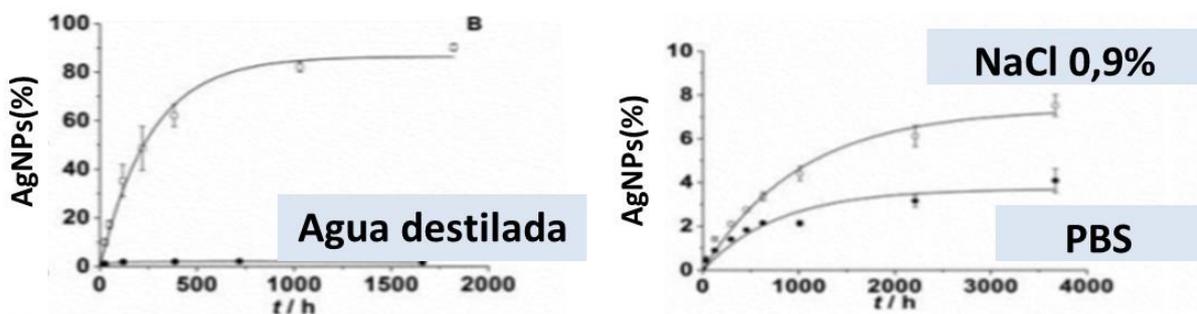


Figura 6: Liberación en AgNPs de iones Ag^+ , tanto en agua destilada (izquierda) como disolución salina (NaCl 0,9% y PBS, derecha). Imagen adaptada de referencia³⁵

La presencia de oxígeno es un factor necesario para que la plata se libere y ejerza efecto antibacteriano. Existen estudios en los que se ha estudiado la inhibición del crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* (Figura 7), en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis, siendo sólo efectiva en las primeras³⁵:

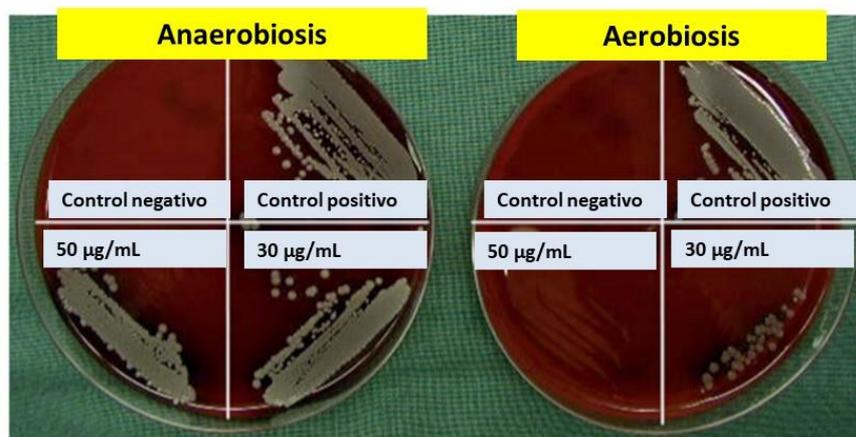


Figura 7: Efecto antibacteriano de AgNPs para *S. aureus* en condiciones de anaerobiosis (izquierda) y aerobiosis (derecha). Imagen adaptada de referencia³⁵

Por otro lado, otras de las aplicaciones que se conocen para las AgNPs es que tienen actividad antifúngica y antivírica. Destaca su actividad sobre el virus del VIH, ya que es capaz de unirse a la proteína gp120³⁶, impidiendo que el virus se una a los receptores CD4 y por tanto no pueda producir daños.

5.3. Toxicidad de las AgNPs en el organismo humano

Fuentes bibliográficas citan que la concentración tóxica de la plata metálica es de 1-10 mg/L^{30,37}. Sin embargo, también indican que si se administra en forma de nanopartículas puede alcanzar concentraciones de entre 10 y 100 mg/L sin presentar toxicidad.

Algunos estudios han demostrado que la cantidad tóxica de plata administrada en una toma, y en concreto para humanos, es de 500 mg/kg de peso³⁸ aunque en otros estudios^{37,39,40} se ha demostrado que a partir de 10 mg/L presenta efectos nocivos en el desarrollo embrionario y que formas de administración oral de plata pueden disminuir la flora intestinal comensal.

La ventaja del uso de AgNPs frente a plata es que no sólo se pueden alcanzar concentraciones mayores por dosis, sino que la toxicidad intrínseca de las nanopartículas va a depender de su tamaño, forma, solubilidad, superficie específica, carga superficial y aglomeración que presenten⁴¹. Serán menos tóxicas las partículas de mayor tamaño (penetran

menos en el organismo), que estén más compactas (disminuye el área superficial para interactuar), tengan forma esférica (ya que al tener menos caras que las nanopartículas poliédricas son menos reactivas) e insolubles (interaccionan menos).

Si hay una sobreexposición de plata se puede dar lugar a la precipitación de proteínas en forma de depósitos azulados, lo que se conoce como argiria^{42,43}. El principal signo de argiria es el color azulado de la piel debido a que la plata queda retenida especialmente en las mucosas y la piel (Figura 8). Cuando reciben luz se cataliza en la zona más superficial el paso a plata elemental, que es de color azul. Por ello, las personas que tienen esta enfermedad se caracterizan por presentar la piel de un tono azul/grisáceo. Antiguamente, las familias acomodadas usaban utensilios de plata para comer y con frecuencia desarrollaban esta enfermedad, por lo que se les decía que presentaban "sangre azul"¹². Su diagnóstico se realiza principalmente mediante una biopsia (se observarán gránulos y depósitos de plata) ya que se puede confundir con una posible cianosis. Produce también metahemoglobinemia, hipocloremia e hiponatremia¹³. La prevalencia de la argiria antes de 1800 no ha sido documentada, y su aparición en ese siglo se relacionó con una disminución de mortalidad debida a enfermedades infecciosas¹².

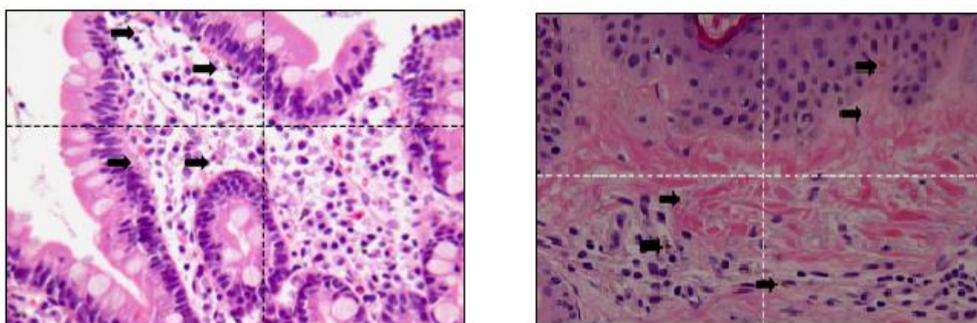


Figura 8: Acumulación de plata en dermis (derecha) y epitelio duodenal (izquierda). Imagen adaptada de referencia⁴²

El tratamiento a seguir ante la intoxicación por plata es el uso de selenio o azufre, ya que se unen a la plata formando complejos insolubles.

Pese a la toxicidad que posee la plata, hay que tener en cuenta que la plata está presente en nuestra dieta diaria en el orden de 0,4-27 $\mu\text{g}/\text{día}$ ¹³ y que en condiciones normales el ser humano presenta entre 1 y 5 mg de plata en el organismo. Además, la plata presenta un mayor efecto bactericida que citotóxico, ya que produce menor daño en células que en bacterias⁴⁴. Esto se debe a que las células humanas presentan núcleo (que protege al ADN del efecto de la plata) y enzimas como la catalasa y la superóxido dismutasa (que neutralizan los ROS).

5.4. Resistencia de las cepas bacterianas a bacterianas a la acción de las AgNPs

Una de las ventajas que presenta la plata como agente antibacteriano es la poca existencia que resistencias que presenta si se compara con las resistencias a los antibióticos. Esto se debe principalmente a que no se ha abusado del uso de plata tanto como del uso de los antibióticos y su utilización ha sido siempre más racional.

Aún así existen ciertas resistencias ante la plata, sobre todo en bacterias del género *Pseudomonas* y en hongos como *Candida spp*¹³.

El principal mecanismo de resistencia se debe al plásmido pMG101³⁰ (Figura 9) que presenta también resistencia contra la acción del mercurio y algunos antibióticos. Este plásmido codifica para bombas de eflujo ATPasa tipo P (SilP) que expulsa los iones plata al exterior de la bacteria, evitando que ejerza efecto⁴⁵. También codifica el gen *silE*, que codifica la proteína periplasmática que se encarga de unirse a los iones Ag⁺, impidiendo que ejerzca su efecto.

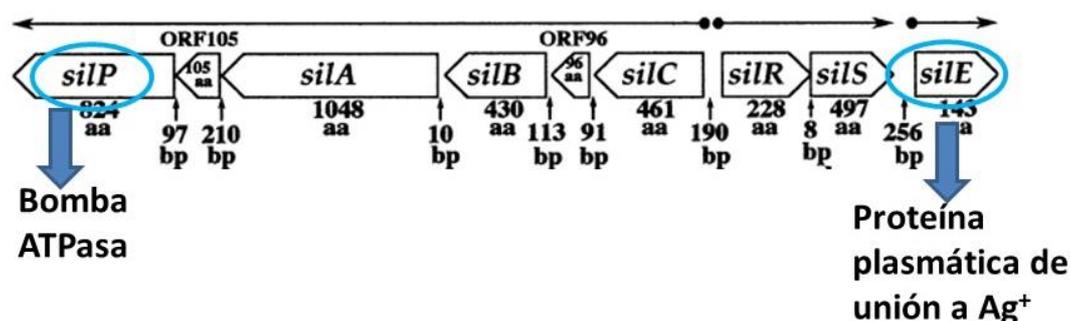


Figura 9: Plásmido pMG101. Imagen adaptada de referencia⁴⁵

Para evitar la posible resistencia a las AgNPs, se proponen la combinación de dichas nanopartículas con antibióticos de amplio espectro. Se obtiene de esta manera cerámicas en las que las AgNPs están embebidas en su estructura y que a su vez tienen canales mesoporosos libres donde alojar fármacos o antibióticos. Dado que estas cerámicas de tercera generación presentan alta solubilidad se irá liberando la plata al organismo a la vez que los fármacos o antibióticos alojados en los mesoporos obteniéndose así un sistema dual de liberación. Dado que la solubilidad de las cerámicas en el sistema SiO₂-CaO-P₂O₅ es mayor en un entorno de pH ligeramente ácido (situación que tiene lugar cuando se produce una infección bacteriana), se estarían dando las condiciones adecuadas para esa liberación controlada de los cationes Ag⁺ y los antibióticos de amplio espectro. Así, se podría obtener un doble efecto contra la infección bacteriana, ya que habría una primera barrera preventiva (AgNPs) y una posterior acción bactericida con la liberación del antibiótico desde el propio implante.

6. Conclusiones

El uso de la plata en forma de nanopartículas permite disponer de una herramienta para combatir posibles infecciones. En el caso concreto de infecciones en hueso, la inclusión de AgNPs en las matrices de los biomateriales cerámicos que conforman los implantes pueden disminuir la formación del *biofilm*, reduciendo así la necesidad de una segunda intervención quirúrgica. Además, las AgNPs presentan a su vez la ventaja de ser poco tóxicas para el organismo humano cuando están en forma de nanopartículas y presenta pocas resistencias a las bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas (y también en hongos).

El farmacéutico, como especialista en el medicamento y productos sanitarios, puede contribuir en la inclusión de las AgNPs como agente antibacteriano. A su vez puede colaborar en la elección del sistema dual adecuado antibiótico + AgNPs en una cerámica de tercera generación presente en el implante, para obtener así un efecto sinérgico bactericida (antibiótico + AgNPs) sumado al efecto de regeneración ósea propio de la biocerámica.

Por ello, es importante la presencia de farmacéuticos como profesionales de la salud en el campo de los biomateriales y la nanomedicina, que en los últimos años están en auge y permiten al ser humano una mejora en su estilo de vida y salud.

7. Bibliografía

1. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3 Suppl 3:131–9.
2. Schünke M, Schulte E SU. Prometheus: Texto y Atlas de Anatomía. 3ª ed. Editorial Médica Panamericana; 2014.
3. Portal-Núñez S, Lozano D, de la Fuente M, Esbrit P. Fisiopatología del envejecimiento óseo. Rev Esp Geriatr Gerontol. 2012;47(3):125–31.
4. Megías M, Molist P, Pombal MA. Tejidos animales: Conectivo Óseo. Atlas Histol Anim y Veg. 2017;3(6):2–15.
5. Arvidson K, Abdallah BM, Applegate LA, Baldini N, Cenni E, Gómez-Barrena E, *et al.* Bone regeneration and stem cells. J Cell Mol Med. 2011;15(4):718–46.
6. Nicolai JPA, Rakhorst G. Introduction to biomaterials. In: Biomaterials in Modern Medicine. World scientific; 2008: 1–21.
7. Salinas AJ, Vallet-Regí M. Evolution of ceramics with medical applications. Zeitschrift fur Anorg und Allg Chemie. 2007;633(11–12):1762–73.
8. Sánchez-Salcedo S, García A, Vallet-Regí M. Prevention of bacterial adhesion to

- zwitterionic biocompatible mesoporous glasses. *Acta Biomater.* 2017;57:472–86.
9. Gupta P, Sarkar S, Das B, Bhattacharjee S, Tribedi P. Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall: a review. *Arch Microbiol.* 2016;198(1):1–15.
 10. Magnus S. Ågren. *Wound Healing Biomaterials Volume 2: Functional Biomaterials.* Wound Healing Biomaterials Volume 2: Functional Biomaterials. 2016. 519 p.
 11. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.* 2010;28(11):580–8.
 12. Alexander JW. History of the Medical Use of Silver. *Surg Infect (Larchmt).* 2009;10(3):289–92.
 13. Ducheyne P. *Comprehensive Biomaterials.* 1^a ed. II. Elsevier; 2017. 81-87 p.
 14. Ávalos A, Haza A. Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud y el medio ambiente. *Rev Complut Ciencias Vet.* 2013;7(2):1–23.
 15. Qing T, Mahmood M, Zheng Y, Biris AS, Shi L, Casciano DA. A genomic characterization of the influence of silver nanoparticles on bone differentiation in MC3T3-E1 cells. *J Appl Toxicol.* 2018;38(2):172–9.
 16. Monge M. Nanopartículas de plata : métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *Investig Quim.* 2009;(August):33–41.
 17. Polte J, Tuae X, Wuthschick M, Fischer A, Thuenemann AF, Rademann K, et al. Formation mechanism of colloidal silver nanoparticles: analogies and differences to the growth of gold nanoparticles. *ACS Nano.* 2012;6(7):5791–802.
 18. Gómez-Quintero T, Arroyo-Ornelas MA, Hernández-Padrón G, Acosta-Torres LS. Nanopartículas de plata: aplicaciones biomédicas. *Quimica Hoy.* 2013;3(3):8–14.
 19. Mulfinger L, Solomon SD, Bahadory M, Jeyarajasingam A V, Rutkowsky SA, Boritz C. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *J Chem Educ.* 2007;84(2):322.
 20. Guidelli EJ, Ramos AP, Zaniquelli MED, Nicolucci P, Baffa O. Synthesis of silver nanoparticles using D-alanine for ESR dosimetry applications. *Radiat Phys Chem.* 2012;81(3):301–7.
 21. Yin Y, Li Z-Y, Zhong Z, Gates B, Xia Y, Venkateswaran S. Synthesis and characterization of stable aqueous dispersions of silver nanoparticles through the Tollens process. *J Mater Chem.* 2002;12(3):522–7.
 22. Tatarchuk V V., Sergievskaya AP, Korda TM, Druzhinina IA, Zaikovskiy VI. Kinetic factors in the synthesis of silver nanoparticles by reduction of Ag⁺ with hydrazine in reverse micelles of triton N-42. *Chem Mater.* 2013;25(18):3570–9.
 23. Nurul H. Synthesis, characterization and antibacterial activity of colloidal silver

- nanoparticles encapsulated in low generation poly(amido)amine dendrimers. *Chem Mater.* 2015;1(1):21–32.
24. Bogle KA, Dhole SD, Bhoraskar VN. Silver nanoparticles: Synthesis and size control by electron irradiation. *Nanotechnology.* 2006;17(13):3204–8.
 25. Guidelli EJ, Ramos P, Zanicuelli M, Baffa O. Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using *Celastrus Paniculatus* Leaf Extract. *Int J Res Appl Sci Eng Technol.* 2015;3(6):958–9.
 26. Srikar SK, Giri DD, Pal DB, Mishra PK, Upadhyay SN. Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review. *Green Sustain Chem.* 2016;6(1):34–56.
 27. Miquel H. Propiedades electrónicas y magnéticas en polioxometalatos de Lindqvist de Keggin. 2003;9–35.
 28. Bamoharram FF, Ahmadpour A, Heravi MM, Ayati A, Rashidi H, Tanhaei B. Recent advances in application of polyoxometalates for the synthesis of nanoparticles. *Synth React Inorganic, Met Nano-Metal Chem.* 2012;42(2):209–30.
 29. Mishra SK, Raveendran S, Ferreira JMF, Kannan S. In situ impregnation of silver nanoclusters in microporous chitosan-PEG membranes as an antibacterial and drug delivery percutaneous device. *Langmuir.* 2016;32(40):10305–16.
 30. Lansdown ABG. Silver in healthcare: Its antimicrobial efficacy and safety in use. Vol. 33, *Biofunctional Textiles and the Skin.* 2006: 17-34
 31. Reidy B, Haase A, Luch A, Dawson KA, Lynch I. Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: A critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. *Materials.* 2013;6(6):2295–350.
 32. Xiu Z, Zhang Q, Puppala HL, Colvin VL, Alvarez PJJ. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. *Nano Lett.* 2012;12(8):4271–5.
 33. Xiu ZM, Ma J, Álvarez PJJ. Differential effect of common ligands and molecular oxygen on antimicrobial activity of silver nanoparticles versus silver ions. *Environ Sci Technol.* 2011;45(20):9003–8.
 34. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, *et al.* Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29(11):996–1011.
 35. Loza K, Diendorf J, Sengstock C, Ruíz-González L, González-Calbet JM, Vallet-Regí M, *et al.* The dissolution and biological effects of silver nanoparticles in biological

- media. *J Mater Chem B*. 2014;2(12):1634.
36. Elechiguerra JL, Burt JL, Morones JR, Camacho-Bragado A, Gao X, Lara HH, *et al*. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J Nanobiotechnology*. 2005;3:1–10.
 37. Chernousova S, Epple M. Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. *Angew Chemie - Int Ed*. 2013;52(6):1636–53.
 38. Chatterjee T, Chatterjee BK, Majumdar D, Chakrabarti P. Antibacterial effect of silver nanoparticles and the modeling of bacterial growth kinetics using a modified Gompertz model. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1850(2):299–306.
 39. Lansdown ABG. Silver in health care: Antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol*. 2006;33:17–34.
 40. Laban G, Nies LF, Turco RF, Bickham JW, Sepúlveda MS. The effects of silver nanoparticles on fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology*. 2010;19(1):185–95.
 41. Uygur B, Craig G, Mason MD, Ng AK. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanomaterials. *Tech Proc 2009 NSTI Nanotechnol Conf Expo, NSTI-Nanotech 2009*. 2009;2(2):383–6.
 42. Kubba A, Kubba R, Batrani M, Pal T. Argyria an unrecognized cause of cutaneous pigmentation in Indian patients: A case series and review of the literature. *Indian J Dermatology, Venereol Leprol*. 2013;79(6):805.
 43. Kwon HB, Lee JH, Lee SH, Lee AY, Choi JS, Ahn YS. A case of argyria following colloidal silver ingestion. *Ann Dermatol*. 2009;21(3):308–10.
 44. Bartłomiejczyk T, Lankoff A, Kruszewski M, Szumiel I. Silver nanoparticles - Allies or adversaries? *Ann Agric Environ Med*. 2013;20(1):48–54.
 45. Gupta A, Phung LT, Taylor DE, Silver S. Diversity of silver resistance genes in IncH incompatibility group plasmids. *Microbiology*. 2001;147(12):3393–402.