



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**“NUEVAS APROXIMACIONES EN
NANOMEDICINA CONTRA BACTERIAS
MULTIRRESISTENTES: NANOPARTÍCULAS
INORGÁNICAS”**

Autor: Paloma Álvarez Sebastián

Fecha: Convocatoria Febrero 2020

Tutor: Fernando Herranz Rabanal

RESUMEN

En las últimas décadas, la resistencia a antibióticos se ha convertido en uno de los principales problemas de salud pública a nivel global. La gran flexibilidad genética de las bacterias, la presión selectiva que ejercen los antibióticos sobre las mismas, así como su uso excesivo e indiscriminado, han dado lugar a la aparición y perpetuación de cepas resistentes a los agentes antimicrobianos convencionales. Esta situación de emergencia, unida al escaso desarrollo de nuevos antibióticos y a la pérdida de eficacia de los ya existentes, nos empuja inevitablemente a investigar nuevos fármacos que permitan tratar las infecciones causadas por estos microorganismos. Varias estrategias han surgido a lo largo de estos años en un intento por paliar este problema, de entre las cuales podemos destacar los nanomateriales y, en concreto, las nanopartículas. Sus características físico-químicas y su actividad antimicrobiana intrínseca las convierten en una herramienta potencial y prometedora contra las bacterias multirresistentes. Estas nanopartículas presentan numerosas ventajas frente a los antibióticos tradicionales, pudiendo ser utilizadas tanto como nano-fármacos en monoterapia, en asociación sinérgica con otros compuestos antimicrobianos, o bien como vehículos o “nano-carriers”, mejorando las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de los antibióticos que transportan.

Palabras clave: nanomedicina, nanopartículas, bacterias multirresistentes, resistencia a antibióticos, nanopartículas metálicas.

ABSTRACT

In the past few decades, the emergence of multidrug-resistant bacteria has become one of the most concerning public health problems worldwide. The great genetic flexibility of the bacteria, combined with the selection pressure exerted by antibiotics and their excessive and indiscriminate use, has led to the appearance and perpetuation of antibiotic resistance. This situation of emergency, aggravated by the lack of new antibiotics and the loss of efficacy of those already in clinical use, inevitably pushes us to develop new drugs in order to cope with MDR bacteria. Several strategies are being investigated for this purpose, for example, bacteriophage particles, CRISPR–Cas techniques, and nanotechnology. Due to their physicochemical properties and intrinsic antimicrobial activity, nanoparticles represent a promising tool to combat antibiotic resistance. These nanomaterials can be used alone as nano-drugs or in synergistic association with other antimicrobial compounds. In addition, they exhibit promising results as nano-carriers of antibiotics, improving their pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics.

Keywords: nanomedicine, nanoparticles, MDR bacteria, antibiotic resistance, metallic nanoparticles.

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de la penicilina en el año 1928 por parte de Alexander Fleming supuso el primer paso en lo que sería uno de los grandes hitos en la medicina del siglo XX: el desarrollo y uso de antibióticos. Desde entonces, estos fármacos se han convertido en una herramienta básica, necesaria y, generalmente, eficaz en la práctica clínica diaria para la prevención y el tratamiento de infecciones bacterianas. Sin embargo, en los últimos años, y en parte como consecuencia de un uso excesivo e indiscriminado de los mismos, la aparición y perpetuación de cepas resistentes a antibióticos se ha convertido en uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Según la OMS, dicha resistencia está presente actualmente en 22 países, y se estima que afecta a medio millón de personas alrededor del planeta, causando la muerte de unas 50.000 personas al año en EEUU y Europa. Es tal la magnitud del problema que el macroeconomista Jim O'Neill calcula que, si la situación no mejora, en el año 2050 las muertes provocadas por bacterias multirresistentes alcanzarán cifras cercanas a los 10 millones, superando así en número a aquellas causadas por todos los tipos de cáncer (aproximadamente 8,2 millones). (1-3)

Con este panorama, y junto al escaso desarrollo de nuevos antibióticos, surge la necesidad de buscar nuevas tecnologías y estrategias terapéuticas. Entre ellas destacan los bacteriófagos, los sistemas CRISPR-Cas y los nanomateriales, que podrían ser utilizadas tanto individualmente como en combinación. Sin embargo, la comunidad científica coincide en que no existen perspectivas de futuro que aseguren la introducción en la práctica clínica de nuevos antimicrobianos a corto plazo. Es por ello que la recomendación principal para evitar la propagación de cepas multirresistentes reside en el uso racional de los antibióticos convencionales ya existentes, así como su integración con técnicas que potencien su actividad. (4)

La nanotecnología es un campo multidisciplinario que integra diferentes áreas científicas como la biología, la química y la física con el objetivo de desarrollar materiales funcionales a escala "nano". Los recientes avances en este campo han permitido la síntesis de nuevas y novedosas nanoestructuras con propiedades físico-químicas y biológicas que difieren significativamente del resto de materiales a mayor escala, y que

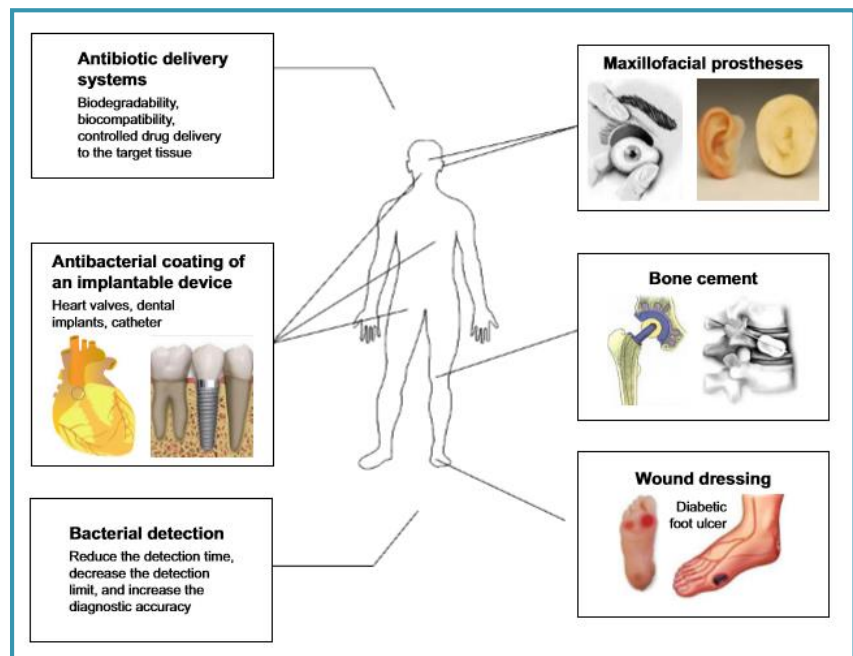


Figura 1. Principales aplicaciones biomédicas de los nanomateriales.

cuentan con interesantísimas aplicaciones industriales y biomédicas. Así, en la última década, debido también en parte a la necesidad clínica cada vez mayor de nuevos antibióticos, ha surgido un gran interés por investigar y desarrollar nanomateriales con el propósito de acabar con el gran problema de salud pública de este siglo: las bacterias multirresistentes. Si bien existen numerosas nanoestructuras susceptibles de convertirse en armas contra la resistencia a antibióticos, como los nanotubos de carbono, las nanoemulsiones o los fullerenos, se han hecho grandes esfuerzos especialmente en la evaluación y reevaluación de las nanopartículas inorgánicas derivadas de metales nobles como la plata y el oro, gracias a sus propiedades únicas y sus prometedoras aplicaciones. Estas nanopartículas serán nuestro objeto de estudio en esta revisión bibliográfica. (5)

OBJETIVOS

Los objetivos de esta revisión bibliográfica son:

1. Revisar los diferentes mecanismos de resistencia a antibióticos y cómo las nanopartículas pueden evitarlos.
2. Analizar el panorama actual en cuanto al desarrollo de nanopartículas con actividad antibiótica intrínseca o como nano-carriers de antimicrobianos.
3. Conocer las ventajas e inconvenientes de su potencial uso clínico, así como la eventual toxicidad o desarrollo de resistencia a las mismas por parte de las bacterias.
4. Realizar una clasificación sistemática de las nanopartículas inorgánicas actualmente en investigación para este cometido, centrándonos en aquellas de mayor relevancia o interés.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con la finalidad de alcanzar los objetivos propuestos, se realizó una búsqueda bibliográfica mediante la utilización de diferentes bibliotecas y bases de datos entre las que encontramos: Pubmed (NCBI), Medline, Up To Date, Elsevier y ClinicalKey, entre otras. La búsqueda se llevó a cabo en inglés, utilizando palabras clave como “Antibiotic resistance”, “MDR bacteria”, “Nanocarriers”, “Nanoparticles” y “Metallic nanoparticles”.

Posteriormente, se seleccionaron y estudiaron los artículos de interés. En cuanto a los criterios de selección, y debido a la naturaleza relativamente novedosa del objeto de estudio, se restringió la búsqueda a aquellas publicaciones disponibles en lengua inglesa o castellana publicadas en los últimos 20 años.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mecanismos de resistencia a antibióticos

Desde un punto de vista biológico, la resistencia a antibióticos es esencialmente un resultado de la selección natural. Como en cualquier ser vivo, las variaciones genéticas en las poblaciones bacterianas conducen a mutaciones que les confieren unas determinadas

características. Si estas características son favorables para su supervivencia en presencia de agentes antibacterianos, estaremos ante la aparición de bacterias resistentes.

Podemos distinguir entre dos tipos de resistencia: la intrínseca, derivada de las características que presenta la bacteria *per se*, y la adquirida. Esta última es la que más nos concierne desde un punto de vista clínico, ya que se debe a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutaciones o por mecanismos de transferencia genética horizontal. Es por ello que también podemos hablar de “resistencia transmisible” en tanto que existen bacterias que pueden transferirse información genética por medio de plásmidos, trasposones e integrones.

Los mecanismos que conducen a esta resistencia son múltiples y variados. A grandes rasgos, podemos dividirlos en tres grupos: a) inactivación enzimática del antibiótico (por ejemplo, las β -lactamasas), b) modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico a la diana (por ejemplo, bombas de eflujo o alteraciones en las porinas de la pared celular) y c) alteración de la diana por parte de la bacteria (por ejemplo, modificaciones en la ADN girasa o en las PBP). (6)

Otros fenotipos más complejos, como la formación de biofilms (comunidades complejas de microorganismos que crecen embebidos en una matriz orgánica polimérica secretada por ellos mismos) y el *quorum sensing* (mecanismo de regulación de la expresión génica en respuesta a la densidad de población), no aparecen como resultado de la exposición de las bacterias a los antibióticos. De todos modos, si bien la formación de biofilms no es consecuencia directa de la exposición a antibacterianos, puede ser inducida por los mismos, por lo que constituye en sí misma una dificultad añadida al tratamiento de estas infecciones, ya que dotan a las bacterias de una protección extra que genera indirectamente una resistencia tanto a los antibióticos como al sistema inmune del huésped. (7,8)

La nanotecnología como posible solución a la resistencia a antibióticos

La Organización Internacional para la Normalización (International Organization for Standardization, ISO) define a las nanopartículas como un nano-objeto con sus tres dimensiones espaciales en la escala nano, en un rango de 1-100 nm. El término “nano” engloba a su vez numerosas áreas científicas y técnicas, así como diferentes procesos o propiedades, que se desarrollan a un nivel nano o micro. (9)

En los últimos años, los nanomateriales se han convertido en una herramienta potencialmente útil para luchar contra las bacterias multirresistentes, utilizándose bien como nano-fármacos en monoterapia, o bien en sinergismo con otros compuestos antimicrobianos. Además, estos nanomateriales también pueden actuar como sistemas de liberación de fármacos, aumentando la eficacia terapéutica y mejorando las características farmacocinéticas y farmacodinámicas. Gracias a sus propiedades físico-químicas únicas, a la par que sus múltiples mecanismos antimicrobianos, los nanomateriales representan una herramienta prometedora para acabar con la resistencia a antibióticos.

Dentro del amplio abanico de nanomateriales actualmente en investigación y desarrollo para el control de infecciones bacterianas encontramos: nanopartículas de metales nobles (AgNPs, AuNPs, ZnNPs, CuNPs, TiO₂ NPs, etc.); péptidos antimicrobianos y quitosano; fullerenos y derivados; nanotubos de carbono (CNTs); nanopartículas liberadoras de óxido nítrico; y nanoemulsiones basadas en surfactantes. Además, los liposomas, las nanopartículas de lípidos sólidos (SL NPs), las nanopartículas poliméricas o los dendrímeros,

también se postulan como nanomateriales eficientes para el transporte y la liberación de antibióticos. (10)

En los últimos años, han sido las nanopartículas metálicas y de óxidos metálicos las que más interés e investigación han suscitado. Estas nanopartículas (NPs) pueden ser sintetizadas a partir de metales y óxidos metálicos como el oro, la plata, el titanio, el zinc, el titanio, el óxido de plata, el óxido de zinc o el óxido de cobre. Numerosos estudios *in vitro* realizados durante las dos últimas décadas reportan que las NPs metálicas poseen propiedades antimicrobianas frente a un amplio espectro de especies bacterianas. Este hecho se debe en gran parte a las características especiales que presentan y que las diferencian de otros materiales de mayores dimensiones, como el gran ratio superficie/volumen, el pequeño tamaño de partícula y la estabilidad. Todos estos aspectos permiten a las NPs ejercer su actividad antibiótica mediante múltiples mecanismos, entre los que encontramos el daño a la membrana y la pared bacterianas, así como a proteínas y a componentes internos de la bacteria; la liberación de iones; la alteración del ADN; y el estrés oxidativo por producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). (11) A su vez, estas diferentes vías de acción antibiótica mediada por las NPs, dependen inherentemente de factores como los materiales de los que están compuestas, la forma, el tamaño o la funcionalización de su superficie con diversas moléculas. Así, y jugando con estas variables, podremos orientar la acción de las NPs hacia una vía u otra. (12)

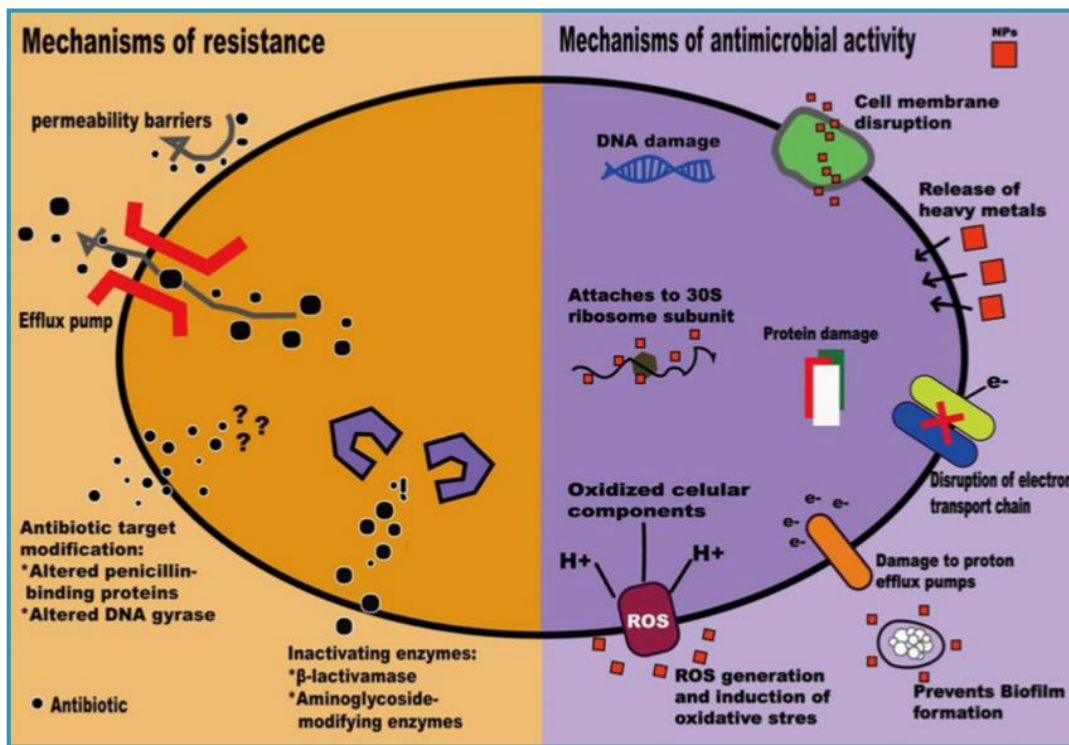


Figura 2. Mecanismos de resistencia a antibióticos y mecanismos de actividad antimicrobiana de las nanopartículas (NPs).

Las nanopartículas, además de poseer una actividad antimicrobiana intrínseca, pueden actuar como vehículos de antibióticos. Actualmente existen varias nanoestructuras utilizadas

como nano-carriers: nanopartículas liposomales, nanopartículas de lípidos sólidos (SL NPs), nanopartículas basadas en polímeros, micelas poliméricas, nanopartículas inorgánicas (NPs magnéticas, NPs de sílice mesoporosa, nanomateriales derivados del carbono, nanodots o nanopartículas basadas en terpenoides y dendrímeros, por ejemplo. Las principales ventajas que presentan los nano-carriers de antibióticos se derivan de su pequeño tamaño. Esto les permite, entre otras cosas, atacar a bacterias intracelulares de difícil tratamiento por la baja permeabilidad de membrana, así como a sortear diferentes mecanismos de resistencia. (13)

🌟 **Ventajas e inconvenientes de las nanopartículas como agentes antibacterianos**

La principal diferencia entre los antibióticos convencionales y los nanomateriales, además de las características físico-químicas, es que estos últimos aúnan en una misma estructura múltiples mecanismos de acción y dianas, reduciéndose significativamente la aparición de resistencias. Además, pueden actuar como vehículos de antibióticos, mejorando las características farmacocinéticas y la eficacia terapéutica. Sin embargo, no todo son ventajas, ya que las nanopartículas también presentan inconvenientes como la nanotoxicidad o la elevada exposición sistémica tras administración local, que podrían limitar su uso como herramientas contra la resistencia a antibióticos. (10,14,15)

Nanopartículas antimicrobianas		Antibióticos convencionales	
Ventajas	Acumulación específica en el lugar de acción (targeted drug delivery)	Inconvenientes	No acumulación específica
	Menos efectos adversos		Numerosos efectos adversos
	Menor aparición de resistencias		Gran incidencia de resistencias
	Mayor duración de efecto terapéutico debido a eliminación lenta		Baja semivida por rápida eliminación
	Liberación controlada		Características farmacocinéticas convencionales
	Margen terapéutico amplio		Margen terapéutico estrecho
	Mejor solubilidad		En ocasiones, baja solubilidad
Inconvenientes	Baja inmunosupresión	Ventajas	Inmunosupresión
	Acumulación de NPs inyectadas por vía intravenosa en órganos y tejidos		Ausencia de nanomateriales en todo el organismo
	Alta exposición sistémica a NPs administradas localmente		Baja exposición sistémica tras administración local
	Nanotoxicidad (pulmón, riñón, hígado, cerebro...)		Ausencia de nanotoxicidad
Inconvenientes	Falta de técnicas de caracterización compatibles con las propiedades de las NPs	Ventajas	Existencia de técnicas de caracterización adecuadas

Tabla 1. Principales ventajas e inconvenientes de las nanopartículas frente a antibióticos convencionales.

🌟 **Mecanismos de acción de las NPs metálicas contra células bacterianas**

Los mecanismos más comunes de acción antibacteriana por parte de los antibióticos convencionales son la inhibición de la síntesis de la pared celular y de la expresión de

proteínas esenciales, y el bloqueo de la replicación del ADN. Sin embargo, debido a la presión selectiva que ejercen los antibióticos, así como al uso no racional de los mismos, las bacterias desarrollan resistencias a estos quimioterápicos. Por ejemplo, ciertas bacterias modifican la composición de su pared celular para evitar la acción de la vancomicina, alteran la estructura ribosomal para adquirir resistencia a las tetraciclinas, o sobre-expresan enzimas como las β -lactamasas para degradar los antibióticos β -lactámicos. Otras estrategias, como la modulación de la expresión de genes o la recepción de vectores de otras bacterias multiresistentes, dificultan aún más la implantación de tratamientos antibióticos eficaces. (10)

Las nanopartículas (NPs) ejercen su actividad antibacteriana por múltiples mecanismos, de entre los cuales destacan:

- 1) Interacción directa con la pared celular bacteriana y ruptura de la misma,
- 2) Inhibición de la formación de biofilms,
- 3) Desencadenamiento de la respuesta inmune innata o adaptativa en el huésped,
- 4) Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS),
- 5) Inducción de efectos intracelulares (por ejemplo, interacciones con el ADN y/o proteínas).

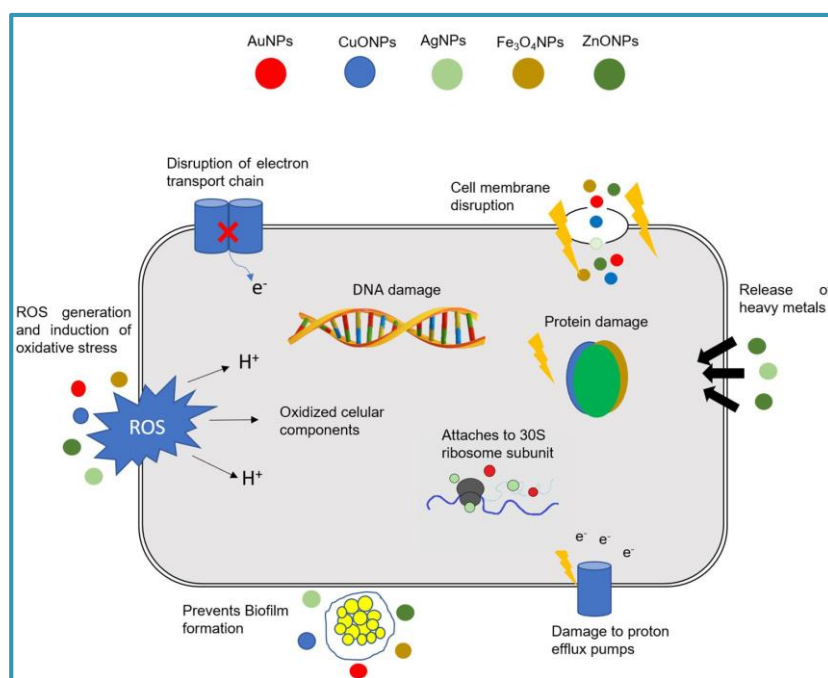


Figura 3. Principales mecanismos de acción antibacteriana de las nanopartículas.

Gracias a que presentan múltiples mecanismos de acción que difieren de aquellos de los antibióticos convencionales, las NPs suponen una estrategia prometedora para la lucha contra las bacterias multiresistentes. (14)

🌟 Nanopartículas con actividad antibacteriana intrínseca

A) Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas que contienen Ag, Au, Zn, Cu, Ti, Mg, Ni, Ce, Se, Al, Cd, Pd y Fe superparamagnético han demostrado poseer una actividad antibacteriana *in vitro* capaz de combatir a diversas especies multiresistentes como las que conforman el grupo ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp. Entre ellas, son las nanopartículas de plata y sus iones las que resultan más tóxicas para las bacterias. (16)

Estas nanopartículas basadas en metales (MNPs) son partículas coloidales con propiedades exclusivas que las diferencian de los materiales a mayor escala, como el comportamiento óptico específico, la conductividad eléctrica y la gran estabilidad térmica y

química. Además, otra gran ventaja se deriva de su habilidad para formar bioconjugados, de manera que funcionalizando su superficie con diferentes moléculas pueden actuar como excelentes sistemas de liberación de fármacos. Por el contrario, una de las limitaciones que presentan las nanopartículas metálicas es su baja estabilidad en suspensión – por ejemplo, en medios ricos en bacterias como los cultivos-, que conduce en ocasiones a su agregación y a la pérdida de su actividad antimicrobiana. (13)

1. Nanopartículas de plata (AgNPs)

Durante los últimos años, las nanopartículas de plata (AgNPs) se han convertido en una de los nanomateriales más investigados en el campo de la nanotecnología. Este hecho se debe a que presentan unas características únicas – por ejemplo, su excelente conductividad eléctrica, su gran estabilidad química, así como sus propiedades antibacterianas, antivíricas y antifúngicas – que las convierten en objeto de aplicaciones de gran interés. (17) Gracias a estas propiedades, las AgNPs son capaces de interactuar con virus, bacterias y hongos de diversas maneras. Por ejemplo, se ha observado que las AgNPs con un tamaño de partícula de 5-20 nm son capaces de disminuir la replicación del HIV-1. (18)

Actualmente, las AgNPs se utilizan en áreas tan variadas como la industria textil y agro-alimentaria, los productos sanitarios, la cosmética, la catálisis química o el tratamiento de aguas. Sin embargo, son sus aplicaciones biomédicas las que resultan más prometedoras, y donde entra en juego su potencial uso como agentes antimicrobianos contra bacterias multirresistentes.

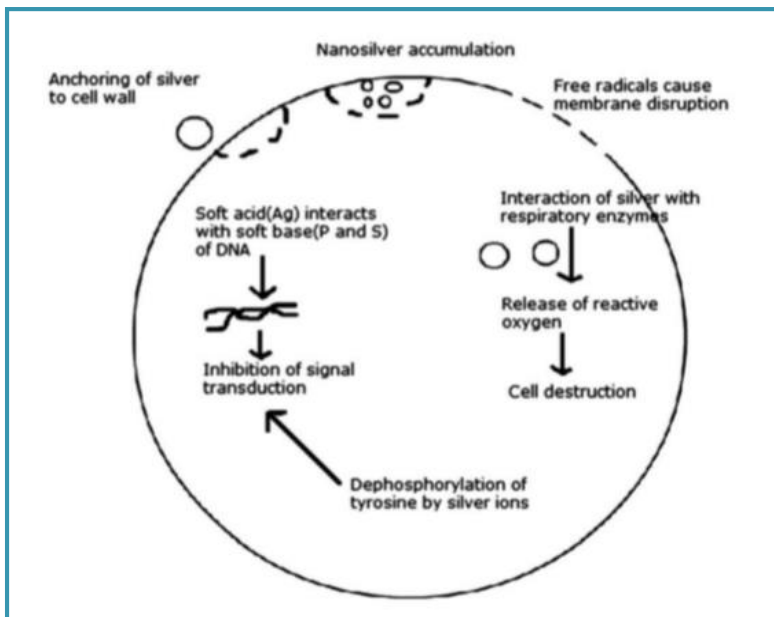


Figura 4. Mecanismos de acción de AgNPs contra células bacterianas

Si bien se han realizado grandes esfuerzos para conocer los mecanismos de acción implicados en la actividad antibacteriana intrínseca de las AgNPs, éstos no se conocen de manera precisa y completa a día de hoy. Varios mecanismos han sido propuestos para entender cómo estas nanopartículas producen la muerte celular de la bacteria: a) alteración de la pared celular bacteriana, b) oxidación de componentes celulares, c) inactivación de las enzimas implicadas en la cadena respiratoria, d) producción de ROS, y e) descomposición de componentes celulares. (14)

Además, la oxidación de la plata en el medio biológico conduce a la continua liberación de iones Ag^+ , los cuales se unen a proteínas con contenido en tioles, alterando sus funciones

y favoreciendo la producción de ROS, contribuyendo así al daño oxidativo en la célula. (15,19)

El poder bactericida de las AgNPs se ve enormemente modificado por el tamaño de partícula, la forma, la concentración y el estado coloidal. Así, las AgNPs de menor tamaño parecen poseer una mayor biocompatibilidad y estabilidad. Por ejemplo, los efectos antibacterianos de las AgNPs sobre *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae* se ven aumentados cuando el tamaño de partícula es <30 nm. En otro estudio, AgNPs de 5-10 nm exhibieron una actividad bactericida y bacteriostática frente a *S. aureus*, *S. aureus* susceptible a meticilina (MSSA) y *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA). (18)

En cuanto a su uso en combinación con antibióticos convencionales, se realizó un elaborado estudio analizando el poder antimicrobiano de las AgNPs y la amoxicilina en solitario o en combinación frente a *Escherichia coli*, descubriéndose que la combinación de ambos daba lugar a un efecto sinérgico, reduciéndose significativamente el crecimiento bacteriano. En cuanto a los mecanismos de sinergia, Li et al. proponen que los antibióticos tienen como diana diferentes puntos en la superficie celular, mientras que las AgNPs inducen daños a nivel del ADN por quelación; y sugieren además que la naturaleza hidrofóbica de las AgNPs potencia la interacción con los componentes de la membrana bacteriana, facilitando así la penetración y la acción de la amoxicilina. Durán et al. consideran que el sinergismo entre la amoxicilina y las AgNPs se debe a la formación de puentes sulfuro entre las moléculas de amoxicilina y las AgNPs. (20)

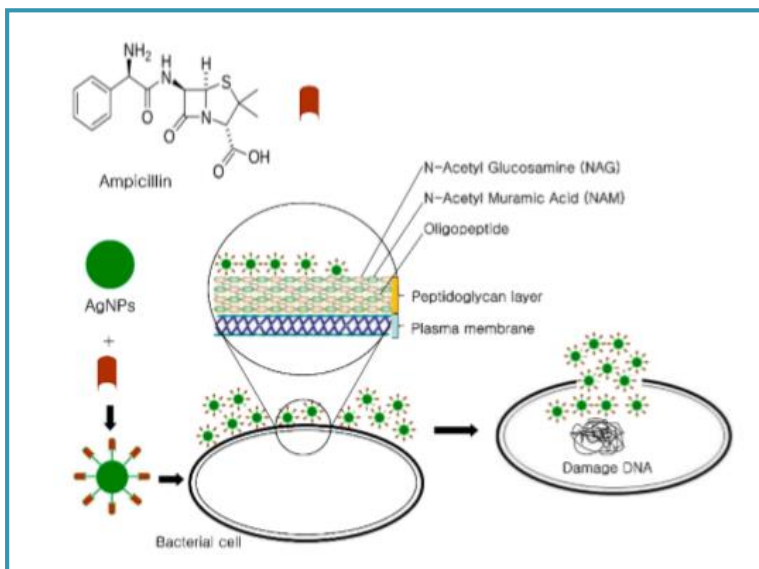


Figura 5. Mecanismos propuestos para las combinaciones de ampicilina con AgNPs.

Por su parte, Fayaz et al. sintetizaron AgNPs de 5-40 nm polidispersadas cargadas con diferentes antibióticos y confirmaron la potenciación de su actividad antibacteriana frente a bacterias Gram+ y Gram-. La ampicilina fue el antibiótico que mostró el mayor efecto en combinación con las AgNPs, gracias a la inhibición de la formación de enlaces en la capa de peptidoglicanos de la pared bacteriana y al impedir el desenrollamiento óptimo de las hebras de ADN. Los mecanismos propuestos para esta sinergia ampicilina-AgNPs se muestran en la Figura 5. (21)

2. Nanopartículas de oro (AuNPs)

El oro metálico es estable frente a la oxidación en el medio biológico, lo que le convierte en un material biocompatible y no tóxico. Si bien no existen tantos estudios realizados en relación a su actividad antimicrobiana como en el caso de las AgNPs, las AuNPs y los

nanoclusters de Au poseen actividad catalítica análoga a la de varias enzimas como la peroxidasa, la glucosa oxidasa y/o la superóxido dismutasa. Esto provoca un aumento en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que conducen a su vez a daños por estrés oxidativo en la célula bacteriana. Además, las AuNPs pueden unirse irreversiblemente a los grupos tiol de diversas proteínas como la NADH deshidrogenasa, afectando al equilibrio redox de la cadena respiratoria y generando consecuentemente un estrés oxidativo en la célula bacteriana.

Por otro lado, las AuNPs poseen unas propiedades fototérmicas excelentes que les permiten absorber luz en el espectro cercano al infrarrojo (NIR), generando después calor que produce la muerte bacteriana o la ruptura de biofilms. (15)

Las AuNPs también se postulan como una revolución en los sistemas de liberación de fármacos cuando se conjugan con antibióticos en su superficie. Un ejemplo de ello son las AuNPs envueltas en cefaclor o cefotaxima, donde se observa un efecto sinérgico y un aumento de las concentraciones de dichos antibióticos en las bacterias. (18)

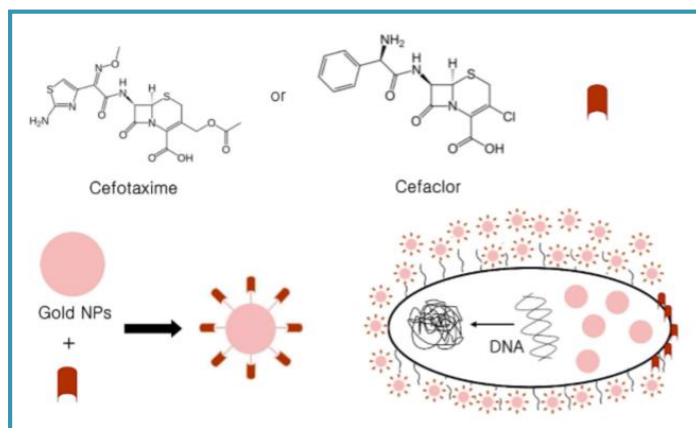


Figura 6. Mecanismos propuestos para la acción antibacteriana de AuNPs conjugadas con antibióticos.

3. Nanopartículas de óxidos metálicos

Al igual que en el caso de las metálicas, las nanopartículas de los óxidos de ciertos metales como el zinc (ZnO), el cobre (CuO), el titanio (TiO₂), el magnesio (MgO) o el hierro (FeO₃), también presentan una actividad antimicrobiana sobre un amplio rango de bacterias Gram+ y Gram-, incluyendo cepas multirresistentes. La actividad antibacteriana de estas nanopartículas se relaciona generalmente con la producción de ROS, con su actividad fotocatalítica intrínseca y con la liberación de iones metálicos. (15) Las principales características de las nanopartículas de óxidos metálicos más relevantes se recogen más adelante en la **Tabla 2**.

B) Nanopartículas liberadoras de óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) se caracteriza por tener una corta semivida plasmática, ser altamente reactivo, y ser capaz de atravesar las membranas celulares gracias a su naturaleza lipídica. Además, puede difundir rápidamente desde el lugar donde se produce hasta zonas con baja concentración, es decir, a favor de gradiente. Actualmente, los efectos antimicrobianos del NO se encuentran todavía en vías de investigación. Aunque el NO ya constituye a nivel fisiológico un importante mecanismo de defensa frente a patógenos invasores, sus aplicaciones terapéuticas se ven limitadas por la falta de un sistema de liberación adecuado y práctico. Aun así, se trata de una estrategia que ha presentado

resultados prometedores en cuanto al tratamiento de infecciones de tejidos profundos y abscesos, tanto vía tópica como por vía parenteral, gracias a su gran capacidad de difusión. (18)

🌟 **Nanocarriers: nanopartículas como vehículos de antibióticos**

Una estrategia alternativa para acabar con las bacterias multirresistentes es el uso de las nanopartículas como vehículos de agentes antimicrobianos como los antibióticos convencionales u otras nanopartículas bactericidas. Los fines de esta estrategia son, principalmente, evitar la degradación del principio activo, potenciar su efectividad y mejorar su biodisponibilidad. El nanocarrier permite liberar el compuesto antimicrobiano que contiene de forma controlada y continua, lo cual es útil para mantener las concentraciones de fármaco en sangre en niveles óptimos durante un determinado período de tiempo. Además, las nanopartículas como vehículos ofrecen la posibilidad de transportar varios antibióticos a la vez y de actuar en forma de terapia combinada utilizando varias nanopartículas en un mismo nanosistema de liberación. Por otro lado, la superficie de los nanocarriers puede ser modificada y funcionalizada con diversas moléculas para acudir específicamente al lugar de la infección una vez instaurada, lo cual permite un “targeting” selectivo y un aumento de las concentraciones de antibiótico en la diana. (15)

A) Nanopartículas de sílice mesoporosas

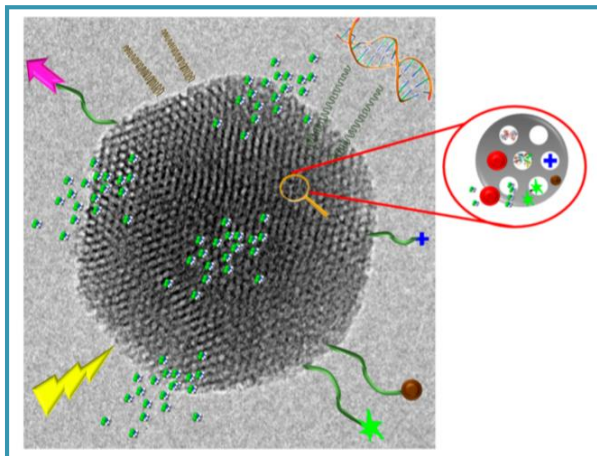


Figura 7. Representación esquemática de la versatilidad y la funcionalización de las nanopartículas de sílice mesoporosas (MSNs).

Entre los diferentes nanocarriers que pueden ser utilizados como sistemas de liberación inorgánicos de fármacos, son las nanopartículas de sílice mesoporosas (MSNs) las que muestran resultados más prometedores. Las principales ventajas que presentan son su alta capacidad de carga, la biocompatibilidad y la facilidad de producción. Además, las MSNs pueden ser fácilmente sintetizadas a gran escala, y muestran una gran versatilidad según los diferentes tamaños, morfologías, diámetros de poro y funcionalizaciones de superficie que presenten, lo que nos permite utilizarlas para diversos cometidos atendiendo a sus propiedades. (22)

En la Figura 7. se plasma esquemáticamente la versatilidad y la funcionalidad de las MSNs. Sobre una imagen obtenida por TEM de una MSN de 150 nm de diámetro, los dibujos representan la capacidad de carga, el targeting selectivo y la posibilidad de respuesta a estímulos de las MSNs.

En un principio, estos nanocarriers suscitaron un gran interés en el tratamiento del cáncer gracias al diseño de nanomateriales “inteligentes” que responden a ciertos estímulos, que atacan selectivamente a células cancerígenas y que penetran en las áreas más profundas de los tumores. Actualmente, estas nanopartículas constituyen también una

estrategia prometedora y novedosa para acabar con las infecciones bacterianas, ya que mediante la utilización de nanovehículos cargados con antibióticos se aumenta la penetración del fármaco a través de la pared celular bacteriana y se potencia la efectividad del tratamiento. (15)

Estos nanosistemas, también denominados “nanoantibióticos”, representan una estrategia efectiva para el manejo, entre otras, de infecciones óseas, generalmente de difícil tratamiento debido a la formación de biofilms. Un ejemplo de ello es el uso de MSNs cargadas con levofloxacin (LEVO) como agente antimicrobiano, y funcionalizadas con N-(2-aminoetil)-3-aminopropilmetilsilano como agente de “targeting” selectivo. Esta funcionalización con aminos provee a la MSNs de cargas positivas que mejoran la afinidad hacia los biofilms y las paredes celulares bacterianas, que presentan cargas negativas. Así, y tras una caracterización físico-química, se estudiaron los perfiles de liberación y la efectividad antimicrobiana *in vitro* de dichas LEVO-MSNs a diferentes dosis. Se determinó también la eficacia de este nanoantibiótico frente a biofilms de *S. aureus*, mostrando una destrucción prácticamente total del biofilm debido a la gran capacidad de penetración en la bacteria del nanosistema. (23)

Por su parte, González et al. desarrollaron unas MSNs cargadas con levofloxacin (LEVO) en sus mesoporos y funcionalizadas con dendrímeros de polipropiliminina policatiónicos de tercera generación unidos covalentemente a su superficie. Esto dotaba al nanosistema de una capacidad de interacción con la membrana bacteriana. Se realizaron estudios de la cinética de liberación, de la eficacia antimicrobiana y de la internalización del nanoantibiótico. Los resultados obtenidos evidenciaron que los dendrímeros policatiónicos aumentaban la permeabilidad de la membrana de las bacterias Gram- y, por tanto, mejoraban la eficacia antimicrobiana del nanosistema sobre los biofilms formados por dichas bacterias. (24)

La formación de biofilms dificulta el tratamiento de infecciones crónicas y tiene serias implicaciones socio-económicas. Por este motivo, Martínez-Carmona et al. se centraron en la investigación de un nanocarrier capaz de superar la barrera que suponen las matrices de mucopolisacáridos que componen los biofilms. Desarrollaron un nuevo nanosistema basado en MSNs cargadas con LEVO y envueltas en lectina concanavalina A (ConA), donde la presencia de ConA promueve la

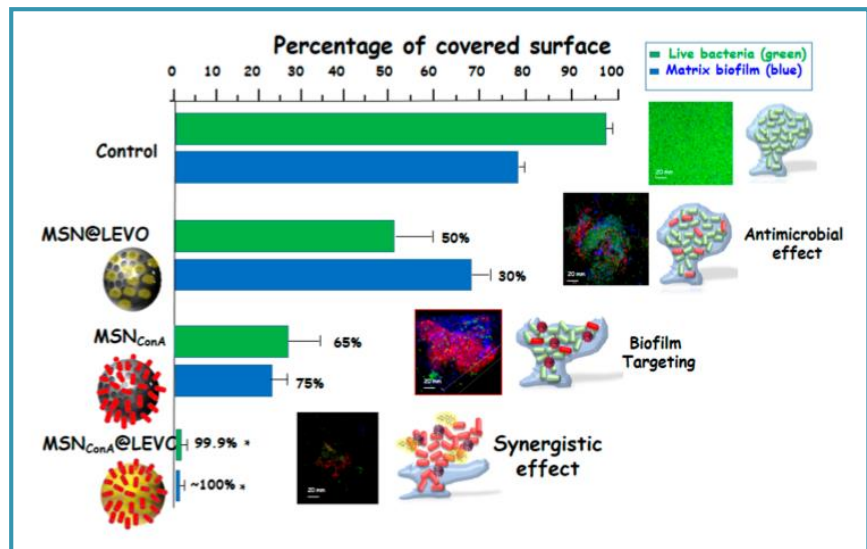


Figura 8. Eficacia antimicrobiana de MSNs como nanocarriers de un agente antimicrobiano (levofloxacin) y funcionalizadas con concanavalina A.

La presencia de ConA promueve la

internalización del nanosistema en la matriz del biofilm, aumentando la eficacia antimicrobiana del antibiótico embebido en los mesoporos. (25)

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia y el/la Tutor/a no se hacen responsables de la información contenida en el mismo.

Nanopartículas (NPs)	Tamaño	Bacterias susceptibles testadas	Mecanismos antibacterianos	Factores que afectan a la actividad antimicrobiana/toxicidad
Plata (AgNPs)	1-100 nm	<i>Staphylococcus epidermidis</i> , MRSA, Enterococcus resistente a vancomicina (VRE), organismos productores de β -lactamasas, <i>Escherichia coli</i> MDR, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>A. baumannii</i> resistente a carbapenems y polimixina, <i>P. aeruginosa</i> y <i>Enterobacteriaceae</i> (CRE) resistentes a carbapenems	Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), peroxidación lipídica, inhibición de citocromos en la cadena de transporte electrónico, desintegración de la membrana bacteriana, inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana, aumento de la permeabilidad de la membrana, disipación del gradiente de protones causando la lisis de la célula, adhesión a la superficie celular causando daño en lípidos y proteínas, desestabilización ribosómica, intercalación entre bases del ADN.	Tamaño y forma de la partícula
Oro (AuNPs)	1-100 nm	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina (MRSA)	Pérdida del potencial de membrana, inhibición de la cadena respiratoria, reducción de la actividad ATPasa, ruptura de la membrana celular, disminución de la unión del ARNt a la subunidad ribosomal, generación de poros en la pared celular	Aspereza y tamaño de la partícula
Cobre (CuNPs)	2-350 nm	<i>E.coli</i> MDR, <i>A. baumannii</i>	Disipación del potencial de membrana, generación de ROS, peroxidación lipídica,	Concentración y tamaño de la partícula

			oxidación protéica, degradación de ADN	
Aluminio (AlNPs)	10-100 nm	<i>E. coli</i>	Ruptura de la pared celular por generación de ROS	
Óxido de hierro	1-100 nm	<i>E. coli</i> MDR, <i>K. pneumoniae</i> , MRSA	Estrés oxidativo por generación de ROS: radicales superóxido (O ₂ ⁻), oxígeno singlete (1O ₂), radicales hidroxilo (OH ⁻), peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂)	Alta actividad química, tiende a la agregación y es oxidado por el aire, resultando en una pérdida del magnetismo y dispersabilidad
Óxido de zinc (ZnNPs)	10-100 nm	<i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>K. pneumoniae</i> , MRSA, <i>E. coli</i> productoras de ESBL, <i>K. pneumoniae</i>	Producción de ROS, ruptura de la membrana, adsorción a la superficie celular, daño en lípidos y proteínas	Concentración y tamaño de la partícula
Óxido de titanio (TiO₂NPs)	30-45 nm	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	Generación de ROS, adsorción a la superficie celular	Estructura cristalina, tamaño y forma de la partícula
Óxido de magnesio (MgONPs)	15-100 nm	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>	Generación de ROS, peroxidación lipídica, interacción electrostática, efecto alcalino	Tamaño de la partícula, concentración y pH
Sílice (SiNPs)	20-400 nm	MRSA	Ruptura de la pared celular por generación de ROS	Estabilidad, tamaño y forma de la partícula

Tabla 2. Resumen de las principales características de las nanopartículas con actividad antibacteriana.

❁ Características farmacocinéticas y farmacodinámicas de las NPs

La comprensión del perfil farmacocinético de las NPs es crucial para el control del riesgo y la bioseguridad en la práctica clínica. Los parámetros farmacocinéticos de las mismas dependen de numerosos factores, como el tipo o tamaño de partícula, la carga superficial, la unión a proteínas, la dosis o la especie animal.

La acción sistémica o local de las NPs, así como su toxicidad, van a estar directamente relacionadas con la ruta de administración y las características físico-químicas de las mismas. La eliminación de las NPs metálicas por vía urinaria y biliar es generalmente baja, lo que conduce a una duración de acción larga, pero también a una acumulación a nivel del hígado y el bazo, lo que puede producir efectos tóxicos. Además, al no sufrir una biodegradación en

componentes biológicos inocuos, se acumulan en los tejidos y esta toxicidad puede verse amplificada. (16)

La optimización de dosis es de vital importancia para minimizar la toxicidad y mejorar la respuesta terapéutica. Hasta ahora, y según los estudios realizados, las dosis de NPs que capaces de causar daño celular en bacterias *in vitro* son demasiado altas para ser aplicables *in vivo*, y los datos obtenidos de estudios animales no se pueden correlacionar directamente con los

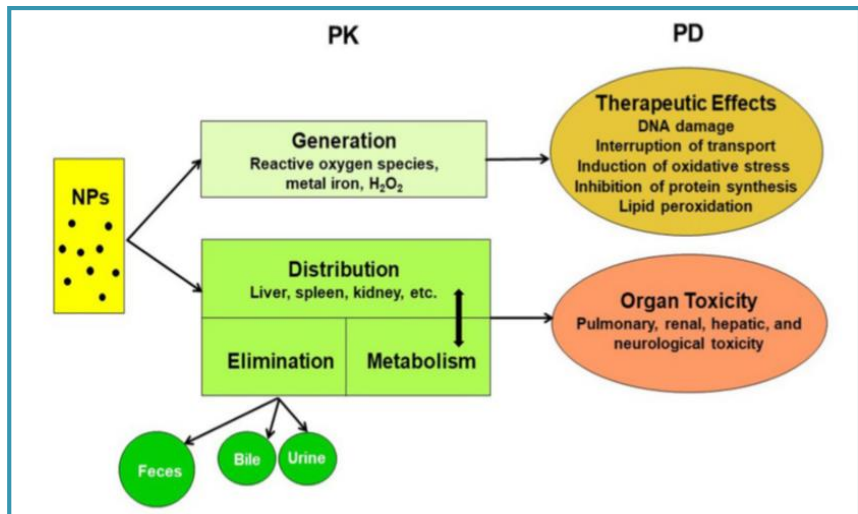


Figura 9. Características farmacocinéticas y farmacodinámicas de las nanopartículas (NPs).

esperados en humanos. Además, a la hora de seleccionar la dosis, deberá considerarse también que no todos los órganos presentan una misma tasa de captación de NPs, por lo que la distribución de las mismas en diferentes tejidos no será equitativa. Urge por tanto realizar más estudios, sobre todo clínicos, que nos permitan obtener dosis realistas, seguras y efectivas para la terapia con NPs. (26)

En cuanto a las propiedades farmacodinámicas, la actividad antimicrobiana de las NPs depende de factores físico-químicos como el tamaño, la forma, la carga, el potencial zeta, la solubilidad, la morfología de superficie, la estructura cristalina y la capacidad de liberar iones metálicos biocidas, entre otros. Por ejemplo, se ha observado que a menor tamaño de partícula se da una mayor actividad antibacteriana, y que una elevada superficie específica y una alta energía de superficie conducen a la agregación de las NPs de óxidos metálicos, lo que puede provocar una pérdida de la actividad antimicrobiana. Las condiciones del entorno, la cepa bacteriana y el tiempo de exposición también constituyen factores que influyen significativamente en la actividad antibacteriana de las NPs. (27)

Además, la sensibilidad de las bacterias a las NPs está relacionada con el perfil bioquímico del microorganismo y con las biomoléculas o rutas que tengan como diana las NPs. Debido a esto, se ha observado que los efectos antibacterianos de las NPs son más pronunciados en bacterias Gram+ que en Gram-, lo que podría explicarse por el hecho de que éstas últimas presentan una pared celular menos porosa que dificulta la penetración de las NPs. Por otro lado, las bacterias de rápido crecimiento son más susceptibles a las NPs o los antibióticos convencionales que las bacterias de lento crecimiento, quizás debido a la expresión variable de genes de respuesta al estrés. (16)

☀ Toxicidad de las NPs

Tanto las nanopartículas metálicas *per se* como sus productos de degradación pueden producir complicaciones locales y sistémicas, así como efectos negativos en las bacterias

beneficiosas de nuestro organismo. (16) Las propiedades únicas que poseen no sólo las dotan de ventajas, sino que también pueden traer consigo interacciones no deseadas con diferentes compartimentos biológicos y procesos celulares. (9) Su pequeño tamaño permite que atraviesen barreras en el organismo que la mayoría de fármacos convencionales son incapaces de cruzar, como la barrera hemato-encefálica o la placenta, pasando al torrente sanguíneo y al sistema linfático, y alcanzando así órganos y tejidos, alterando su funcionamiento normal. (28) Si bien el mecanismo toxicológico de las NPs no se conoce con exactitud a día de hoy, se ha observado que a mayor tamaño de partícula, mayor el riesgo de que se produzcan efectos adversos. Aunque varios estudios *in vivo* reportan que no existe riesgo aparente de que la vida del paciente se vea amenazada, los efectos tóxicos crónicos a nivel de órganos como el pulmón, el SNC, el riñón o el hígado, donde las NPs tienden a acumularse, siguen suponiendo una cuestión a resolver. De todas maneras, existen varias estrategias que podemos utilizar para eliminar la toxicidad de las nanopartículas, por ejemplo, por modificación de superficie. Por otro lado, estas propiedades tóxicas, a priori sin un fin más allá de provocar efectos adversos, podrían ser utilizadas para eliminar tejidos o células anómalas o infectadas, siempre y cuando protejamos las células sanas mediante un targeting selectivo. (29)

A día de hoy no existen guías bien definidas que nos indiquen cómo evaluar su toxicidad a nivel celular y sistémico, lo cual dificulta el control de la exposición a las mismas para minimizar los posibles efectos adversos.

Esto resulta de vital importancia en cuanto a la aplicación clínica de las NPs para infecciones de bacterias multirresistentes, ya que conociendo los mecanismos de toxicidad y los distintos parámetros que modifican el alcance de la misma, por ejemplo, la vía de administración o la dosis, podremos instaurar tratamientos más seguros y eficaces en un futuro esperemos próximo. (16,26)

☀ Resistencia bacteriana a NPs

A priori, la gran diversidad de mecanismos de acción que poseen las nanopartículas contra las células bacterianas provoca que se de una menor aparición de resistencias. Sin embargo, ciertos estudios realizados en los últimos años reportan que las bacterias sí son capaces de desarrollar resistencia a las nanopartículas tras

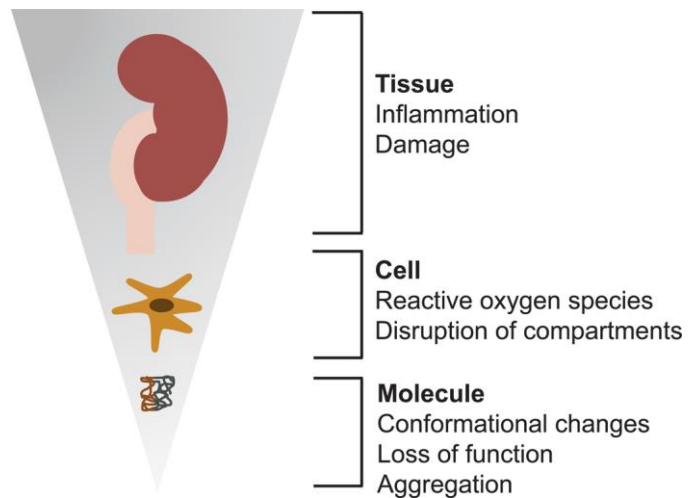


Figura 10. Mecanismos de toxicidad de las nanopartículas (NPs).

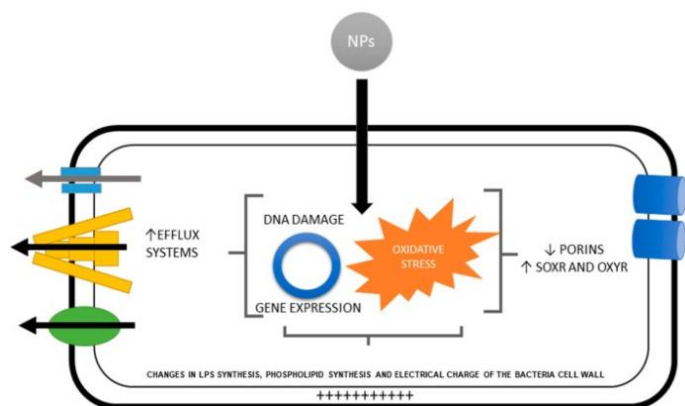


Figura 11. Mecanismos de resistencia bacteriana a nanopartículas (NPs).

una única exposición a las mismas mediante múltiples mecanismos: repulsión electrostática, bombas de eflujo de iones, expresión de matrices extracelulares, mutaciones y adaptación de los biofilms. (11) Esta situación es especialmente preocupante en lo que concierne a las AgNPs, en tanto que su uso en la clínica es cada vez mayor. Por ejemplo, en el caso de *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae*, la resistencia a AgNPs se atribuye a la existencia de genes "sil" encontrados en cultivos aislados a partir de quemaduras infectadas por dichas especies bacterianas. Otro ejemplo de mecanismos de resistencia son los cambios fenotípicos en la producción de flagelina por parte de cepas de *Escherichia coli* resistentes a AgNPs, lo que provoca la agregación de las mismas y la consecuente disminución de su actividad antibacteriana.

En resumen, la resistencia bacteriana a nanopartículas se debe a cambios en la expresión de genes y de la presencia de estrés oxidativo, lo que causa una depleción en porinas y una activación de SOXR y OXYR. (16)

CONCLUSIÓN

El aumento de la resistencia a antibióticos y la formación de biofilms, sumados a la ausencia de nuevos antibióticos y la pérdida de efectividad de los ya existentes, han resultado en un problema de salud pública de magnitudes críticas. Las nanopartículas se postulan como una gran oportunidad para acabar con este gran problema. Dada la urgencia por desarrollar nuevas estrategias capaces de luchar contra las bacterias multirresistentes, debemos aprovechar el potencial terapéutico de estos nanomateriales. Para que esto se traduzca en hechos en la práctica clínica del futuro, habrá que dedicar grandes esfuerzos al estudio de los mecanismos concretos por los que ejercen su actividad antimicrobiana, así como a su metabolismo, aclaramiento y toxicidad, hasta ahora desconocidos en detalle. A su vez, será necesario prestar especial atención a la evaluación de combinaciones específicas sinérgicas de nanopartículas con otros compuestos antimicrobianos, así como al desarrollo de nanocarriers.

Por otro lado, también es importante promover la investigación y el desarrollo de otras estrategias como los bacteriófagos y los sistemas CRISPR-Cas, que podrían ser utilizadas solas o en combinación con las nanopartículas para conseguir un tratamiento eficaz, tarea difícil en lo que concierne a las bacterias multirresistentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
2. High levels of antibiotic resistance found worldwide, new data shows [en línea]. Consultado en enero de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/en/>
3. O'Neill, J. (2014) Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *The Review on Antimicrobial Resistance*.
4. Lima, R., Del Fiol, F. S., & Balcão, V. M. (2019). Prospects for the Use of New Technologies to Combat Multidrug-Resistant Bacteria. *Frontiers in Pharmacology*, 10. doi:10.3389/fphar.2019.00692
5. Burduşel, A.-C., Gherasim, O., Grumezescu, A. M., Mogoantă, L., Ficai, A., & Andronescu, E. (2018). Biomedical Applications of Silver Nanoparticles: An Up-to-Date Overview. *Nanomaterials*, 8(9), 681. doi:10.3390/nano8090681
6. Exner M., Bhattacharya S., Christiansen B., Gebel J., Goroncy-Bermes P., et al. (2018) Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS Hyg Infect Control*. doi:10.3205/dgkh000290
7. Sun, F., Qu, F., Ling, Y., Mao, P., Xia, P., Chen, H., & Zhou, D. (2013). Biofilm-associated infections: antibiotic resistance and novel therapeutic strategies. *Future Microbiology*, 8(7), 877–886. doi:10.2217/fmb.13.58
8. Davies, D. (2003). Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2(2), 114–122. doi:10.1038/nrd1008
9. Gupta, R., & Xie, H. (2018). Nanoparticles in Daily Life: Applications, Toxicity and Regulations. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(3), 209–230. doi:10.1615/jenvironpatholtoxicoloncol.2018026009
10. Huh, A. J., & Kwon, Y. J. (2011). “Nanoantibiotics”: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of Controlled Release*, 156(2), 128–145. doi:10.1016/j.jconrel.2011.07.002
11. Niño-Martínez, N., Salas Orozco, M. F., Martínez-Castañón, G.-A., Torres Méndez, F., & Ruiz, F. (2019). Molecular Mechanisms of Bacterial Resistance to Metal and Metal Oxide Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), 2808. doi:10.3390/ijms20112808

12. Gupta, A., Mumtaz, S., Li, C.-H., Hussain, I., & Rotello, V. M. (2018). Combatting antibiotic-resistant bacteria using nanomaterials. *Chemical Society Reviews*. doi:10.1039/c7cs00748e
13. Makowski, M., Silva, Í. C., Pais do Amaral, C., Gonçalves, S., & Santos, N. C. (2019). Advances in Lipid and Metal Nanoparticles for Antimicrobial Peptide Delivery. *Pharmaceutics*, 11(11), 588. doi:10.3390/pharmaceutics11110588 .
14. Baptista, P. V., McCusker, M. P., Carvalho, A., Ferreira, D. A., Mohan, N. M., Martins, M., & Fernandes, A. R. (2018). Nano-Strategies to Fight Multidrug Resistant Bacteria—“A Battle of the Titans.” *Frontiers in Microbiology*, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.01441
15. Vallet-Regí, M., González, B., & Izquierdo-Barba, I. (2019). Nanomaterials as Promising Alternative in the Infection Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3806. doi:10.3390/ijms20153806
16. Lee, N.-Y., Ko, W.-C., & Hsueh, P.-R. (2019). Nanoparticles in the Treatment of Infections Caused by Multidrug-Resistant Organisms. *Frontiers in Pharmacology*, 10. doi:10.3389/fphar.2019.01153
17. L Liao, C., Li, Y., & Tjong, S. (2019). Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 449. doi:10.3390/ijms20020449
18. Shaikh, S., Nazam, N., Rizvi, S. M. D., Ahmad, K., Baig, M. H., Lee, E. J., & Choi, I. (2019). Mechanistic Insights into the Antimicrobial Actions of Metallic Nanoparticles and Their Implications for Multidrug Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2468. doi:10.3390/ijms20102468
19. Sotiriou, G. A., & Pratsinis, S. E. (2010). Antibacterial Activity of Nanosilver Ions and Particles. *Environmental Science & Technology*, 44(14), 5649–5654. doi:10.1021/es101072s
20. Li, W.-R., Xie, X.-B., Shi, Q.-S., Zeng, H.-Y., OU-Yang, Y.-S., & Chen, Y.-B. (2009). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(4), 1115–1122. doi:10.1007/s00253-009-2159-5
21. Fayaz, A. M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P. T., & Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(1), 103–109. doi:10.1016/j.nano.2009.04.006
22. Castillo, R. R., Lozano, D., González, B., Manzano, M., Izquierdo-Barba, I., & Vallet-Regí, M. (2019). Advances in mesoporous silica nanoparticles for targeted stimuli-responsive drug delivery: an update. *Expert Opinion on Drug Delivery*. doi:10.1080/17425247.2019.1598375

23. Pedraza, D., Díez, J., Isabel-Izquierdo-Barba, Colilla, M., & Vallet-Regí, M. (2018). Amine-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles: A New Nanoantibiotic for Bone Infection Treatment. *Biomedical Glasses*, 4(1), 1–12. doi:10.1515/bglass-2018-0001
24. González, B., Colilla, M., Díez, J., Pedraza, D., Guembe, M., Izquierdo-Barba, I., & Vallet-Regí, M. (2018). Mesoporous silica nanoparticles decorated with polycationic dendrimers for infection treatment. *Acta Biomaterialia*, 68, 261–271. doi:10.1016/j.actbio.2017.12.041
25. Martínez-Carmona, M., Izquierdo-Barba, I., Colilla, M., & Vallet-Regí, M. (2019). Concanavalin A-targeted mesoporous silica nanoparticles for infection treatment. *Acta Biomaterialia*. doi:10.1016/j.actbio.2019.07.001
26. Wolfram, J., Zhu, M., Yang, Y., Shen, J., Gentile, E., Paolino, D., ... Zhao, Y. (2015). Safety of Nanoparticles in Medicine. *Current drug targets*, 16(14), 1671–1681. doi:10.2174/1389450115666140804124808
27. Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 12, 1227–1249. doi:10.2147/ijn.s121956
28. Huang, Y.-W., Cambre, M., & Lee, H.-J. (2017). The Toxicity of Nanoparticles Depends on Multiple Molecular and Physicochemical Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12), 2702. doi:10.3390/ijms18122702
29. Dos Santos, C. A., Seckler, M. M., Ingle, A. P., Gupta, I., Galdiero, S., Galdiero, M., ... Rai, M. (2014). Silver Nanoparticles: Therapeutical Uses, Toxicity, and Safety Issues. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103(7), 1931–1944. doi:10.1002/jps.24001