



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**APLICACIÓN DE NANOMATERIALES PARA  
COMBATIR INFECCIONES MICROBIANAS**

Autor: Gutiérrez Calderón, Blanca

Fecha: Julio 2020

Tutor: González Ortiz, Blanca

## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>RESUMEN .....</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>6</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>5</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>5</b>
5.1	NANOMATERIALES CON ACCIÓN ANTIADHERENTE.....	7
5.1.1	<i>Modificaciones químicas: Zwitteriones .....</i>	<i>7</i>
5.1.2	<i>Modificación estructurales. ....</i>	<i>9</i>
5.2	NANOMATERIALES PARA COMBATIR INFECCIONES. ....	9
5.2.1	<i>Nanomateriales con propiedades antibacterianas inherentes.....</i>	<i>10</i>
	• Nanopartículas de plata.....	10
	• Nanopartículas de oro. ....	12
	• Nanopartículas de óxido de metal. ....	13
5.2.2	<i>Nanomateriales como nanotransportadores de antibióticos.....</i>	<i>14</i>
	• Nanopartículas poliméricas. ....	15
	• Nanopartículas de sílice mesoporosa.....	16
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>18</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>19</b>

## 1 RESUMEN

La nanotecnología se ha impulsado recientemente gracias a las soluciones que ofrece tanto en el desarrollo de nuevas aplicaciones biomédicas como en la mejora de las habituales ya existentes. Se estima que en el año 2050 haya más de 10 millones de muertes anuales a causa de las resistencias a antibióticos, es por ello que considero indispensable el abordaje de dicho problema a través de otras vías alternativas en las cuales la nanotecnología tiene un papel esencial.

El propósito de mi Trabajo de Fin de Grado es documentar las novedades existentes en este campo de aplicación para tratar de evitar problemas futuros relacionados con la aparición de las superbacterias, ofreciendo una clasificación detallada de los distintos tipos de nanomateriales existentes, su forma de obtención, mecanismo de acción y posibles ventajas y desventajas frente a los sistemas convencionales.

**Palabras clave:** nanotecnología, nanomateriales, nanopartículas, microorganismos, infección bacteriana, antibióticos, resistencias, biopelícula, zwitterión.

**Abreviaturas:** NPs (Nanopartículas), MSNs (Nanopartículas de Sílice Mesoporosa), AgNPs (Nanopartículas de plata), AuNPs (Nanopartículas de oro), IONPs (Nanopartículas de óxido de hierro), PVA (Alcohol polivinílico), PAN (Poliacrilonitrilo), ROS (Especies Reactivas de Oxígeno), ZMSNs (Nanopartículas de sílice mesoporosa zwitteriónica), UV (ultravioleta), NIR (Infrarrojo cercano), GSH (Glutatión reducido).

## 2 INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Los nanomateriales son el resultado de la nanotecnología, ciencia que surgió en la década de los 80 y que cada vez refiere una mayor importancia. Actualmente no existe una definición universal establecida como tal de lo que se considera un nanomaterial, en lo que sí se coincide con unanimidad es en establecer que las nanopartículas presentan una o más dimensiones externas en la nanoescala, es decir, un tamaño comprendido entre 1 y 100 nanómetros. (1)

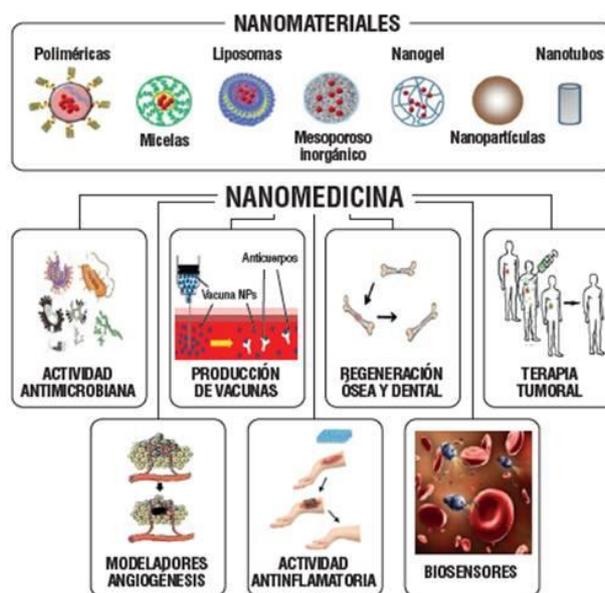
Los métodos utilizados para la obtención de las NPs se pueden clasificar en:

- Métodos químicos: basados en reducción del metal, síntesis electroquímica, micelas y microemulsiones.
- Métodos físicos: por condensación con un gas inerte, corte por láser, pirolisis.
- Métodos biológicos: uso de microorganismos como factorías para la síntesis de NPs.
- Métodos híbridos: mezcla de los anteriores.

Siendo los métodos físicos y los químicos los más utilizados ya que permiten un control más sencillo sobre la forma de las NPs, su tamaño y distribución. Sin embargo, a la hora de buscar métodos de obtención respetuosos con el medio ambiente y con la salud humana se tiene preferencia por el uso de los microorganismos como fuente para sintetizar las NPs mediante procesos enzimáticos. (2)

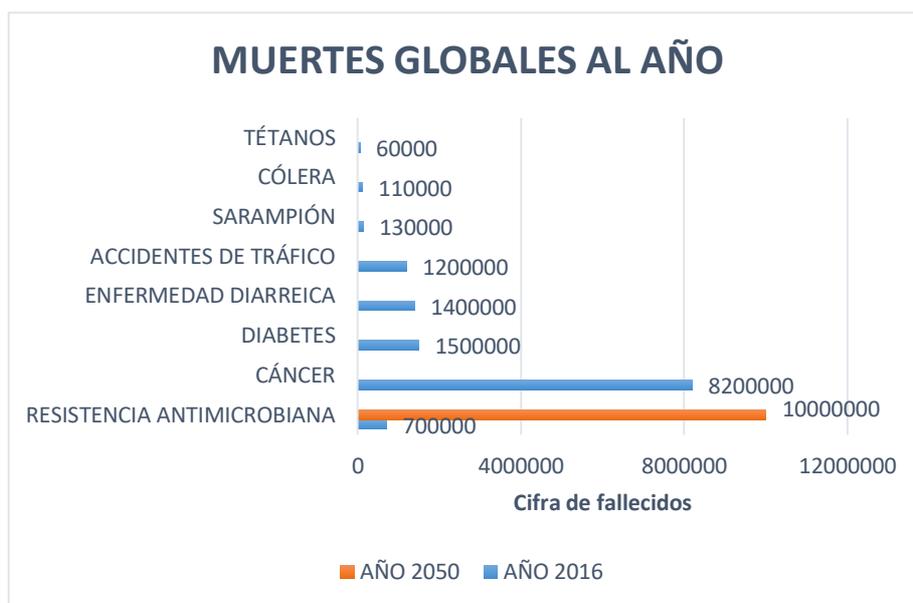
La descripción de un nanomaterial debe hacer referencia tanto a sus propiedades físicas (tamaño, forma, superficie específica, adherencia entre sus partículas, distribución por tamaño, capacidad para disolverse...), como a sus propiedades químicas (estructura, composición relacionada con la pureza de la misma, estado en el que se encuentra la materia, atracción de moléculas de agua y de aceites o grasas, etc). Estos materiales nanoestructurados presentan una mayor superficie en comparación con su análogo macroscópico en volumen, con ello se consigue que el material nuevo obtenido al disminuir el tamaño sea más reactivo. (1)

Los nanomateriales son utilizados en numerosos campos: electrónica, cosmética, industria textil, protección medioambiental o medicina, siendo uno de sus objetivos principales promover el desarrollo humano y mejorar la calidad de vida. En esta revisión bibliográfica me centro en el papel de los nanomateriales utilizados en medicina (Figura 1) cuya finalidad sea evitar la formación de biopelículas o luchar contra infecciones ya establecidas mediante sistemas de liberación de fármacos de forma mantenida durante un mayor tiempo.



**Figura 1.** Diferentes campos de aplicación de los nanomateriales en la medicina. Imagen tomada de la Ref. (3)

En la actualidad la aparición de resistencias a los antibióticos comienza a ser un problema para la salud pública debido a su uso por parte de la población sin las indicaciones médicas adecuadas. Se prevé que estas bacterias resistentes sean una de las principales causas de muerte en el año 2050 (Figura 2). Los nanomateriales ofrecen resultados muy prometedores en relación a la prevención y lucha frente a las infecciones microbianas, es por ello que la nanotecnología es una ciencia en estudio con numerosas vías de investigación abiertas en las cuales se debe seguir trabajando para obtener resultados firmes en un futuro ya que aún no se conocen con exactitud muchos de los aspectos que derivan de ella.



**Figura 2.** Los expertos estiman que para 2050, si no existe una acción global, las superbacterias puedan matar a 10 millones de personas al año, más que la actual cifra de muertes por cáncer y diabetes juntas. Datos obtenidos de Ref.(4)

Los nanomateriales representan una alternativa ante dichas resistencias debido a que poseen acción microbicida, diferente a la de los antibióticos.

Según la recopilación de la literatura disponible, el tamaño y la relación superficie/volumen influyen de forma directa sobre la efectividad de las NPs como agentes antibacterianos, por tanto, estas características son concluyentes a la hora de interactuar con la membrana de la bacteria. (5) Entre los mecanismos de acción de los nanomateriales se incluyen la inducción de estrés oxidativo, liberación de iones metálicos y mecanismos no oxidativos. (6)

Dentro de las principales ventajas que refiere el uso de nanomateriales frente a los sistemas convencionales antimicrobianos destaca el hecho de que pueden dirigirse a órganos o células específicos del cuerpo, como las células cancerosas, y mejorar la efectividad de la terapia, así como disminuir los efectos secundarios derivados del tratamiento al permitir una mayor focalización en su modo de actuación.

Por otra parte, la utilización de estos nanomateriales también implica correr algún tipo de riesgo. Las composiciones químicas únicas de los nanomateriales junto con la elevada reactividad que presenta la materia a escala nanométrica hacen que surjan dilemas referidos a la seguridad que ofrecen estos al interactuar con materia viva en cuanto a toxicidad o impacto ambiental. Muchas veces estos riesgos se deben a que los efectos que se esperan de los estudios *in vivo* no pueden predecirse y difieren con lo que ocurre bajo condiciones controladas en las pruebas *in vitro* de los laboratorios. (1)

El hecho de que no haya suficientes estudios epidemiológicos que permitan establecer el impacto en la salud a largo plazo, así como la falta de consenso en cuanto a una definición por parte de las principales instituciones internacionales, hacen que se ralentice la tarea de elaboración de medidas regulatorias y normativas, retrasando así los avances en investigación.

### **3 OBJETIVOS**

El principal objetivo de este Trabajo Fin de Grado es realizar una búsqueda bibliográfica y análisis de los artículos científicos más novedosos y relevantes relacionados con los nanomateriales en el ámbito de la lucha frente a las infecciones microbianas.

Así mismo, se busca analizar de manera crítica la magnitud del problema que desencadenan las resistencias bacterianas y la importancia de la nanotecnología en la lucha contra las mismas por medio de la incorporación de los nanomateriales como posibles métodos alternativos o complementarios al uso de antibióticos.

### **4 MATERIAL Y MÉTODOS**

Para llevar a cabo la recopilación de la información se han empleado diversas bases de datos online como PubMed, SciFinder, CrossRef, Medline, Google Scholar y ScienceDirect.

Como herramienta de redacción de texto se ha utilizado el programa informático Microsoft Office Word 2016 junto con la ayuda del gestor bibliográfico Mendeley.

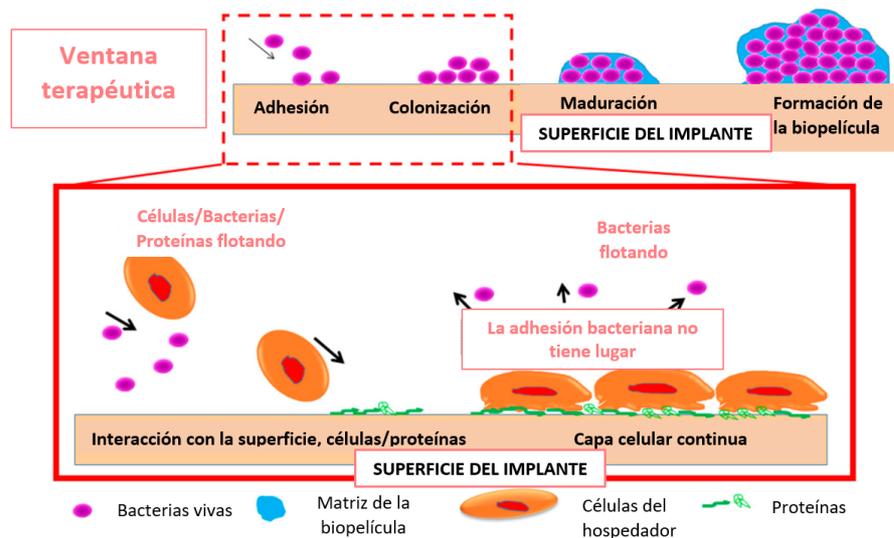
En cuanto a la metodología, se ha procedido a la lectura y análisis de diversos textos y artículos científicos sobre nanomateriales y síntesis de los mismos para dar una visión general de las principales novedades en este ámbito.

### **5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Para comprender la clasificación de los nanomateriales en cuanto a su acción combatiendo infecciones microbianas, es importante tener conocimiento de las formas en las que estos microorganismos colonizan nuestro organismo y producen patologías.

Referido a las infecciones que pueden aparecer cuando se realiza un implante de hueso, dicha infección tendría lugar en los siguientes pasos (Representado en la Figura 3):

- 1) Comienza la puesta en marcha de la adhesión bacteriana.
  - Inicialmente esta se produce de forma reversible. Se trata de una interacción no específica entre la pared bacteriana y la superficie del implante.
  - Posteriormente, tiene lugar una nueva interacción mediada por proteínas lo que hace que esta adhesión bacteriana se vuelva irreversible.
- 2) Tras este proceso se forma la biopelícula bacteriana (comunidades de microorganismos incrustados en una matriz de polisacárido de producción propia). (7)



**Figura 3.** Etapas de la formación de la biopelícula y ventana terapéutica que se debe aprovechar para tratar de evitar la formación irreversible de la misma, así como las posteriores resistencias generadas al tratamiento antibacteriano. Imagen modificada de Ref. (8)

La mayoría de estas infecciones son causadas por alguno de los siguientes microorganismos: *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* o *Pseudomonas aeruginosa*. La colonización por parte de estas bacterias implica la aparición de una reacción inflamatoria acompañada de una importante tasa de morbilidad ya que en muchas ocasiones las bacterias se desprenden de la biopelícula para colonizar otras áreas e inducir infecciones adicionales. (8)

Se ha comprobado como el uso inapropiado de antimicrobianos para tratar de eliminar bacterias conduce progresivamente a más casos de resistencias bacterianas a los medicamentos, lo que induce un crecimiento bacteriano incontrolado y la formación de biopelículas persistentes. Todo esto hace comprender que la mayoría de los esfuerzos en la búsqueda e investigación de biomateriales deben ir encaminados en mayor medida a la inhibición de la adhesión bacteriana en la superficie para prevenirla.

La resistencia a los antimicrobianos relacionada con la biopelícula no depende solo de la matriz como obstáculo físico, también depende de:

- La presencia de ADN y proteínas bacterianas y del huésped que pueden aumentar la capacidad de protección de la matriz.
- La presencia de bacterias con diferentes resistencias adquiridas y sensibilidades antibióticas.
- El desarrollo de bombas de eflujo.
- La presencia de enzimas capaces de degradar antimicrobianos. (9)
- El establecimiento de la detección de quórum (comunicación bacteria-bacteria).

Una vez conocidos los mecanismos que poseen las bacterias para permanecer en el organismo y desencadenar los procesos infecciosos, se describen los diferentes tipos de nanomateriales que pueden emplearse para prevenir y combatir estas infecciones microbianas.

## 5.1 NANOMATERIALES CON ACCIÓN ANTIADHERENTE

Se trata de superficies cuya función es inhibir la formación de la biopelícula, por tanto, repelen la adhesión bacteriana y previenen la adsorción de proteínas. Estos nanomateriales pueden ser impregnados en antibióticos, agentes bactericidas o recubiertos con restos antimicrobianos (cobre, plata, material sin liberación, óxido de titanio...).

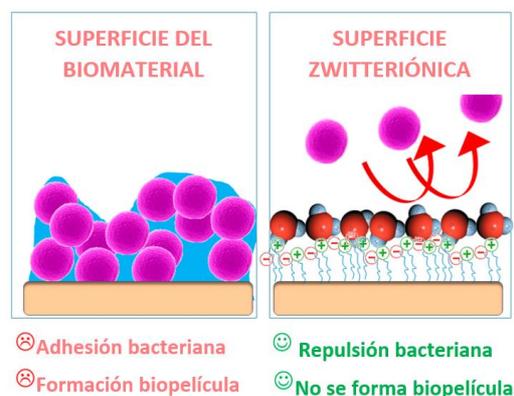
En relación con los implantes de hueso, se debe tener en cuenta la complejidad de la elaboración de nanomateriales con este cometido puesto que no solo tienen que evitar la adhesión de bacterias y formación de biopelículas, al mismo tiempo se debe conseguir la adhesión de células eucariotas para una adecuada osteointegración. (10)

El diseño de estas superficies puede realizarse por medio de diversos métodos:

### 5.1.1 Modificaciones químicas

Consiste en proporcionar a la superficie del biomaterial una naturaleza de zwitterión, es decir, conseguir que tenga el mismo número de cargas positivas y negativas, por lo que se espera que sea eléctricamente neutra (Figura 4). Esta neutralidad hace que se forme una capa hidrofóbica en la superficie que hace de obstáculo tanto energético como físico e impide que las bacterias se adhieran. (7)

De hecho, debido a la reducción de la adsorción de proteínas, las funcionalizaciones zwitteriónicas también se han postulado como sustitutos de la pegilación, lo cual podría ser beneficioso para superar la creciente aparición de anticuerpos anti-PEG. (11)

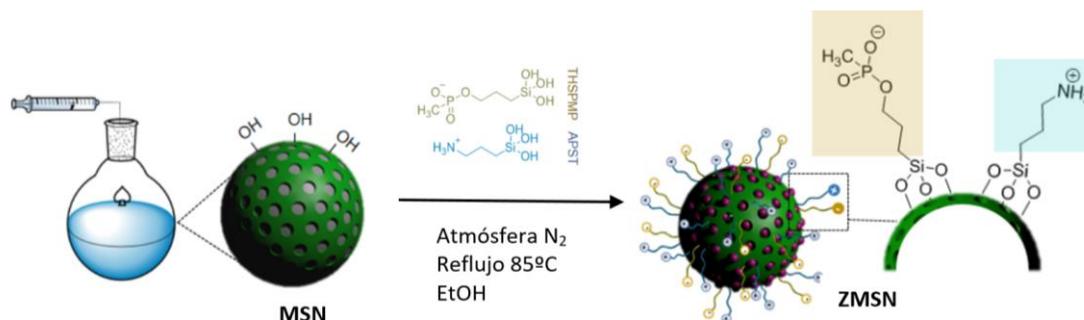


**Figura 4.** Diferencias entre el comportamiento de una superficie normal de biomaterial y una superficie zwitteriónica frente a la colonización bacteriana. Imagen modificada de Ref.(8)

La síntesis de partículas zwitteriónicas con grupos amino y fosfonato (ZMSN) partiendo de una MSN se lleva a cabo mediante el anclaje covalente de agentes catiónicos y aniónicos en su superficie externa. La carga positiva es proporcionada por una cadena corta e hidrolizable que contiene un grupo amino y la carga negativa la aporta la segunda cadena que contiene un grupo fosfonato.

La reacción que tiene lugar parte de una estructura de sílice mesoporosa a la cual se le incorpora una mezcla de precursores de silano (Aminopropil silanotriol y Trihidroxisilil propil metilfosfonato) que debe ser añadida simultáneamente en proporciones molares variables para optimizar las propiedades zwitteriónicas de las nanopartículas funcionalizadas.

Dicha reacción debe ser mantenida durante la noche en atmósfera inerte de N<sub>2</sub>, agitación constante y reflujo a 85°C antes del lavado completo y recuperación bajo centrifugación con EtOH y metanol, seguido de secado a vacío a 30°C. De esta forma se consigue una MSN funcionalizada con carga neutra en condiciones fisiológicas de pH (Figura 5).



**Figura 5.** Síntesis de sílice mesoporosa zwitteriónica (ZMSN) y condiciones en las que tiene lugar la reacción a partir de MSN (Nanopartícula de Sílice Mesoporosa) utilizando una mezcla de precursores de silano (Aminopropil silanotriol, APST y Trihidroxisilil propil metilfosfonato, THSPMP) para conferir la característica de zwitterión a la sílice mesoporosa de partida. Imagen modificada de Ref. (12)

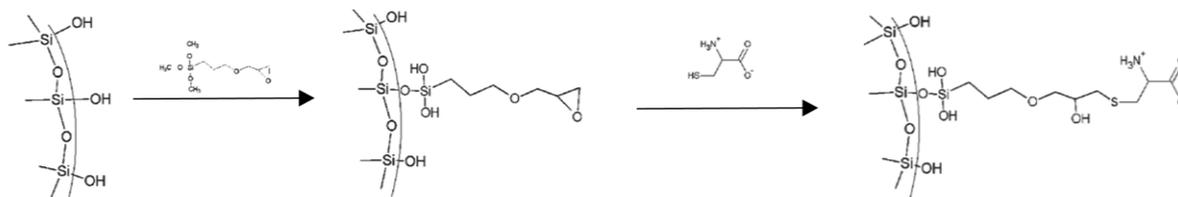
Se ha comprobado que tanto los MSNs zwitteriónicos de carga neutra como el PEG-MSNs muestran una reducción significativa de la adhesión de proteínas séricas y la captación de macrófagos. En el caso de las MSNs zwitteriónicas, esta reducción es de hasta un 70-90% para la adsorción de proteínas y 60% para la captación celular.

El objetivo de esta modificación zwitteriónica se ha centrado en el tratamiento local de infecciones bacterianas a través del efecto sinérgico que existe entre el poder antimicrobiano inherente de este sistema y el perfil de liberación de antibióticos levofloxacin. (12)

Hay ciertos desafíos a los que deben enfrentarse los nanomateriales para su etapa clínica de desarrollo entre los que se incluyen:

- Preservación de la biocompatibilidad.
- Farmacocinética adecuada a través de la administración local de agentes antimicrobianos.
- Curación ósea.(8)

Otra forma de modificación química es la funcionalización directa de una superficie con restos de bajo peso molecular que tengan igual número de cargas positivas y negativas. Se pueden usar algunos aminoácidos ya que son biocompatibles, aunque no se considerarían en sí como zwitteriones ya que al presentar grupos ionizables dependerían del pH y de su punto isoeléctrico (Figura 6).



**Figura 6.** Funcionalización de una superficie de NPs de sílice con pequeñas moléculas del aminoácido cisteína a través de una molécula conectora tipo epóxido para crear una superficie zwitteriónica con mayor estabilidad que la superficie de partida y de aplicación en nanomedicina. Imagen tomada de Ref. (13)

### 5.1.2 Modificación de textura para adaptar la superficie de nanoestructura

Es posible conseguir superficies antibacterianas artificiales en las cuales se ve reducido hasta en un 70% la adhesión bacteriana y con ello la formación de biopelículas después de 24h de incubación.

Para lograr estas superficies se han investigado diferentes enfoques, los resultados más satisfactorios se han obtenido al utilizar un recubrimiento de nanotubos de  $\text{TiO}_2$  sobre superficies de titanio por medio de la ruta de anodización. Su grado antibacteriano está fuertemente asociado con el tamaño de los nanotubos, la cristalinidad (fase rutilo o anatasa) y el ángulo de contacto con la superficie. (14)

Así mismo, se comprueba que células semejantes a los osteoblastos tienen comportamientos similares y satisfactorios en cuanto a colonización, adhesión, proliferación y diferenciación celular en ambas superficies (nanopartículas recubiertas y sin recubrir). (7)

## 5.2 NANOMATERIALES PARA COMBATIR INFECCIONES

Los múltiples modos de acción de las nanopartículas reducen significativamente la posibilidad de que las bacterias generen resistencias.

Los mecanismos antibacterianos de las nanopartículas están relacionados con el estrés oxidativo, la liberación de iones metálicos y los mecanismos no oxidativos, y generalmente desencadenan la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), inhibición enzimática, desactivación de proteínas, daño en el ADN o cambios en la expresión génica, así como rotura de la pared bacteriana.

Una excesiva producción de ROS por parte de las nanopartículas conduce a la alteración de la homeostasis intracelular y a un estrés oxidativo severo que daña los componentes celulares, afecta a los lípidos de la membrana y altera la estructura del ADN y de proteínas. Además, las nanopartículas a base de metales liberan gradualmente iones metálicos que alcanzan el compartimento intracelular e interactúan con grupos funcionales de proteínas y ácidos nucleicos amino (-NH), mercapto (-SH) y carboxilo (-COOH). Todo ello puede derivar en la aparición de ciertos efectos tóxicos como la coagulación de proteínas, la alteración de las proteínas relacionadas con las cadenas de transferencia de electrones o la desregulación de los procesos metabólicos bacterianos a través de la actividad enzimática impedida.

Por otra parte, la interacción de las nanopartículas con la pared y la membrana de las bacterias conduce a mecanismos no oxidativos. Las bacterias Gram (+) poseen una pared celular rígida compuesta de una capa delgada de peptidoglicanos que comprende polímeros de hidratos de carbono reticulados a través de residuos de péptidos. (15) Las bacterias Gram (-) contienen una capa de peptidoglicano más delgada y rígida con enlaces cruzados mucho más cortos, rodeada por una membrana lipídica con lipopolisacáridos (LPS) formando una barrera superficial.

Es importante tener en cuenta la composición de la membrana de la bacteria implicada en el proceso infeccioso a erradicar, ya que, dependiendo de ella, la vía de adsorción para las nanopartículas será diferente.

La carga negativa en la superficie de la pared bacteriana puede proporcionar interacción electrostática con nanopartículas cargadas positivamente que pueden acumularse, perturbar los procesos metabólicos o causar la perforación y ruptura de membranas.

### **5.2.1 Nanomateriales con propiedades antibacterianas inherentes**

Antes incluso del descubrimiento de la penicilina ya se conocían las propiedades antibacterianas intrínsecas de algunos metales, óxidos y sales metálicas, sin embargo, su uso en la medicina se vio mermado debido a la aparición de los antibióticos. Hoy en día con la aparición de las resistencias se están volviendo a recuperar estos primeros agentes antimicrobianos. (16)

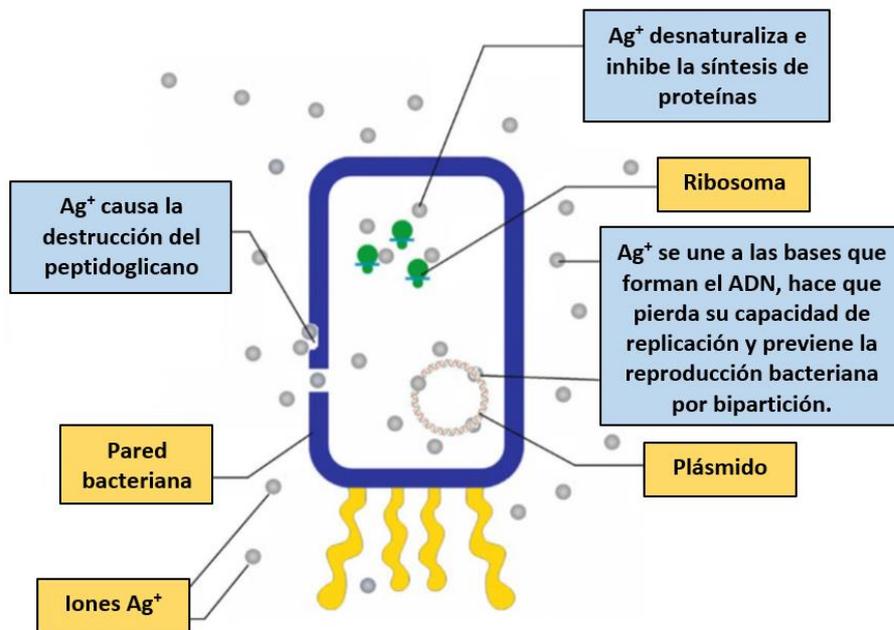
A continuación, se describen algunos ejemplos de nanopartículas con dicha acción.

- **Nanopartículas de plata**

Aunque las nanopartículas de plata (AgNP) son uno de los nanomateriales más utilizados como tratamiento antimicrobiano, sigue sin ser completa la comprensión precisa de su modo de acción puesto que pueden estar involucrados múltiples mecanismos en el proceso.

Para que la plata tenga efecto bactericida y sea biológicamente activa, debe liberarse en la solución. La efectividad de dicha solución depende de la concentración y la forma en la que se encuentren los iones de plata presentes.  $Ag^+$  es la forma iónica presente en el nitrato de plata ( $AgNO_3$ ), sulfadiazina de plata y otros compuestos de plata iónica.  $Ag^0$  es la forma metálica que se encuentra en las estructuras de plata cristalinas.

La plata ejerce sus efectos antimicrobianos al interferir con la cadena respiratoria ya que interactúa en la síntesis de proteínas del complejo enzimático del citocromo P450. Se une preferentemente con bases de ADN para inhibir la replicación (Figura 7). Por otra parte, el efecto bactericida de la plata también se ha atribuido a la inactivación de la enzima manosa-6-fosfato isomerasa implicada en la biosíntesis de polisacáridos capsulares.



**Figura 7.** Mecanismo de acción de los iones de  $Ag^+$ . Imagen modificada de Ref(17)

Ha sido demostrado el efecto sinérgico que se manifiesta cuando combinamos las NPs de plata con los antibióticos convencionales debido a que ambos poseen diferentes mecanismos de acción.

Se llevó a cabo un estudio en el que se utilizaron AgNPs asociadas a clindamicina. Gracias a esta combinación se vio disminuida la concentración mínima inhibitoria (CMI) y se demostró el efecto antimicrobiano no solo frente a bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella enterica*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus* resistente a vancomicina o *S. aureus* resistente a metilina, también se comprobó su capacidad para inhibir el crecimiento del VIH. (18)

Otro campo de desarrollo clínico de las AgNPs está relacionado con el tratamiento y prevención de infecciones relacionadas con implantes. Se ha creado un recubrimiento híbrido para la superficie de titanio del implante, que contiene polidopamina, hidroxapatita, AgNP y quitosano (biopolímero de aminopolisacáridos). El doble efecto quelante de la polidopamina y el quitosano reduce significativamente la liberación de iones de plata de los AgNP en el recubrimiento híbrido, disminuyendo así la potencial citotoxicidad que estos pudieran tener. Este recubrimiento muestra una eficacia anti formadora de biopelículas de un 91,7%, 89,5% y 92,0% para *S. aureus*, *S.epidermidis* y *E.coli*, respectivamente. Además de las propiedades

antibacterianas, este revestimiento híbrido permite la osteointegración del implante óseo. (19)

En concentraciones mínimas la plata no es tóxica para las células humanas. Probablemente, uno de los efectos secundarios más reportados de los productos de plata es la argiria. La argiria ocurre cuando la plata subdérmica se deposita en los microvasos de la piel, dando como resultado una coloración irreversible de gris a negro de la piel. Esta decoloración permanente no es físicamente dañina, pero sigue siendo un problema cosmético grave. Si esta pigmentación aparece en otros órganos tales como ojos, hígado, etc, se denomina argirosis.

Existen informes que alertan de una posible toxicidad renal y hepática debido a la plata nanocristalina. (20)

Sin embargo, es importante señalar que, a pesar de décadas de uso, la evidencia de toxicidad de la plata aún no está clara y la sulfadiazina de plata sigue siendo el principal producto tópico utilizado en las quemaduras. (2)

- **Nanopartículas de oro**

El oro metálico es biocompatible debido a que es estable frente a la oxidación. Sin embargo, al ser el oro un metal químicamente inerte, su uso como agente antimicrobiano no posee tanta relevancia como ocurre con las nanopartículas de plata puesto que su reactividad es mucho menor.

Los mecanismos de inhibición bacteriana por parte de las nanopartículas de oro aún no están claros. Muchos estudios exponen que las AuNPs están relacionados con la generación de ROS como causa potencial de daño y muerte de células bacterianas, así como, a través de su acción sobre el equilibrio de oxidación-reducción dentro de la cadena respiratoria bacteriana al generar estrés oxidativo.(7)

Otra hipótesis que considera el mecanismo de la actividad biocida de AuNPs se centra en su acción sobre la pared bacteriana, lo que lleva a una fuga del contenido citoplasmático como principal causa de la muerte bacteriana.

El efecto antibacteriano más efectivo de las AuNPs se consigue debido a la acción sinérgica cuando estas nanopartículas se combinan con polímeros para obtener nanocompuestos antibacterianos o nanopartículas híbridas. Este es el caso de formulaciones de AuNPs con quitosano junto con ampicilina, las cuales han demostrado duplicar su acción antibacteriana en comparación con la ampicilina libre. (21)

Los resultados más novedosos con respecto al uso de nanopartículas de oro como agente bactericida están recogidos en un estudio en el que se muestra su eficacia antibacteriana en el tratamiento de la neumonía nosocomial causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a aminoglucósidos debido a la acción de estímulos externos sobre las AuNPs.

En este estudio se asocian nanocilindros de oro de 50–100 nm de longitud junto con polímeros glucomiméticos. El mecanismo de actuación de esta formulación es el siguiente:

- Los ligandos de galactosa y fucosa basados en glucomiméticos, presentes en los nanocilindros de oro, imitan el mecanismo natural por el que *P.aeruginosa* se adhiere al huésped mediante la interacción carbohidrato-lectina, por tanto, al bloquear específicamente las lectinas bacterianas se inhibe la formación de la biopelícula. (22)
- Debido a lo que se conoce como “terapia fototérmica”, los nanocilindros de oro funcionalizados con los polímeros biocompatibles anclados a las lectinas de *Pseudomonas aeruginosa*, se calientan al ser irradiados por luz del infrarrojo cercano. Este efecto provoca la muerte y una mayor destrucción selectiva de dicha bacteria por hipertermia cuando son sometidos a esta irradiación. Además, también ayudan a regular la respuesta inmune del organismo y a reducir los niveles de inflamación facilitando la recuperación del huésped ante un proceso infeccioso. (23)

- **Nanopartículas de óxido de metal**

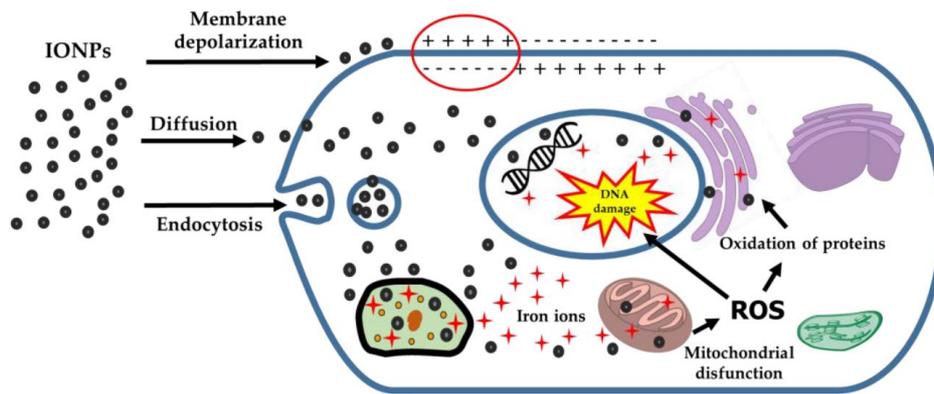
Los nanomateriales inorgánicos en los que se incluyen los metales y los óxidos metálicos presentan ventajas frente al resto por su estabilidad y bioseguridad. Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), óxido de hierro (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), óxido de cobre (CuO), óxido de magnesio (MgO) y dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) han demostrado tener poder antimicrobiano basado en la generación de ROS, el cual se atribuye a su actividad fotocatalítica intrínseca o a la liberación de iones metálicos.

Los nanocristales de ZnO (20 nm de diámetro) han sido funcionalizados con aminas y preparados por medio de una síntesis a base de microondas, generando un diseño altamente biocompatible. Los resultados in vitro sugieren que estos nanocristales pueden ser usados para resolver enfermedades infecciosas en implantes óseos y al mismo tiempo promover la osteoinducción. (5)

Los estudios referidos a las nanopartículas de óxido de hierro promueven estrategias antibacterianas alternativas al uso de antibióticos para luchar contra las superbacterias resistentes.

La toxicidad frente a los microorganismos vendría generada por una serie de interacciones entre las que se incluye la despolarización de la membrana originando el deterioro de la integridad celular, producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) con peroxidación lipídica y daño en el ADN, y liberación de iones metálicos que afectan la homeostasis celular y la coordinación de proteínas. (Figura 8)

Se ha demostrado que los cambios en el tamaño y la forma de las nanopartículas desempeñan un papel importante en la toxicidad celular, ya que los sistemas basados en nanopartículas de óxido de hierro (IONPs) en forma de barra o de tamaño nanométrico son más tóxicas que las partículas micrométricas y en forma de esfera. Además, la carga superficial de las IONPs puede afectar la citotoxicidad celular y la genotoxicidad de la misma forma que ocurre con otros factores como la concentración, el tipo de recubrimiento o la forma de administración. (22, 24)

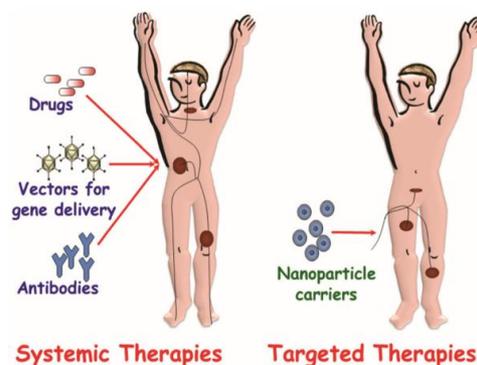


**Figura 8.** Principales mecanismos de acción mediante los cuales los sistemas basados en nanopartículas de óxido de hierro (IONPs) generan toxicidad celular. Imagen tomada de Ref. (24)

Dadas las propiedades magnéticas de las nanopartículas de óxido de hierro, es posible acabar con las bacterias patógenas, así como bloquear la formación de biopelículas sin necesidad de usar antibióticos. Esto es factible ya que las bacterias (poseen carga negativa en su pared) quedan atrapadas por interacción electrostática en estas nanopartículas magnéticas cargadas positivamente. Al aplicar una corriente externa de radiofrecuencia, todas las bacterias retenidas son eliminadas por completo en 30 minutos debido a la pérdida del potencial de membrana y a la disfunción de los complejos asociados a esta. (25)

### 5.2.2 Nanomateriales como nanotransportadores de antibióticos

Los métodos tradicionales de administración de fármacos (vía oral, parenteral, etc.), se asocian con una rápida liberación y eliminación del medicamento, por lo tanto, se necesita una dosis de fármaco inicial alta para mantener las concentraciones terapéuticas durante un período de tiempo prolongado (Figura 9). Con la aparición de estos nanotransportadores una menor dosis es requerida ya que la liberación del fármaco se lleva a cabo en los sitios específicos en los que se precisa después de la aplicación de un estímulo adecuado.(26)



**Figura 9.** Esquema comparativo de las terapias sistémicas frente a las terapias dirigidas. Imagen tomada de Ref. (26)

- **Nanopartículas poliméricas**

Los polímeros tienen la ventaja de englobar una gran diversidad de moléculas biocompatibles y biodegradables que pueden ser utilizadas para la construcción de diferentes nanoestructuras transportadoras de fármacos que satisfacen las necesidades clínicas.

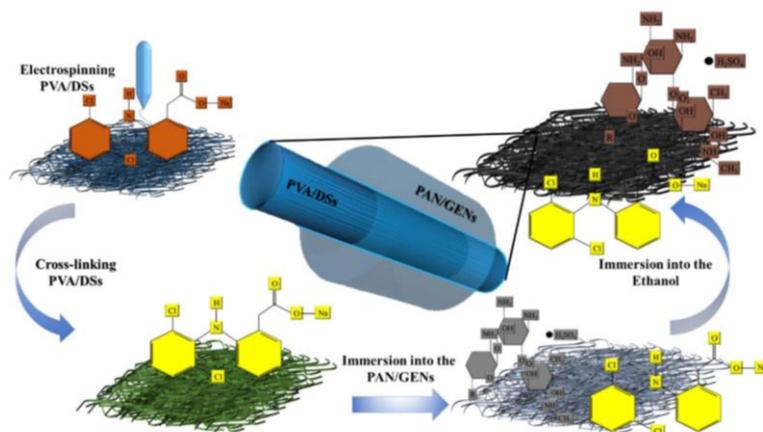
De entre las numerosas técnicas que pueden usarse para sintetizar nanofibras de polímeros, el electrohilado es la técnica más ampliamente utilizada ya que es simple, rentable a nivel económico y escalable. (27)

La marca genérica de copolímeros Gantrez™, formados por metil vinil éter y restos de ácido maleico, son solubles en agua y ayudan a controlar la formación y crecimiento de sarro, se incluyen en pastas dentífricas y enjuagues bucales para aumentar el tiempo de permanencia de los ingredientes activos (antimicrobianos) en contacto con la biopelícula de microorganismos. Son moléculas biodegradables, con baja toxicidad, alta biocompatibilidad y propiedades bioadhesivas. (20)

Recientemente se ha demostrado el efecto antibacteriano obtenido al recubrir una gasa de algodón convencional con nanofibras de silicona y carbono. De igual forma se reveló en dicho estudio que esta gasa también proporcionaba efecto coagulante de la sangre en contacto con la misma, siendo esto muy útil para evitar hemorragias. (28)

Nuevos apósitos para heridas han sido diseñados como sistema de administración dual de fármacos (antiinflamatorios y antibióticos). Están basados en una cubierta de nanofibras de PVA-PAN. El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero biocompatible e hidrofílico capaz de transportar fármacos solubles en agua, sin embargo, el poliacrilonitrilo (PAN) es capaz de transportar fármacos solubles en disolventes orgánicos. (29)

Para diseñar dichas nanofibras se ha empleado el método de la “inmersión”. Con el fin de llevar a la práctica esta propuesta, las nanofibras centrales hechas de PVA se deben sumergir en varias concentraciones de PAN y entrecruzarse por inmersión en etanol. En este estudio se ha utilizado la sal de diclofenaco sódico (DS) como fármaco cargado en las nanofibras centrales y el sulfato de gentamicina (GEN) cargado en las nanofibras externas. (28) (Figura 10)



**Figura 10.** Diseño de nanofibras para la administración dual de medicamentos. Imagen tomada de Ref. (28)

Se ha demostrado que, a concentraciones de 1% a 2% p/p de PAN/GEN con respecto a las concentraciones de PVA/DS son las que arrojarán resultados más relevantes en el estudio.

De cara a perspectivas futuras, este proyecto puede ser el comienzo para la elaboración de nanofibras multicapa que permitirían la administración de múltiples fármacos en la lucha frente a las infecciones microbianas.

- **Nanopartículas de sílice mesoporosa**

El principal objetivo de estos nanomateriales es proporcionar nuevas soluciones para el tratamiento de infecciones mediante el uso de nanovehículos cargados con antibióticos capaces de penetrar la pared bacteriana. Estos nanosistemas, llamados “nanoantibióticos”, están compuestos por nanopartículas de sílice mesoporosa (MSNs), que actúan como nanoportadores de un agente antimicrobiano (levofloxacino) localizado dentro de los mesoporos que se libera de manera sostenida a dosis efectivas. Para que este nanosistema posea la capacidad de interactuar con la membrana de las bacterias, se injerta de forma covalente en su superficie externa un dendrímero policatiónico, en este caso fue un dendrímero de poli (propilenimina) de tercera generación (G3) el cual demostró tener una alta penetrabilidad en las membranas bacterianas Gram negativas (Figura 11).

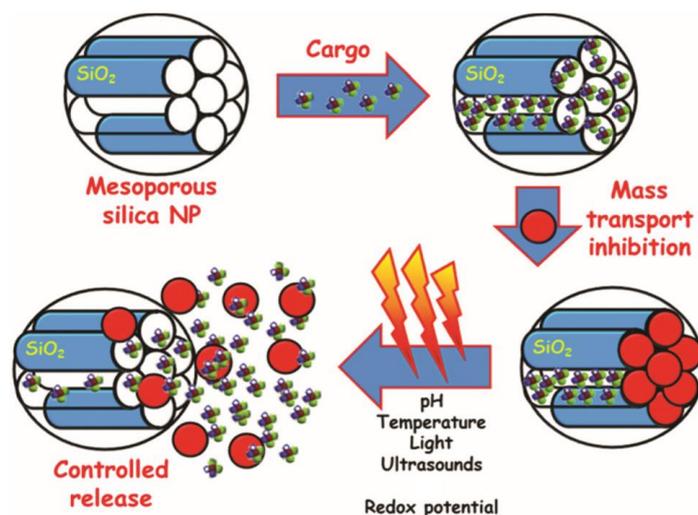


**Figura 11.** Demostración de la efectividad en la destrucción de biopelículas de *E. coli* de nanopartículas de sílice mesoporosa funcionalizadas con un dendrímero policatiónico que actúa como transportador de levofloxacino. Imagen tomada de Ref. (30)

Persiguiendo el mismo objetivo, se han realizado numerosos estudios referidos a MSNs cuya liberación del fármaco cargado en sus canales mesoporosos responde a estímulos tales como cambios térmicos, de pH, lumínico, etc. (Figura 12) Las aberturas de los poros de dichas sílices mesoporosas se cierran con nanocápsulas, una vez que el fármaco se ha introducido en los canales, para evitar la salida prematura del mismo.

Dependiendo del estímulo aplicado sobre la formulación, tanto interno como externo, la liberación del fármaco atrapado se llevará a cabo en el lugar en el que sea necesario lo cual permite focalizar su acción. (31)

- De entre los estímulos internos, el **pH** es uno de los que más empleados, especialmente para el tratamiento en oncología o inflamación, debido a que estas patologías muestran una variación significativa de los valores de pH a lo largo del tiempo. En el caso de tejidos inflamados a causa de una infección microbiana, el pH puede alcanzar valores de 5.5, es por ello que, el uso de sistemas de liberación de antibióticos pH-dependiente es una perspectiva interesante para enfocar el tratamiento y conseguir disminuir la dosis necesaria.
- La **temperatura** puede ser usado como estímulo interno en ciertas patologías, como tumores, inflamación o procesos infecciosos, que pueden provocar aumentos moderados de la temperatura de hasta 4 ó 5°C. Por otro lado, los aumentos de temperatura causados por factores externos, como la hipertermia producida con campos magnéticos, también se emplea para activar la liberación de carga de los MSNs. En general, los polímeros solubles en agua son los candidatos ideales para tapar los poros debido a sus cambios conformacionales reversibles en respuesta a la temperatura y también pueden contribuir a mejorar la estabilidad coloidal de los MSNs.
- El uso de diferentes longitudes de onda de **luz** para desencadenar la liberación de carga de MSNs se ha vuelto muy popular en los últimos años. Las longitudes de onda aplicadas incluyen ultravioleta (UV), visible (vis) o infrarrojo cercano (NIR), lo que hace que este enfoque sea muy versátil. Presenta algunos beneficios con respecto a otros estímulos como, por ejemplo, su fácil aplicación desde el exterior del cuerpo y la posibilidad de enfocarse en el tejido diana, aunque la penetrabilidad en tejido no es tan profunda como en el caso del ultrasonido.
- El **ultrasonido** se considera uno de los desencadenantes más prometedores para los nanosistemas de administración de fármacos. La razón de tal interés se basa en su capacidad para penetrar de manera no invasiva en los tejidos vivos sin dañarlos y en su elevado control espacio-temporal que permite conseguir una aplicación segura.
- Las diferencias en el **potencial Redox** entre el entorno extracelular e intracelular junto con alteraciones en la producción de glutatión reducido (GSH) o especies reactivas de oxígeno (ROS), permiten el desarrollo y el uso de sistemas de liberación de fármacos para aplicaciones biomédicas. (26, 31)



**Figura 12.** Esquema de la liberación del fármaco desde las nanopartículas de sílice mesoporosas, es una liberación estímulo-respuesta. Imagen tomada de Ref.(26)

## 6 CONCLUSIONES

El incremento de las resistencias a los antibióticos hace necesario buscar nuevas alternativas y enfoques para el tratamiento de patógenos bacterianos infecciosos. La nanotecnología, a través del uso de las nanopartículas, ha demostrado tener un gran potencial para atacar y destruir selectivamente a las superbacterias además de ser una alternativa factible para evitar agotar los antibióticos como primera opción.

Considerando que el tratamiento de dichas infecciones le supone a la Unión Europea (UE) un coste anual de 1.500 millones de euros (32), parece más que lógico comprender que el futuro pasa por invertir en mayor medida en investigación. A pesar de que el Producto Interior Bruto dedicado a I+D+I por parte de los países miembros de la UE ha aumentado con respecto a años anteriores, este sigue siendo bajo (2,07% del PIB) (33).

Para finalizar quiero resaltar la importancia de considerar a los nanomateriales como parte indiscutible de la solución a este problema. Aún queda mucho camino por recorrer en el ámbito de la nanotecnología y puesto que todavía estamos a tiempo, debemos darnos cuenta de que solo apostando por la ciencia e innovación se podrán evitar innumerables muertes anuales a causa de las bacterias resistencias a antibióticos, al mismo tiempo que se conseguirá un ahorro económico importante en los Sistemas Sanitarios de los diferentes países.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

1. Lizarazo-Salcedo CG, González-Jiménez EE, Arias-Portela CY, Guarguati-Ariza J. Nanomateriales: un acercamiento a lo básico. *Med Segur Trab.* **2018**;64(251):109–118.
2. Bhattacharya R, Mukherjee P. Biological properties of “naked” metal nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev.* **2008**;60(11):1289–1306.
3. Gómez Garzón M. Usos terapéuticos de nanomateriales y nanopartículas. *Rev Repert Med y Cirugía.* **2019**;28(1):5–11.
4. O’Neill J. Tackling drug-resistant infections globally. *Arch Pharm Pract.* **2016**;7(3):1–80.
5. Betancur Henao CP, Hernández Montes V, Buitrago Sierra R. Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. *Rev Cuba Investig Biomed.* **2016**;35(4):366–381.
6. Wang L, Hu C, Shao L. The-antimicrobial activity of nanoparticles present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine.* **2017**;12(1):1227–1249.
7. Vallet-Regí M, González B, Izquierdo-Barba I. Nanomaterials as promising alternative in the infection treatment. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**;20:1–18.
8. Colilla M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. The Role of Zwitterionic Materials in the Fight against Proteins and Bacteria. *Medicines.* **2018**;5(4):1–13.
9. Nicoloff H, Andersson DI. Indirect resistance to several classes of antibiotics in cocultures with resistant bacteria expressing antibiotic-modifying or -degrading enzymes. *J Antimicrob Chemother.* **2016**;71(1):100–110.
10. Shah FA, Thomsen P, Palmquist A. Osseointegration and current interpretations of the bone-implant interface. *Acta Biomater.* **2019**;84:1–15.
11. Zhang P, Sun F, Liu S, Jiang S. Anti-PEG antibodies in the clinic: Current issues and beyond PEGylation. *J Control Release.* **2016**;244:184–193.
12. Encinas N, Angulo M, Astorga C, Colilla M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. Mixed-charge pseudo-zwitterionic mesoporous silica nanoparticles with low-fouling and reduced cell uptake properties. *Acta Biomater.* **2019**;84:317–327.
13. Rosen JE, Gu FX. Surface functionalization of silica nanoparticles with cysteine: A low-fouling zwitterionic surface. *Langmuir.* **2011**;27(17):10507–10513.
14. Narendrakumar K, Kulkarni M, Addison O, Mazare A, Junkar I, Schmuki P, et al. Adherence of oral streptococci to nanostructured titanium surfaces. *Dent Mater.* **2015**;31(12):1460–1468.
15. Navarre WW, Schneewind O. Surface Proteins of Gram-Positive Bacteria and Mechanisms of Their Targeting to the Cell Wall Envelope. *Microbiol Mol Biol Rev.* **1999**;63(1):174–229.
16. Huh AJ, Kwon YJ. “Nanoantibiotics”: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J Control Release.* **2011**;156(2):128–145.
17. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.* **2010**;28(11):580–588.
18. Dunn K, Edwards-Jones V. The role of Acticoat™ with nanocrystalline silver in the management of burns. *Int J Burns Trauma.* **2004**;30(1):81–88.

19. Xie K, Zhou Z, Guo Y, Wang L, Li G, Zhao S, et al. Osseointegration: Long-Term Prevention of Bacterial Infection and Enhanced Osteoinductivity of a Hybrid Coating with Selective Silver Toxicity. *Adv Healthc. Mater.* **2019**;8(5):1801465.
20. Trop M, Novak M, Rodl S, Hellbom B, Kroell W, Goessler W. Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *J Trauma - Inj Infect Crit Care.* **2006**;60(3):648–652.
21. Tamayo L, Palza H, Bejarano J, Zapata PA. Polymer Composites With Metal Nanoparticles: Synthesis, Properties, and Applications. En: Krzysztof P, editor. *Polymer Composites with Functionalized Nanoparticles: Synthesis, Properties, and Applications.* Amsterdam: Elsevier Inc.; **2018.** 249–286.
22. Zhao Y, Guo Q, Dai X, Wei X, Yu Y, Chen X, et al. A Biomimetic Non-Antibiotic Approach to Eradicate Drug-Resistant Infections. *Adv Mater.* **2019**;31(7):1–32.
23. Martínez A, Álvarez R, Marzán LM. Nanoplasmónica basada en Química Coloidal. *An Quím.* **2011**;107(3):221–228.
24. Arias LS, Pessan JP, Vieira APM, De Lima TMT, Delbem ACB, Monteiro DR. Iron oxide nanoparticles for biomedical applications: A perspective on synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity. *Antibiotics.* **2018**;7(2):1–13.
25. Chaurasia AK, Thorat ND, Tandon A, Kim JH, Park SH, Kim KK. Coupling of radiofrequency with magnetic nanoparticles treatment as an alternative physical antibacterial strategy against multiple drug resistant bacteria. *Sci Rep.* **2016**;6:1–13.
26. Colilla M, González B, Vallet-Regí M. Mesoporous silica nanoparticles for the design of smart delivery nanodevices. *Biomater Sci.* **2013**;1(2):114–134.
27. Krogstad EA, Woodrow KA. Manufacturing scale-up of electrospun poly(vinyl alcohol) fibers containing tenofovir for vaginal drug delivery. *Int J Pharm.* **2014**;475(1):282–291.
28. Kharaghani D, Gitigard P, Ohtani H, Kim KO, Ullah S, Saito Y, et al. Design and characterization of dual drug delivery based on in-situ assembled PVA/PAN core-shell nanofibers for wound dressing application. *Sci Rep.* **2019**;9(1):1–10.
29. Alharbi HF, Luqman M, Khalil KA, Elnakady YA, Abd-Elkader OH, Rady AM, et al. Fabrication of core-shell structured nanofibers of poly (lactic acid) and poly (vinyl alcohol) by coaxial electrospinning for tissue engineering. *Eur Polym J.* **2018**;98:483–491.
30. González B, Colilla M, Díez J, Pedraza D, Guembe M, Izquierdo-Barba I, et al. Mesoporous silica nanoparticles decorated with polycationic dendrimers for infection treatment. *Acta Biomater.* **2018**;68:261–271.
31. Castillo RR, Lozano D, González B, Manzano M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. Advances in mesoporous silica nanoparticles for targeted stimuli-responsive drug delivery: an update. *Expert Opin Drug Deliv.* **2019**;16(4):415–439.
32. AEMPS. Plan Nacional Frente a la Resistencia a los Antibióticos 2019-2021. Agencia Española Medicam y Prod Sanit. **2019**;1:2–35.
33. Eurostat. R&D expenditure in the EU increased slightly to 2.07% of GDP in 2017. *Eur Comm.* **2019**;1:1–5.