



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

NUEVOS MÉTODOS Y TRATAMIENTOS CLÍNICOS BASADOS EN NANOPARTÍCULAS, PARA LA RESOLUCIÓN Y DETECCIÓN DE LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES (EECCVV)

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2020

Autor: Vicente Bernabeu Campillo

Modalidad: Revisión Bibliográfica

Tutor/es: Gema Concepción Martínez Navarrete

ÍNDICE

RESUMEN	3
PALABRAS CLAVE.....	3
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	4
CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LAS NANOPARTÍCULAS	4
LIPOSOMAS	7
NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	7
MICELAS	8
DENDRÍMEROS	8
PATOLOGÍAS CARDIOVASCULARES (EECCVV).....	9
TROMBOSIS	10
ATEROSCLEROSIS.....	11
OBJETIVOS.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
DESARROLLO Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	14
NANOPARTÍCULAS PARA LAS EECCVV	16
BIOSENSORES PARA LA DETECCIÓN DE ECV	16
TECNOLOGÍA DE IMAGEN.....	18
LIBERACIÓN DIRIGIDA DE MEDICAMENTOS	20
DISOLUCIÓN DE COÁGULOS EN EVENTOS TROMBÓTICOS.....	23
MATERIALES PARA STENTS.....	24
NANOPARTÍCULAS BIOMIMÉTICAS	26
NANOPARTÍCULAS RECUBIERTAS DE MEMBRANA PLAQUETARIA	28
CONCLUSIÓN.....	30
BIBLIOGRAFÍA.....	31

RESUMEN

Esta revisión bibliográfica se centra en los principales métodos y tratamientos que actualmente son de gran utilidad para la resolución y diagnóstico de las enfermedades cardiovasculares (EECCVV). Este tipo de patologías que pueden afectar al corazón y a los vasos sanguíneos, representan un gran desafío para la salud a nivel global, ya que alrededor de 1 de cada 3 personas presenta algún tipo de EECCVV actualmente, lo cual supone un mayor riesgo de sufrir eventos traumáticos como un ataque al corazón o un derrame cerebral. Mientras que los conocimientos obtenidos sobre este tipo de patologías han favorecido el camino para el desarrollo de medicamentos, y así poder prolongar la vida de los pacientes, las enfermedades cardiovasculares siguen siendo una de las principales causas de muerte en los países desarrollados. Recientemente, los investigadores han explorado la aplicación de la nanotecnología para mejorar las condiciones de los enfermos y gestionar de manera más eficiente las enfermedades cardiovasculares. Los sistemas de suministro a nanoescala tienen muchas ventajas, entre ellas la capacidad de liberarse en lugares enfermos, mejorar la biodisponibilidad del medicamento y detectar dichas enfermedades de forma no invasiva. En esta revisión se van a abordar las diferentes formas en que la tecnología de las nanopartículas puede ser aplicada para diagnósticos y tratamientos de enfermedades cardiovasculares, además de la novedad que supone la nanotecnología biomimética en este mundo.

PALABRAS CLAVE

Nanoparticle, Nanotechnology, Cardiovascular disease, Pharmacological therapy, Drug delivery.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El campo de la nanomedicina comprende el diagnóstico, tratamiento y prevención de enfermedades o lesiones para mejorar y mantener una buena salud y calidad de vida, mediante el uso de nanotecnología. Por ejemplo, un dominio de la nanomedicina tiene como objetivo controlar y manipular entidades biomacromoleculares y supramoleculares que son vitales para la salud humana, como son el ADN, ARN, membranas celulares y bicapas lipídicas. Las nanopartículas, en particular, están ampliamente aceptadas por tener propiedades fisicoquímicas que mejoran la función biológica, como una alta energía superficial debido a su gran área de superficie a relación de volumen, humectabilidad, reactividad, y rugosidad¹.

El objetivo principal del uso de nanopartículas es encontrar un método de liberación de moléculas activas que resulte terapéutico, es decir, que sean capaces de optimizar su liberación en el organismo frente a los métodos de liberación tradicionales. Actualmente sus aplicaciones terapéuticas son tan diversas como las vías por las cuales pueden ser administradas destacando entre ellas la vía oral, pulmonar, oftálmica, endovenosa, intramuscular, intraocular e intraarticular, entre otras².

CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LAS NANOPARTÍCULAS

El tamaño de las partículas y la distribución de tamaño son las características más importantes de las nanopartículas y pueden determinar: el destino biológico, la toxicidad, la distribución *in vivo*, y la capacidad de orientación de estos sistemas de suministro. Además, pueden también influenciar en la carga y liberación de fármacos y en la estabilidad de las nanopartículas.

El "British Standards Institute" define nanopartículas como partículas microscópicas con las tres dimensiones en la nanoescala, que van desde 1 a 100 nm. Los avances en las investigaciones en nanomedicina han llevado a mejores formas de reducir la toxicidad, prolongar la vida media de los medicamentos y reducir efectos secundarios a través de la alteración de las

propiedades de las nanopartículas, mientras se mantiene la biocompatibilidad de esta.

La administración controlada de medicamentos usando nanopartículas se puede realizar de manera activa o pasiva (Figura 1). La administración activa requiere la unión del agente terapéutico a un ligando específico de tejido o célula, la orientación pasiva se logra mediante la incorporación del agente terapéutico en una macromolécula o nanopartícula que pasivamente alcanza al órgano diana³.

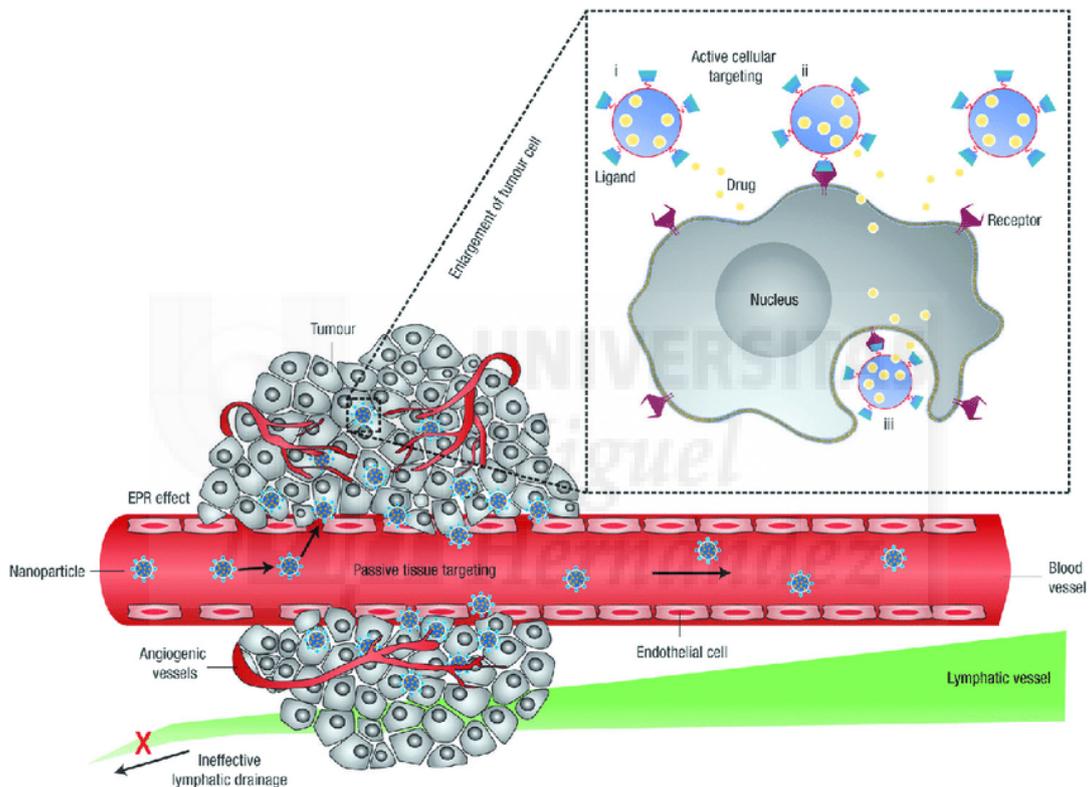


Figura 1. Mecanismos de liberación de fármacos usando nanopartículas ⁴.

En cuanto a la evolución de las nanopartículas, en los últimos 20 años la nanotecnología ha evolucionado de manera considerable, llegando a desarrollar una gran variedad de nanopartículas, cada una con sus propiedades y ventajas únicas. Estas nanopartículas incluyen componentes activos u objetos en el rango comprendido desde un nanómetro hasta varios cientos de nanómetro, como se ha mencionado anteriormente, donde se diferencian principalmente: liposomas, micelas, dendrímeros y nanopartículas poliméricas (Figura 2). Todas estas nanopartículas terapéuticas fueron descritas por primera vez por Speiser y

colaboradores en los años 70 del siglo XX pensando en desarrollarlas como medio de liberación de moléculas activas y vacunas⁵.

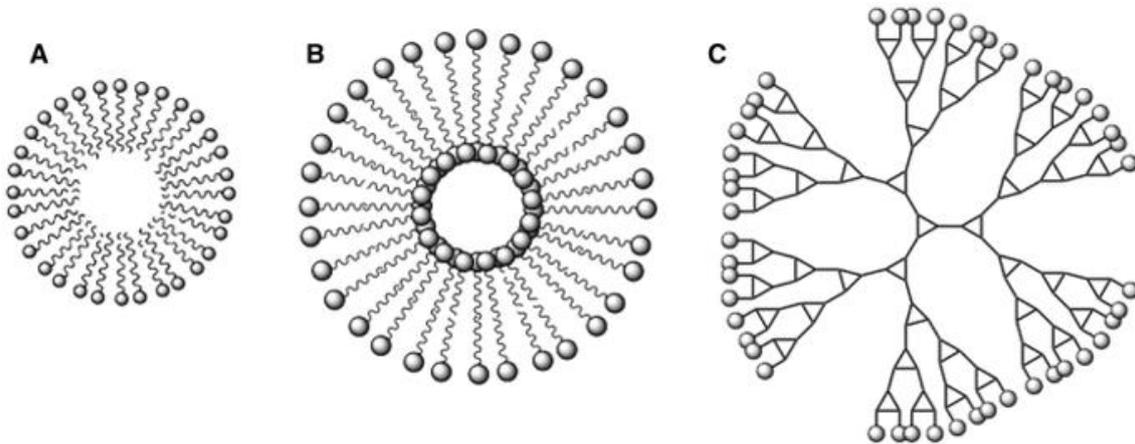


Figura 2. Nanoportadores para la administración de agentes terapéuticos: (A) una micela, (B) un liposoma y (C) un dendrímero⁶.

Son numerosas las ventajas que presentan las nanopartículas para su aplicación en el campo de la medicina, entre ellas podemos encontrar²:

- La capacidad para proteger la molécula encapsulada frente a su eventual degradación desde el momento de la administración en el paciente hasta que alcanza su lugar de acción o absorción.
- Poseen una gran capacidad para atravesar barreras biológicas como la piel, las mucosas gastrointestinales o respiratorias y lo más importante, la barrera hematoencefálica, ya que muchos fármacos no son capaces de hacerlo por lo que representa un gran avance.
- La capacidad para alcanzar el órgano, tejido o grupo celular diana donde la molécula debe ejercer su acción.
- Y, por último, su capacidad para alcanzar compartimentos intracelulares o su capacidad para controlar la liberación de la molécula activa en su lugar de acción o absorción.

LIPOSOMAS

Este tipo de nanopartículas forman como una bicapa de fosfolípidos, con un núcleo acuoso encapsulado. Al tener propiedades tanto hidrofóbicas como hidrofílicas, los liposomas se pueden utilizar como sistemas muy efectivos para la liberación de medicamentos. Además, los anticuerpos se pueden adherir a la superficie liposomal para atacar áreas específicas. Debido a los procesos de agregación plaquetaria en infarto de miocardio, aterosclerosis y trombosis, la liberación de medicamentos conducidos por liposomas (Figura 3) y dirigidos a plaquetas ha demostrado tener una potencial aplicación terapéutica.

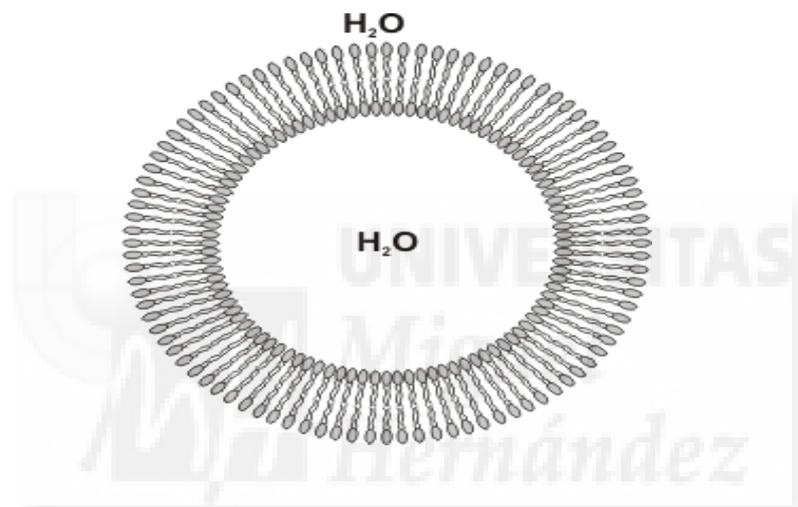


Figura 3. Representación esquemática de un liposoma unilamelar. Los círculos representan grupos polares mientras que las líneas onduladas hacen referencia a las cadenas de hidrocarburos⁶.

NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Las nanopartículas poliméricas han atraído un interés particular en el campo de la nanomedicina, debido a la fácil manipulación de sus materiales y la potencial reabsorción de su cuerpo. Este interés viene fomentado por la sencilla unión de las nanopartículas poliméricas a su sitio de acción y de su método mínimamente invasivo para liberarlas en la circulación sistémica. La inyección intravenosa es el método más común de administración, aunque se pueden administrar por vía oral, tópica o transdérmica. Este tipo de nanopartículas incluye diferentes tipos que van desde sólidas, anfipáticas (como los liposomas), dendrímeros y con

forma de estrellas. En general, las nanopartículas a base de polímeros resultan más rentables y fáciles de fabricar que los liposomas⁵.

MICELAS

Las micelas son partículas coloidales nanométricas, generalmente esféricas, con un interior hidrofóbico y un exterior hidrofílico. Son ampliamente utilizadas en la preparación de formulaciones farmacéuticas como agentes solubilizantes. Los fármacos pueden ser atrapados en el interior de las micelas o adherirse covalentemente a las superficies de ellas. El tamaño de estas partículas es inferior a 50 nm de diámetro. Pueden circular durante períodos prolongados en la sangre, evadiendo el sistema inmunológico del paciente. Por ello, se pueden utilizar para la liberación gradual de fármacos y facilitar el diagnóstico in vivo. El exterior hidrofílico de las micelas está diseñado para ser termodinámicamente estable y biocompatible¹ (Figura 4).

DENDRÍMEROS

Los dendrímeros son una clase única de macromoléculas, sintetizadas mediante una serie de reacciones sucesivas de adición (o condensación) controladas sobre un núcleo polifuncional. Se puede así controlar completamente la masa molecular final deseada y el tamaño de partícula, igual en todas y cada una de las partículas sintetizadas. Además, tienen múltiples grupos funcionales en su superficie, lo que hace que sean ideales como transportadores para la liberación de fármacos (Figura 4). Las aplicaciones farmacéuticas de los dendrímeros incluyen: formulaciones de antiinflamatorios no esteroideos, antibióticos, fármacos antivirales y agentes contra el cáncer¹.

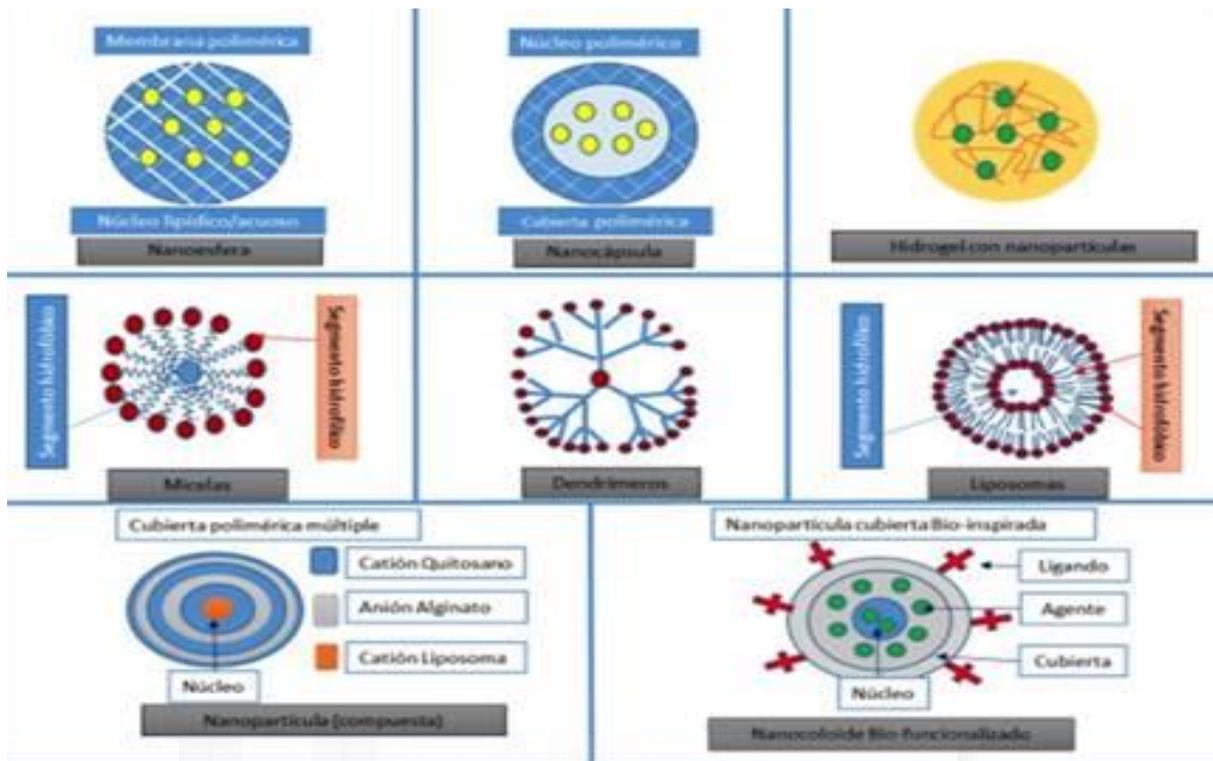


Figura 4. Representación esquemática de nanoestructuras y sus componentes⁵.

Todos estos grupos de nanopartículas (liposomas, dendrímeros, micelas y nanopartículas poliméricas (Figura5)), participan activamente en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, más específicamente actúan en enfermedades como la trombosis, aterosclerosis e infarto de miocardio gracias a sus propiedades vasodilatadoras y cardioprotectoras⁵.

PATOLOGÍAS CARDIOVASCULARES (EECCVV)

El término EECCVV es un concepto genérico que empleamos para referirnos a un conjunto de patologías y enfermedades diversas en sus causas o etiología y en sus manifestaciones clínicas (signos y síntomas). En las sociedades occidentales y en algunas sociedades de economías emergentes predominan las EECCVV cuya patología subyacente es la arterioesclerosis y la trombosis arterial consecuente. Dentro de estas enfermedades se encuentran, entre otras, la cardiopatía isquémica, la mayoría de las enfermedades cerebrovasculares, la

enfermedad hipertensiva, parte de la insuficiencia cardíaca, algunos aneurismas y las trombosis arteriales. En este caso, se va a relacionar el mundo de la nanotecnología con algunas de las anteriores enfermedades mencionadas.

TROMBOSIS

La trombosis se caracteriza por la formación de coágulos sanguíneos que se localizan dentro de los vasos sanguíneos arteriales o venosos (Figura 5). Estos trombos se forman por la necesidad de nuestro organismo de tener respuestas hemostáticas fisiológicamente saludables y pueden conducir a problemas médicos importantes para las personas afectadas. Desafortunadamente, las terapias actuales existentes para tratar la trombosis son sistémicas en su diseño terapéutico; por lo tanto, interfieren con la hemostasia fisiológica del paciente. Los efectos secundarios clínicos graves comúnmente asociados con las terapias actuales incluyen, entre otras, complicaciones hemorrágicas. Por lo tanto, existe una profunda demanda de nuevas intervenciones terapéuticas que puedan evitar estas complicaciones, al tiempo que ofrecen una eficacia terapéutica mejorada⁷. Como ya se sabe, la activación y agregación plaquetaria son los procesos clave involucrados en la trombosis y los trastornos tromboembólicos. Las mejores medidas preventivas para los eventos trombóticos en los pacientes de riesgo son, por lo tanto, la terapia antiplaquetaria o anticoagulante. Aunque la aspirina todavía juega un papel esencial en la prevención primaria y secundaria de la trombosis, las terapias antitrombóticas de nueva generación están evolucionando rápidamente. En combinación con la aspirina, los antagonistas del receptor ADP P2Y₁₂ se utilizan en el tratamiento de los síndromes coronarios agudos y las intervenciones coronarias percutáneas para prevenir eventos cardíacos adversos y trombosis del stent. La anticoagulación oral utilizada para el tratamiento de TEV y para la prevención de émbolos en pacientes con fibrilación auricular ha avanzado con el uso de trombina directa e inhibidores del factor Xa que no requieren monitoreo terapéutico. Aunque la terapia antiplaquetaria y anticoagulante es esencial para la prevención primaria y secundaria de la trombosis, el pretratamiento sistémico con agentes antitrombóticos se asocia con un mayor riesgo de complicaciones hemorrágicas

después de la trombólisis intravenosa en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo⁸.

Los avances recientes en nanotecnología presentan una oportunidad para desarrollar nuevos y mejores sistemas de administración de medicamentos para satisfacer esta demanda clínica. Las investigaciones preclínicas han comenzado a descubrir el potencial de la nanotecnología, particularmente en el tratamiento de la trombosis y también en las enfermedades cardiovasculares no hemostáticas.

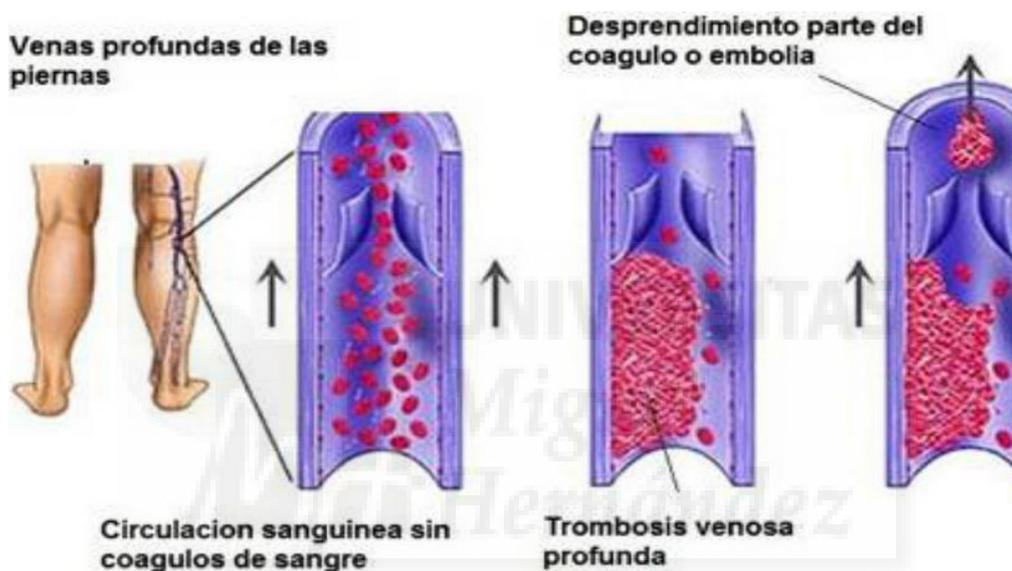


Figura 5. Representación de la acumulación de coágulos de sangre en la trombosis y su efecto en la circulación⁸.

ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis es una enfermedad arterial prevalente que provoca el deterioro progresivo de los vasos sanguíneos dando lugar a una reducción del flujo sanguíneo además de diversas complicaciones (Figura 6). Este deterioro viene provocado por la formación de una “placa” compuesta por grasas, colesterol, calcio, y otras sustancias presentes en la sangre. Con el tiempo, la placa se endurece y estrecha las arterias, con lo cual se limita el flujo de sangre rica en oxígeno a los órganos y a otras partes del cuerpo. Cuando esto sucede, las plaquetas se adhieren al lugar de la lesión y pueden agruparse para formar

coágulos de sangre. Los coágulos estrechan las arterias aún más y limitan el flujo de sangre rica en oxígeno al cuerpo, como se ha mencionado anteriormente. La causa exacta de la aterosclerosis no se conoce. Sin embargo, se ha comprobado en diferentes artículos y estudios científicos que la aterosclerosis es una enfermedad lenta y compleja que puede comenzar en la infancia. A medida que la persona envejece, avanza más rápidamente. La aterosclerosis puede comenzar cuando ciertos factores causan daños en las capas internas de las arterias. Estos factores son el hábito tabáquico, las cantidades altas de ciertas grasas y colesterol en la sangre, la presión arterial alta o las cantidades altas de azúcar en la sangre debido a resistencia a la insulina o a la diabetes. Estos son los principales factores de riesgo de la enfermedad. Otros factores que pueden elevar el riesgo de sufrir la enfermedad son la apnea del sueño, el estrés o el consumo de alcohol. Los síntomas derivados de la enfermedad suelen aparecer en estadios avanzados de la misma, lo cual dificulta un diagnóstico temprano. Esto deriva en que las clásicas alternativas terapéuticas resultan insuficientes debido al carácter muchas veces irreversible del daño provocado. Por lo tanto, emerge la necesidad de implementar novedosas formas más eficaces para administrar fármacos y también el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas que reduzcan la progresión de la lesión aterosclerótica⁹.

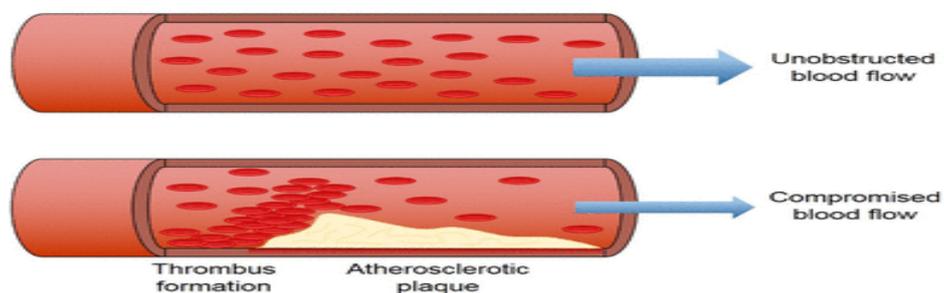


Figura 6. Progreso de la placa aterosclerótica que muestra el estrechamiento del vaso sanguíneo¹.

OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica con el fin de obtener estudios sobre el mundo de la nanomedicina y su implicación en el tratamiento y diagnóstico de las enfermedades cardiovasculares. Pudiendo así dar a conocer distintos modelos de tratamiento y diagnóstico, más modernos y con mayores ventajas que los actuales. Más concretamente, los objetivos específicos son:

- Determinar mediante investigaciones clínicas cuales son los métodos que suponen un avance para abordar las EECCVV.
- Especificar cómo afectan dichos avances, exponiendo las ventajas y desventajas que conllevan.
- Explicar el mecanismo de acción de las nanopartículas para lograr el efecto deseado sobre la patología cardiovascular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica de publicaciones científicas relacionadas con el campo de la nanomedicina y de las nanopartículas, e incidiendo en su aplicación clínica en enfermedades cardiovasculares. Para ello, se han realizado búsquedas en las distintas bases de datos de práctica clínica y distintos artículos de investigaciones biomédicas, consiguiendo así un análisis crítico de los estudios obtenidos.

Las bases de datos científicas y publicaciones de carácter biomédico utilizadas han sido principalmente PUBMED, COCHRANELIBRARY y GOOGLE SCHOLAR. Se han obtenido un total de 28 artículos, en los cuales se ha profundizado, descartando un total de 5 artículos, por lo que el análisis se centra en un total de 23 artículos basados en las nuevas modalidades de tratamiento y diagnóstico de la nanomedicina y la nanotecnología biomimética en pacientes con enfermedades cardiovasculares (EECCVV).

DESARROLLO Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las enfermedades cardiovasculares (EECCVV) abarcan una serie de patologías que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos, como la arteria coronaria, la arteria periférica o incluso puede dar lugar a enfermedad cerebrovascular. También derivan en enfermedades cardíacas con episodios de presión arterial alta, latidos cardíacos irregulares o dolor en el pecho causado por un flujo sanguíneo reducido, entre muchos otros. Casi una de cada tres personas presenta algún tipo de ECV, con muchas complicaciones y patologías entrelazadas que dificultan el ritmo de vida normal, por lo que suponen un gran desafío para la medicina moderna.

Por otro lado, el conocimiento obtenido en el siglo pasado con respecto al sistema cardiovascular ha allanado el camino para el desarrollo de fármacos que prolongan la vida y las modalidades de tratamiento, pese a que la ECV sigue siendo una de las principales causas de muerte en los países desarrollados. Más recientemente, los investigadores han explorado la aplicación de la nanotecnología para mejorar la clínica actual y optimizar el manejo de ECV. Los sistemas de entrega a nanoescala tienen muchas ventajas, que incluyen la capacidad de liberarse en sitios enfermos, mejorar la biodisponibilidad de medicamentos y transportar varias cargas útiles y funcionales.

Es importante recalcar que las EECCVV son totalmente prevenibles a partir de cambios básicos en el estilo de vida, por ello se incide en la importancia de educar a la sociedad en hábitos saludables como pueden ser una alimentación equilibrada o pautas de ejercicio diarias o semanales. Pero también es importante contar con medios que permitan identificar signos de la enfermedad en estadios tempranos de la misma. Actualmente, se pueden utilizar pruebas funcionales y de laboratorio para identificar cambios en los parámetros fisiológicos y en la sangre, que a menudo pueden proporcionar algunos indicadores para el riesgo desarrollo de ECV¹⁰.

El tipo de tratamiento y de la terapia farmacológica que se va a utilizar para tratar las EECCVV depende en gran medida de la etapa en la que se encuentre dicha enfermedad. Por ejemplo, dependiendo de la fase de la enfermedad en la que se encuentre el paciente, se acudiría a la nanotecnología convencional o la nanotecnología biomimética de la cual se hablará más adelante (Figura 7). Algunos tipos de ECV (como la trombosis o la aterosclerosis), pueden afectar significativamente a la calidad de vida del paciente, punto en el cual la cirugía invasiva está indicada para estos casos. Durante un evento traumático como un ataque al corazón o un derrame cerebral, se puede administrar tratamiento en forma de trombolíticos o anticoagulantes para ayudar a que se disuelvan los coágulos de sangre que a menudo son la causa subyacente¹⁰.

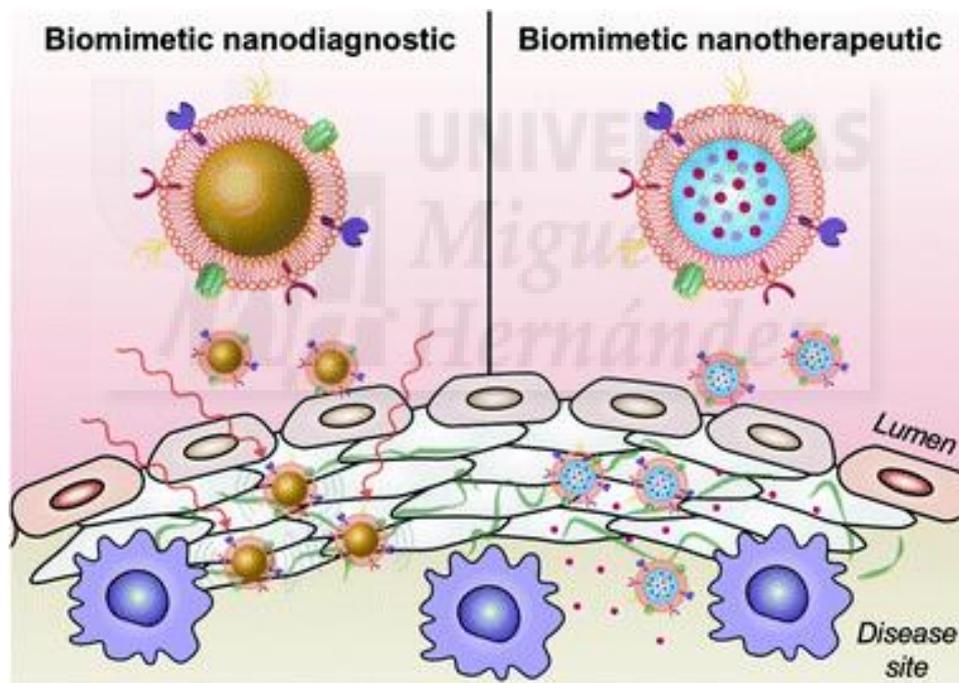


Figura 7. Nanotecnología biomimética para diagnóstico y terapia de enfermedades cardiovasculares. Las plataformas de suministro de nanopartículas basadas en principios biomiméticos pueden dirigirse más fácilmente a los sitios diana de enfermedades dentro del sistema cardiovascular. Cuando se combinan las ventajas de los sistemas tradicionales de nanoentrega, con la mejora de imágenes y de las nuevas drogas que ofrece la nanotecnología biomimética, se puede avanzar rápidamente en el desarrollo de modalidades diagnósticas y terapéuticas más efectivas para tratar la EECCVV¹¹. Más adelante se hará énfasis en la nanotecnología biomimética.

Una vez se han explicado las diferentes terapias y modalidades de tratamiento de este tipo de enfermedades, en esta revisión se va a incidir más concretamente en el mundo de la nanotecnología, y como las nanopartículas tradicionales y las nanopartículas biomiméticas se han convertido en una herramienta muy útil para tratar las EECCVV.

NANOPARTÍCULAS PARA LAS EECCVV

A continuación, se va a explicar diferentes técnicas en las que participan las nanopartículas, incluyendo su utilidad y su incidencia en las EECCVV. Actualmente son importantes en el diagnóstico mediante análisis de sangre y biosensores, la tecnología de imagen amplificada como resonancias magnéticas o simplemente la liberación dirigida y localizada de medicamentos.

BIOSENSORES PARA LA DETECCIÓN DE ECV

En este punto, es importante explicar qué es la troponina. La troponina cardiaca es un complejo que consta de tres proteínas reguladoras de las cuales troponina I (cTnI) y troponina T (cTnT) se liberan en el torrente sanguíneo cuando los cardiomiocitos están dañados. El hecho de que cTnI y cTnT sean indetectables en pacientes sanos, quiere decir que estos, representan buenos biomarcadores para el diagnóstico de infarto agudo de miocardio, entre otras EECCVV¹².

Para mejorar la detección de estos biomarcadores como las troponinas, la nanotecnología se ha visto obligada a evolucionar. Muchas de las plataformas creadas para esta detección, están basadas en inmunosensores electroquímicos (Figura 8), que son relativamente simples y baratos en comparación con otras plataformas destinadas al mismo uso. Debido a su miniaturización y su especificidad, estos sensores son adecuados para este tipo de aplicación.

Los inmunosensores electroquímicos consisten en un elemento bioreceptor que puede formar parte de anticuerpos responsables de detectar el antígeno diana y son capaces de transducir esta detección en señales eléctricas¹³. También existen otros tipos de sensores, en este caso, sensores amperométricos, que se

encargan de detectar cambios en las corrientes eléctricas que se producen por oxidación o reducción en las reacciones bioquímicas. Este sensor fue desarrollado para la detección de la troponina cTnT, mediante el uso de nanopartículas de oro y una molécula orgánica llamada “(E)4[(4-deciloxifenil) diazenil]1-metil-yoduro de piridinio”. La molécula orgánica actúa como una sonda redox, mientras que los anticuerpos monoclonales anti-cTnT quedaron retenidos en las nanopartículas de oro, consiguiendo así detectar la troponina cTnT en la muestra. La resistencia de transferencia de carga del biosensor fue proporcional a la concentración de cTnT, permitiendo así la cuantificación del analito¹⁴.

Los sensores potenciométricos, que también fueron desarrollados para el diagnóstico de EECCVV, usan una técnica de impresión molecular, donde se sintetizan anticuerpos artificiales y se unen a la superficie de nanotubos de carbono que sirven como elementos de reconocimiento. A través de esta técnica, este sensor fue capaz de detectar específicamente anticuerpos en muestras de suero, gracias a nanopartículas de carbono¹⁵.

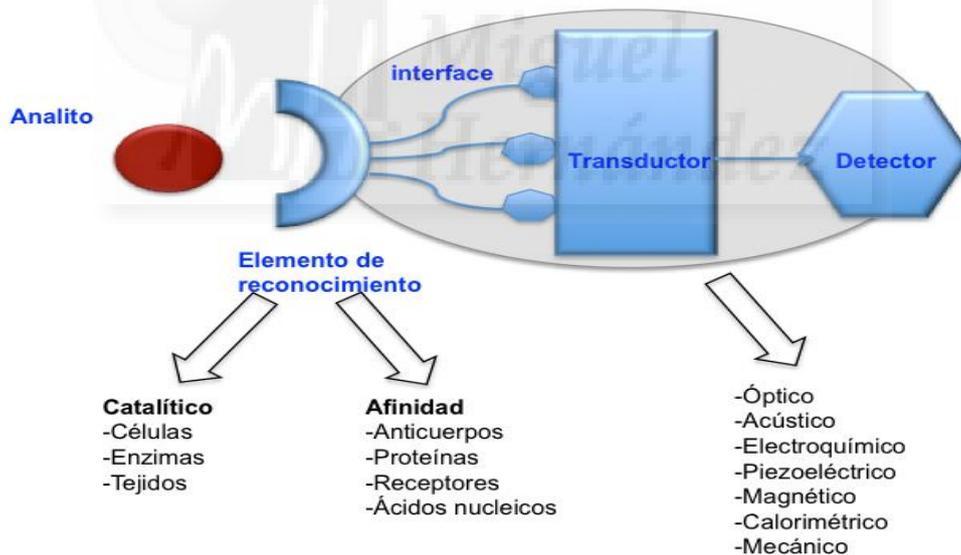


Figura 8. Funcionamiento general de un biosensor electroquímico¹⁵. Dependiendo del analito que se quiera detectar, este mostrará más afinidad a ciertos tipos de proteínas, anticuerpos, ácidos nucleicos... Dependiendo del elemento que reconozca, se transducirá una determinada señal que será detectada por el biosensor electroquímico.

TECNOLOGÍA DE IMAGEN

Tradicionalmente, la tecnología de imagen mediante el uso de nanopartículas se ha desarrollado principalmente para aplicaciones contra el cáncer. Actualmente, aprovechando su biocompatibilidad y versatilidad, se han aplicado hacia el campo cardiovascular. Las nanopartículas de oro son particularmente populares porque tienen un tamaño y una forma de absorción ajustada y por lo tanto puede facilitar la multiplexación en las imágenes fotoacústicas (la multiplexación es la medida de múltiples tipos de señal diferentes al mismo tiempo). Se han estudiado varias formas de nanopartículas de oro incluyendo esferas, varillas, conchas y formulaciones liposomales. La mayoría de las nanopartículas utilizadas en las imágenes son de 20 a 150 nm, mientras que las partículas que son más pequeñas que 10 nm se eliminan fácilmente de la circulación a través de los riñones y por lo tanto no tienen tiempo de residencia adecuado para acumularse en el tejido y poder obtener la imagen¹⁶.

Las imágenes fotoacústicas también se podrían utilizar para detectar regiones ricas en lípidos, que están estrechamente relacionadas con la progresión de la aterosclerosis. Las imágenes de ultrasonido ayudan a proporcionar información estructural acerca de los tejidos afectados. La tomografía de coherencia óptica (TCO) es otra técnica de imagen cardiovascular que ha utilizado nanopartículas de oro. En la técnica, la señal infrarroja de una fuente de luz de banda ancha se dirige al tejido afectado, y se construye una imagen basada en la luz retrodispersada¹⁷.

Por otro lado, la Imagen por Resonancia Magnética (MRI) es una técnica muy versátil que proporciona unos excelentes datos morfológicos, así como información funcional y fisiológica. Además, los recientes avances en el desarrollo de agentes de contraste de alta sensibilidad mediante la nanotecnología han hecho que la Imagen por Resonancia Magnética salte al campo de la imagen molecular. De este modo, los scanners MRI para detectar EECCVV se han convertido en una herramienta clave para el desarrollo de nanopartículas magnéticas para diagnóstico y terapia.

Además, la imagen por resonancia magnética (MRI) es una técnica no invasiva que puede proporcionar una detallada información sobre la vasculatura y que es crucial para un efectivo diagnóstico de ECV. El gadolinio (Gd), por ejemplo, se utiliza agente de contraste en la resonancia magnética para generar una señal positiva debido a su alto paramagnetismo. Comercialmente, el ácido Gd dietiltri Aminopentaacético (Gd-DTPA) ha sido aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos para diagnosticar las placas ateroscleróticas mediante resonancia magnética¹⁹.

En cuanto a sus aplicaciones, además de utilizarse en el campo de la medicina cardiovascular, se utiliza para:

- Estudios anatómicos (tumores, inflamación, enfermedades neurodegenerativas).
- Estudios funcionales (perfusión cerebral, permeabilidad vascular, perfil metabólico in vivo).
- Farmacocinética y biodistribución de nuevos agentes de contraste.
- Monitorización de la administración dirigida de fármacos.
- Seguimiento de respuesta a terapia.

Además de las técnicas mencionadas anteriormente, existen diversas modalidades de imagen que utilizan nanopartículas para la detección de EECCVV (Tabla 1).

Modalidad	Resolución espacial (mm)	Tiempo de imagen	Nanopartícula	Ventajas	Desventajas
Fluorescencia	<1 (FRI); 1 (FMT)	Segundos a minutos, minutos (FMT)	<i>Quantum dots, Up-converting nanophosphors</i>	Sensibilidad, gran número de sondas	Baja resolución espacial
Ultrasonidos	0.04-0.1 (subclínica); 0.15-1 (clínica)	De segundos a minutos	nanoburbujas	Tiempo real, bajo coste. Buena resolución	Dependiente de operador, sondas poco eficaces
PET	1-2 (microPET) 6-10 (PET clínico)	Minutos	Fe ₂ O ₃ , AuNP, Silica, QDs. Liposomas dopadas o con quelantes	Sensibilidad, cuantitativa, ng de sonda	Radiación, resolución espacial
SPECT	0.5-2 (microSPECT); 7-15 (clinical SPECT)	Minutos	Fe ₂ O ₃ , AuNP, Silica, QDs. Liposomas dopadas o con quelantes	Sensibilidad, cuantitativa, ng de sonda	Radiación, resolución espacial (menos que PET)
MRI	0.01-0.1 (subclínica) 0.5-1.5 (clínica)	Minutos a horas	Óxidos de Fe, Mn, Gd. Liposomas, dendrímeros	Resolución; anatómica y funcional	Sensibilidad, tiempo de estudio
CT	0.02-0.3 (subclínica); 0.5-2 (clínica)	Minutos	AuNP, NPs dopadas con Iodo	Resolución	Radiación, uso en tejido blando limitado

Tabla 1. En esta tabla se muestran las principales modalidades en la tecnología de imagen actual, incluyendo las nanopartículas que utilizan para desarrollar dicha modalidad. Como se puede apreciar, hay una amplia variedad de nanopartículas que son útiles para detectar patologías cardiovasculares, además de otras enfermedades¹⁸.



LIBERACIÓN DIRIGIDA DE MEDICAMENTOS

La inflamación crónica como la que se encuentra en las lesiones ateroscleróticas avanzadas generalmente requiere de una intervención médica para ser resuelta. Para ello, cada vez se acude con mayor frecuencia a las nanopartículas, ya que poseen una gran capacidad de acción en zonas concretas.

Un ejemplo de la liberación dirigida de medicamentos es la anexina A1, una proteína glucocorticoide, mediada por su receptor N-formil péptido 2. Un corto fragmento del extremo del péptido aminoterminal de la proteína se carga en nanopartículas de colágeno que se liberan por vía intravenosa. La administración de dicha formulación disminuye la actividad de la colagenasa lesional, el estrés oxidativo y la necrosis de la placa en un modelo animal de aterosclerosis. En un enfoque similar, la citoquina antiinflamatoria, interleucina 10, se puede cargar en nanopartículas poliméricas capaces de controlar la liberación en la placa

ateroesclerótica. Esta formulación se fabrica mediante un proceso de nanoprecipitación utilizando un dispositivo basado en un chip que permite que la actividad de la citoquina no se libere incluso después de la exposición a disolventes orgánicos. La nanoformulación demostró ser muy efectiva, ya que previene la formación de placa en zonas vulnerables y en lesiones avanzadas aumentando el grosor de la capa fibrosa mientras se reduce el tamaño de los núcleos necróticos²⁰.

Las especies reactivas de oxígeno (ROS), junto con las asociadas al estrés oxidativo, son otro factor clave en la patogénesis de las EECCVV, hecho que se pudo comprobar en un modelo animal con ratas (Figura 9). En un esfuerzo por desarrollar un antioxidante nanoterapéutico, el tempol y el éster de pinacol del ácido fenilbórico se conjugaron covalentemente con el polisacárido cíclico b-ciclodextrina y procesados en forma de nanopartículas. El tempol actuó como un agente oxidante de la dismutasa y éster de pinacol del ácido fenilbórico proporcionó la eliminación del peróxido de hidrógeno. La administración intravenosa de las nanopartículas dio como resultado su acumulación en lesiones ateroscleróticas de ratones con deficiencia de apolipoproteína E (ApoE) por medio de la selección pasiva. Esto no sólo inhibió el desarrollo de aterosclerosis, sino que también ayudó a estabilizar las placas, que poseían menos cristales de colesterol, un núcleo necrótico más pequeño, un menor número de macrófagos, y una cantidad reducida de metaloproteínasa-9²¹.

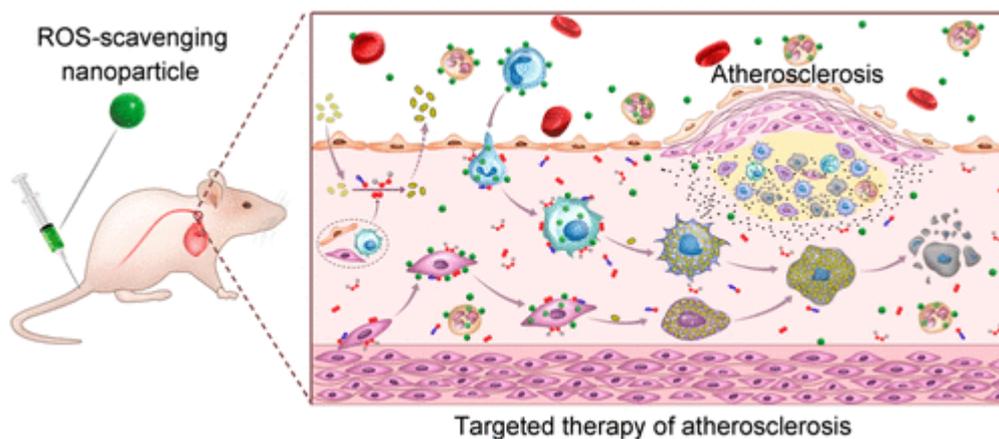


Figura 9. En esta representación se muestra como actúan las especies reactivas de oxígeno en un modelo animal con ratas, mediante la liberación dirigida con nanopartículas²¹.

Por otro lado, el uso de las estatinas es muy viable para el control de las EECCVV, ya que reducen considerablemente los niveles de colesterol LDL. En un estudio, la pitavastatina fue incorporada a las nanopartículas PLGA, las cuales fueron absorbidas por los monocitos Ly-6GCD11b+, una vez se habían administrado por vía intravenosa para más tarde ser liberados en las placas ateroscleróticas. Estos monocitos cargados con pitavastatina, la cual se había cargado en nanopartículas PLGA (Figura 10), consiguió provocar la desestabilización de la placa aterosclerótica en ratones. Se descubrió, por tanto, que la administración de las nanopartículas cargadas de pitavastatina reduce la desestabilización y la ruptura de la placa al inhibir la secreción del quimiotratante. En el mismo estudio, se llevó a cabo experimentos de terapia génica con el plásmido que contenía el gen 7ND, el cual fue cargado en nanopartículas como vehículo. La transferencia del gen 7ND inhibió la desestabilización y la ruptura de la placa, aunque no se consiguió disminuir el tamaño de la misma²².

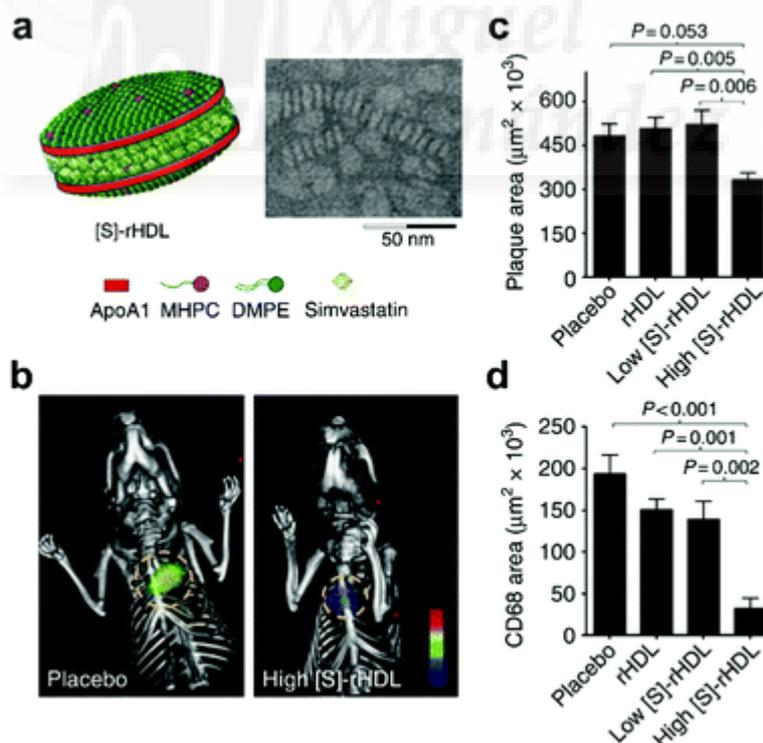


Figura 10. Terapia basada en nanopartículas para las enfermedades cardiovasculares. a) Representación esquemática de una nanopartícula reconstituida en una lipoproteína de alta densidad (HDL) cargada con simvastatina ([S]-rHDL), junto con una micrografía electrónica de

transmisión que la acompaña. b) La tomografía molecular por fluorescencia muestra la actividad de la proteasa que demostró que los ratones ateroscleróticos tratados con una dosis elevada de [S]-rHDL habían reducido significativamente los niveles de inflamación. c y d) La cuantificación de la superficie media de la placa y el contenido de placa de los macrófagos demostraron los beneficios del tratamiento con [S]-rHDL²³.

DISOLUCIÓN DE COÁGULOS EN EVENTOS TROMBÓTICOS

En el caso de los eventos trombóticos agudos, las nanopartículas son utilizadas para disolver los coágulos que causan dichos eventos, ya que muchos pueden resultar en isquemia. El activador de plasminógeno tisular (tPA) se suele utilizar para estos casos, sin embargo, sin ninguna estrategia de focalización, este tratamiento puede resultar fallido ya que se puede desviar de su objetivo de acción y causar riesgo de hemorragia. En general, ha ido aumentando el interés por la administración selectiva de agentes trombolíticos mediante nanopartículas, lo que puede conducir al desarrollo de tratamientos más seguros y menos invasivos.

La funcionalidad de focalización trombolítica se ha podido desarrollar con nanopartículas de polisacáridos-poli (isobutilcianoacrilato) que se unen al fucoidan, presente en algunas algas marinas, lo cual muestra una alta afinidad hacia la P-selectina que se expresa en plaquetas activadas. Las nanopartículas se cargan con el tPA y se liberan en el lugar donde se produce un evento trombolítico gracias a las plaquetas activadas anteriormente (Figura 11). Los ratones C57BL/6 con trombosis inducida fueron tratados con este tipo de nanopartículas y el estado del trombo fue monitoreado mediante fluorescencia de imágenes. Al final, la acumulación específica de la carga de tPA se confirmó con la existencia de nanopartículas, así como la reducción de los trombos²⁴.

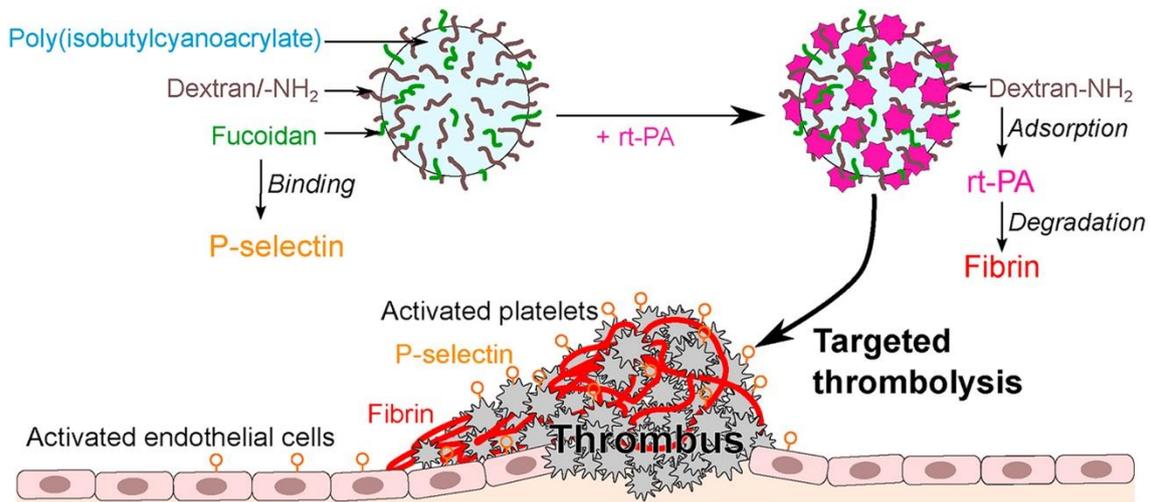


Figura 11. Representación en la que se muestra la disolución trombolítica mediante el uso de nanopartículas cargadas con tPA²⁴.



MATERIALES PARA STENTS

Un stent es un pequeño tubo de malla de metal que se expande dentro de una arteria del corazón. También existen stents liberadores de fármaco que contienen un medicamento permanente que ayuda a evitar que la arteria se cierre a largo plazo.

Las nanopartículas se han utilizado en estos dispositivos creados para tratar las EECVV. La tecnología de las nanopartículas puede utilizarse para fomentar mejoras en las plataformas actuales de los stents, proporcionando características deseables, como la mejora de la biocompatibilidad y la liberación controlada de los medicamentos.

Existe un tipo de nanopartículas, destinadas a este propósito. Estas nanopartículas de polilactida, están cargadas con sirolimus, un inmunosupresor que inhibe la activación de las células T inducida por la mayoría de los estímulos. El uso de estas nanopartículas cargadas en la fabricación de stents, ha demostrado que son eficaces en la inhibición de la proliferación de las células del músculo liso mientras se promueve la proliferación de células endoteliales *in vitro*²⁵.

Por otro lado, se ha demostrado que la inhibición del crecimiento excesivo de las células endoteliales puede ayudar a prevenir la estenosis (gradual cierre de una arteria después de haber sido ensanchada mediante un procedimiento tal como angioplastia) y disminuir el riesgo de trombosis inducida. Es por ello por lo que se han desarrollado stents “inteligentes” capaces de detectar el flujo sanguíneo, controlar la temperatura, almacenar datos y transmitirlos de forma inalámbrica, disminuir la inflamación, o incluso administrar medicamentos de forma localizada²⁶ (Figura 12).

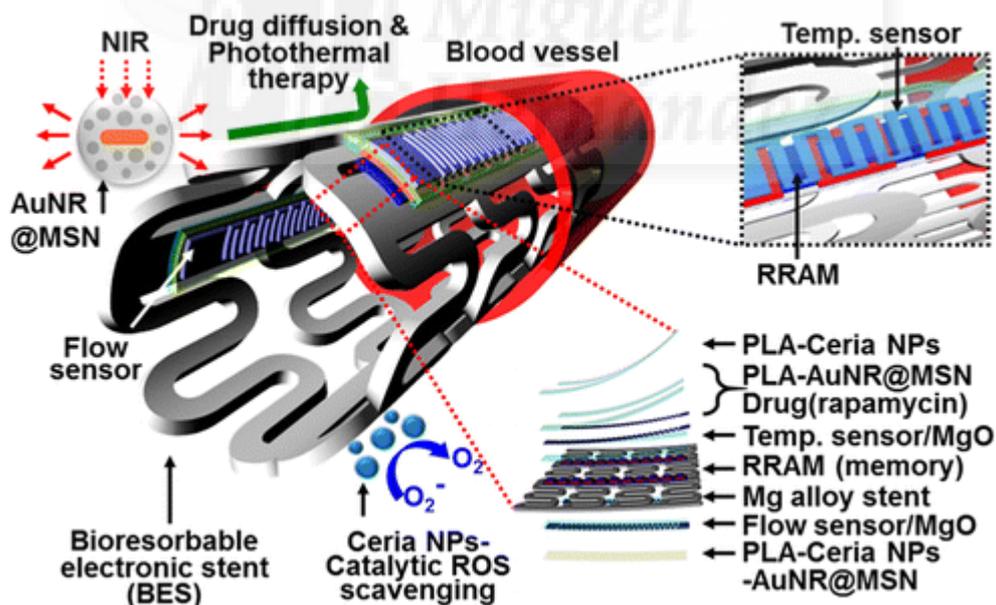


Figura 12. Representación esquemática de un stent electrónico biorreabsorbible. Este tipo de stent incluye sensores de temperatura, de flujo sanguíneo, módulos de memoria y capacidad para liberar nanopartículas terapéuticas²⁶.

NANOPARTÍCULAS BIOMIMÉTICAS

Las mejoras en biodisponibilidad, mejor direccionamiento y liberación prolongadas de medicamentos, y otras propiedades únicas de las nanopartículas, han conseguido mejorar considerablemente el tratamiento y diagnóstico de las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, la nanotecnología se enfrenta a algunos desafíos asociados con el uso de plataformas puramente sintéticas que pueden en última instancia, obstaculizar la utilidad de esta tecnología. Por ejemplo, a pesar de los esfuerzos para ocultar las nanopartículas de la detección inmunológica, se ha demostrado que todavía se pueden generar anticuerpos dirigidos contra estos nanotransportadores, lo que puede afectar en gran medida al rendimiento *in vivo* sobre múltiples administraciones²⁷.

La nanotecnología biomimética puede abordar muchas áreas diferentes, pero una parte significativa de ella se centra en la mímica de las células, que son una de las unidades fundamentales de la biología. La ventaja de esta tecnología se hace evidente cuando se considera que muchas de las propiedades, incluyendo la extensa circulación y la liberación específica de medicamentos que son altamente deseables para las plataformas de nanopartículas son inherentes en ciertos tipos de células vivas. Un ejemplo es la imitación física, como cuando los vehículos de entrega nanotecnológicos se diseñan para imitar la forma o las características de rigidez de los glóbulos rojos para asegurar que estas permanezcan en la sangre²⁸. Una reciente funcionalidad de la nanotecnología biomimética utiliza directamente la membrana celular como material de revestimiento alrededor de núcleos de nanopartículas sintéticas (Figura 13). Como resultado, se obtiene una nanopartícula recubierta de la membrana celular original y que además tiene funcionalidades únicas derivadas de la célula fuente. Con este recubrimiento se consigue la modificación y el enfoque terapéutico que se quiere dar a las nanopartículas, ya que permite conocer todas sus propiedades, y actuar como camuflaje para las células del sistema inmunitario. El resultado es una nanopartícula que puede circular durante largos períodos de tiempo dentro del torrente sanguíneo, lo que la hace muy útil para ciertas aplicaciones de suministro de medicación²⁹.

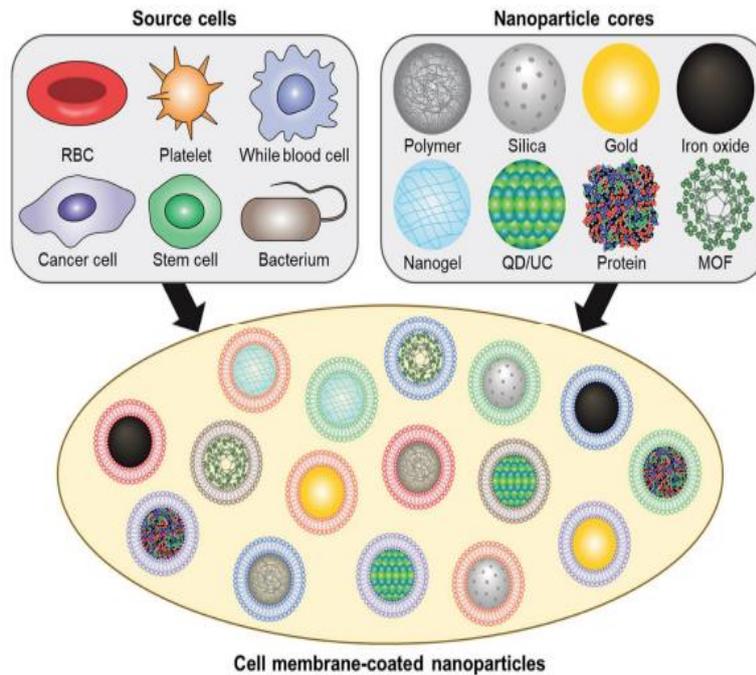


Figura 13. Nanopartículas recubiertas de membrana celular. Se han utilizado diversos tipos de células como fuentes de membranas para recubrir las nanopartículas. Cada tipo de membrana celular puede utilizar propiedades únicas para proporcionar funcionalidades a los núcleos de nanopartículas, cuyo material puede variar dependiendo de la aplicación deseada²⁹.

En cuanto a los instrumentos de diagnóstico biomimético, pueden facilitar la identificación de la inflamación existente o inminente debido a las EECCVV, así como localizar el esfuerzo directo de nuestro sistema circulatorio en respuesta a un evento trombótico. Las primeras herramientas de diagnóstico biomimético se centraron en la fijación de las plataformas naturales de nanopartículas. Por ejemplo, se han fabricado núcleos de nanopartículas PLGA con una envoltura formada por HDL. Como se sabe que el HDL se dirige a los macrófagos en las lesiones ateroscleróticas, las nanopartículas pudieron acumularse en el lugar de la enfermedad y entregar una carga de colorante fluorescente para su visualización. Además, debido a la biocompatibilidad tanto del HDL como de las PLGA, la formulación no demostró que fuera citotóxica, por lo que además se garantizaba la seguridad³⁰.

Por otro lado, las terapias con nanopartículas biomiméticas han evolucionado considerablemente. Es importante tener en cuenta que una de las causas principales de muchas enfermedades cardiovasculares es la acumulación de

placa aterosclerótica en los vasos sanguíneos. En estos vasos sanguíneos, estrechados por la presencia de dicha placa, las plaquetas pueden llegar a activarse debido al estrés que sufren los vasos por el fuerte cizallamiento. Este fenómeno natural ha inspirado a los investigadores a diseñar nanoterapias biomiméticas capaces de responder al alto estrés de cizallamiento de los fluidos en los vasos sanguíneos obstruidos.

En este estudio realizado por *Netanel Korin* y colaboradores, se pone en práctica la nanoterapia por cizallamiento, la cual se activa mediante el secado por pulverización de nanopartículas de PLGA para producir microagregados. Cuando se da un flujo fisiológico normal, los complejos se mostraron bastante estables, pero cuando se expusieron a un alto esfuerzo de cizallamiento, los microagregados se rompieron en nanopartículas individuales. Las nanopartículas más pequeñas experimentaron una menor fuerza de arrastre que les permitió permanecer adheridas a los vasos sanguíneos. Aprovechando esta propiedad, se demostró que la formulación activada por cizallamiento podía dirigirse preferentemente a coágulos de sangre y sitios de acumulación de placa para la administración de medicamentos³¹.

NANOPARTÍCULAS RECUBIERTAS DE MEMBRANA PLAQUETARIA

Las nanopartículas que se van a exponer a continuación se encuentran recubiertas con la membrana de las plaquetas de la sangre, las cuales están protegidas de las respuestas inmunológicas del cuerpo y poseen propiedades de unión similares a las plaquetas. Esto les permiten dirigirse a las células y tejidos deseados.

Cuando se dañan los vasos sanguíneos, la lesión produce proteínas como el colágeno, que son abundantes en la capa subendotelial debajo del revestimiento de los vasos sanguíneos. Las plaquetas se unen a estas proteínas con una fuerte afinidad y luego liberan factores de coagulación sanguínea (Figura 14), promoviendo la formación de plaquetas que ayudan a curar la herida. Debido a que muchas condiciones, incluyendo el cáncer, la inflamación y los eventos traumáticos, están asociadas con el daño vascular, las plaquetas han inspirado durante mucho tiempo la investigación de la entrega de medicamentos. Estas

nanopartículas han sido diseñadas para mostrar ligandos similares a las plaquetas en su superficie, lo que facilita la unión a los componentes subendoteliales. Además, se han modelado la morfología de las plaquetas y los mecanismos de coagulación, con el fin de mejorar la orientación de los medicamentos. Sin embargo, esos esfuerzos no han logrado producir nanopartículas que puedan imitar realmente el comportamiento de las plaquetas³².

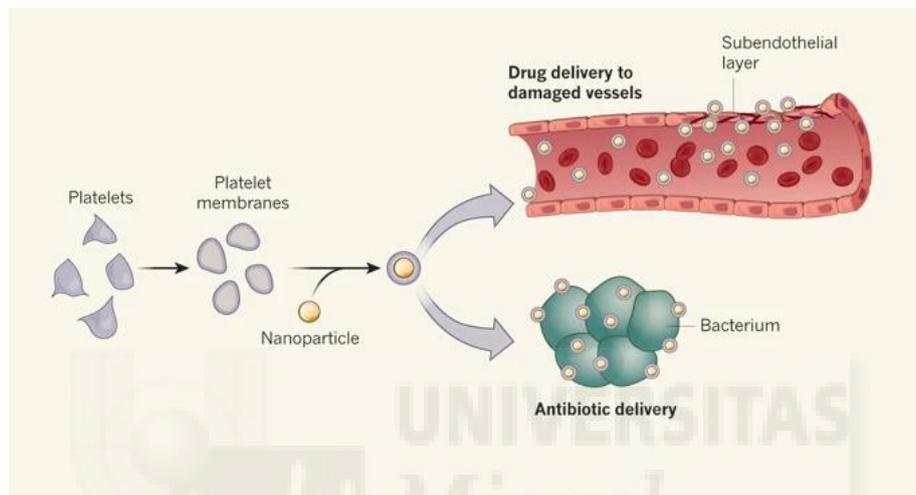


Figura 14. Representación esquemática del recubrimiento de nanopartículas con membranas plaquetarias. En la figura se muestra la liberación de medicamentos a través del tejido subendotelial. Estas nanopartículas imitan las propiedades biológicas de las plaquetas, permitiéndoles evadir la detección inmunológica en el cuerpo. Pueden unirse a la capa subendotelial expuesta de los vasos dañados, mejorando la administración de medicamentos en muchas enfermedades asociadas con la vasculatura dañada, y también pueden mejorar la administración de antibióticos a las bacterias del cuerpo³².

CONCLUSIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (EECCVV) suponen un gran riesgo para un alto porcentaje de la población mundial. A lo largo de los años, la medicina se ha centrado especialmente en conseguir tratar este tipo de patologías, que son la causa principal de muerte en todo el mundo. La nanotecnología ha demostrado ser útil en otras áreas de la medicina, y es por ello por lo que se comenzó a investigar acerca de los posibles beneficios diagnósticos y terapéuticos en el mundo cardiovascular. Estos beneficios incluyen la capacidad de encapsular mejor las cargas útiles de los medicamentos, ser capaces de producir imágenes como la resonancia magnética para facilitar el diagnóstico, dirigir las cargas útiles a los sitios enfermos para posteriormente liberarlos en intervalos de tiempo deseados... entre otras muchas más utilidades. Más recientemente, la nanotecnología biomimética ha conseguido diseñar nuevas nanoformulaciones, las cuales son cada vez más comunes, ya que han demostrado ser altamente funcionales, son fáciles de desarrollar y fabricar, y tienen características únicas que las hacen idóneas para aplicarlas en las EECCVV. En definitiva, las mejoras en el campo de la nanomedicina van a tener consecuencias sumamente positivas en la clínica de este tipo de enfermedades, y en muchas otras como tratamiento del cáncer o enfermedades respiratorias. Para lograr el mayor impacto posible, será necesario realizar más estudios y encargar ensayos clínicos para comprender plenamente el comportamiento de las nanopartículas y así poder incluirlas de forma permanente en el tratamiento y diagnóstico de multitud de enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chandarana, M., Curtis, A. & Hoskins, C. The use of nanotechnology in cardiovascular disease. *Appl Nanosci* 8, 1607–1619 (2018).
<https://doi.org/10.1007/s13204-018-0856-z>
2. Gómez-Gaete C. Nanopartículas poliméricas: tecnología y aplicaciones farmacéuticas. *Rev. Farmacol. Chile* (2014) 7(2) 7-16
<https://publicaciones.udt.cl/wp-content/uploads/2019/11/Nanopartículas-Poliméricas-Tecnología-y-Aplicaciones-Farmacéuticas.pdf>
3. Irache J.M. Nanomedicina: nanopartículas con aplicaciones médicas. *Anales Sis San Navarra*. 2008; 31(1): 7-10.
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272008000100001&lng=es
4. Mizrahy, S., & Peer, D. (2012). Polysaccharides as building blocks for nanotherapeutics. *Chem. Soc. Rev.*, 41(7), 2623–2640.
doi:10.1039/c1cs15239d
5. Urrejola, M. C.; Soto, L. V.; Zumarán, C. C.; Peñaloza, J. P.; Álvarez, B.; Fuentesvilla, I. & Haidar, Z. S. Sistemas de Nanopartículas Poliméricas II: estructura, métodos de elaboración, características, propiedades, biofuncionalización y tecnologías de auto-ensamblaje capa por capa. *Int. J. Morphol.*, 36(4):1463-1471, 2018.
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v36n4/0717-9502-ijmorphol-36-04-01463.pdf>
6. Oropesa Nuñez, R., Jauregui-Haza, U. Nanoparticles as drug carriers: characteristics and perspectives. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 43, No. 3, septiembre-diciembre, 2012.
https://www.researchgate.net/profile/Reinier_Oropesa-Nunez/publication/236649980_Las_nanoparticulas_como_portadores_de_farmacos_caracteristicas_y_perspectivas_Nanoparticles_as_drug_carriers_characteristics_and_perspectives/links/02e7e518aa6c4c1653000000.pdf
7. Palazzolo JS, Westein E, Hagemeyer CE, Wang T-Y. Targeting Nanotechnologies for the Treatment of Thrombosis and Cardiovascular

- Disease. *Semin Thromb Hemost.* 2019 Oct 15; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31614390>
8. Cicha I. Thrombosis: Novel nanomedical concepts of diagnosis and treatment. *World J Cardiol* 2015; 7(8): 434-44 <https://dx.doi.org/10.4330/wjc.v7.i8.434>
 9. Martín Giménez VM, Ruiz-Roso MB, Camargo AB, Kassuha D, Manucha W. Nanotechnology, a new paradigm in atherosclerosis treatment. *Clínica e Investig en Arterioscler* (English Ed. 2017 Sep 1;29(5):224–30). <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2016.09.002>
 10. Tavakol, M., Ashraf, S., & Brener, S. J. (2011). Risks and Complications of Coronary Angiography: A Comprehensive Review. *Global Journal of Health Science*, 4(1). <http://www.ccsenet.org/journal/index.php/gjhs/article/view/13987>
 11. Park JH, Dehaini D, Zhou J, Holay M, Fang RH, Zhang L. Biomimetic nanoparticle technology for cardiovascular disease detection and treatment. Vol. 5, *Nanoscale Horizons*. Royal Society of Chemistry; 2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32133150>
 12. Sharma, S. (2004). Cardiac troponins. *Journal of Clinical Pathology*, 57(10), 1025–1026. doi:10.1136/jcp.2003.015420
 13. Xu Q, Davis JJ. The Diagnostic Utility of Electrochemical Impedance. *Electroanalysis*. 2014 Jun 1;26(6):1249–58. <http://doi.wiley.com/10.1002/elan.201400035>
 14. Brondani, D., Piovesan, J. V., Westphal, E., Gallardo, H., Fireman Dutra, R. A., Spinelli, A., & Vieira, I. C. (2014). A label-free electrochemical immunosensor based on an ionic organic molecule and chitosan-stabilized gold nanoparticles for the detection of cardiac troponin T. *The Analyst*, 139(20), 5200–5208. doi:10.1039/c4an00993b
 15. Kimmel, D. W., LeBlanc, G., Meschievitz, M. E., & Cliffel, D. E. (2011). Electrochemical Sensors and Biosensors. *Analytical Chemistry*, 84(2), 685–707. doi:10.1021/ac202878q

16. Lemaster, J. E., & Jokerst, J. V. (2016). What is new in nanoparticle-based photoacoustic imaging? *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(1), e1404. doi:10.1002/wnan.1404
17. Adhi, M., & Duker, J. S. (2013). Optical coherence tomography – current and future applications. *Current Opinion in Ophthalmology*, 24(3), 213–221. doi: 10.1097/icu.0b013e32835f8bf8
18. Mulder, W. J. M., Strijkers, G. J., van Tilborg, G. A. F., Griffioen, A. W., & Nicolay, K. (2006). Lipid-based nanoparticles for contrast-enhanced MRI and molecular imaging. *NMR in Biomedicine*, 19(1), 142–164. <https://doi.org/10.1002/nbm.1011>
19. Runge, V. M., Carollo, B. R., Wolf, C. R., Nelson, K. L., & Gelblum, D. Y. (1989). Gd DTPA: a review of clinical indications in central nervous system magnetic resonance imaging. *RadioGraphics*, 9(5), 929–958. doi:10.1148/radiographics.9.5.2678298
20. Kamaly, N., Fredman, G., Subramanian, M., Gadde, S., Pesic, A., Cheung, L., ... Cameron Farokhzad, O. (2013). Development and in vivo efficacy of targeted polymeric inflammation-resolving nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(16), 6506–6511. doi:10.1073/pnas.1303377110
21. Wang Y, Li L, Zhao W, Dou Y, An H, Tao H, et al. Targeted Therapy of Atherosclerosis by a Broad-Spectrum Reactive Oxygen Species Scavenging Nanoparticle with Intrinsic Anti-inflammatory Activity. *ACS Nano*. 2018 Sep 25;12(9):8943–60. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsnano.8b02037#>
22. Katsuki, S., Matoba, T., Nakashiro, S., Sato, K., Koga, J. -i., Nakano, K., Egashira, K. (2013). Nanoparticle-Mediated Delivery of Pitavastatin Inhibits Atherosclerotic Plaque Destabilization/Rupture in Mice by Regulating the Recruitment of Inflammatory Monocytes. *Circulation*, 129(8), 896–906. doi:10.1161/circulationaha.113.002870
23. Duivenvoorden, R., Tang, J., Cormode, D. P., Mieszawska, A. J., Izquierdo-Garcia, D., Ozcan, C., ... Mulder, W. J. M. (2014). A statin-loaded reconstituted high-density lipoprotein nanoparticle inhibits

- atherosclerotic plaque inflammation. *Nature Communications*, 5(1). doi:10.1038/ncomms4065
24. Juenet, M., Aid-Launais, R., Li, B., Berger, A., Aerts, J., Ollivier, V., ... Chauvierre, C. (2018). Terapia trombolítica basada en nanopartículas de polímero funcionalizadas con fucoidan dirigidas a P-selectina. *Biomateriales*, 156, 204–216. doi: 10.1016 / j.biomaterials.2017.11.047
25. Zhao, J., Mo, Z., Guo, F., Shi, D., Han, Q. Q., & Liu, Q. (2016). Drug loaded nanoparticle coating on totally bioresorbable PLLA stents to prevent in-stent restenosis. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 106(1), 88–95. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33794>
26. Son, D., Lee, J., Lee, D. J., Ghaffari, R., Yun, S., Kim, S. J., ... Kim, D.-H. (2015). Bioresorbable Electronic Stent Integrated with Therapeutic Nanoparticles for Endovascular Diseases. *ACS Nano*, 9(6), 5937–5946. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b00651>
27. Ishida, T., Harada, M., Wang, X. Y., Ichihara, M., Irimura, K., & Kiwada, H. (2005). Accelerated blood clearance of PEGylated liposomes following preceding liposome injection: Effects of lipid dose and PEG surface-density and chain length of the first-dose liposomes. *Journal of Controlled Release*, 105(3), 305–317 <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.04.003>
28. Modery-Pawlowski, C. L., Tian, L. L., Pan, V., & Sen Gupta, A. (2013). Synthetic Approaches to RBC Mimicry and Oxygen Carrier Systems. *Biomacromolecules*. <https://doi.org/10.1021/bm400074t>
29. Fang, R. H., Kroll, A. V., Gao, W., & Zhang, L. (2018). Cell Membrane Coating Nanotechnology. *Advanced Materials*, 30(23), 1706759. <https://doi.org/10.1002/adma.201706759>
30. Sanchez-Gaytan, B. L., Fay, F., Lobatto, M. E., Tang, J., Ouimet, M., Kim, Y., ... Mulder, W. J. M. (2015). HDL-Mimetic PLGA Nanoparticle To Target Atherosclerosis Plaque Macrophages. *Bioconjugate Chemistry*, 26(3), 443–451. doi:10.1021/bc500517k <https://doi.org/10.1021/bc500517k>
31. Korin, N., Kanapathipillai, M., Matthews, B. D., Crescente, M., Brill, A., Mammoto, T., ... Ingber, D. E. (2012). Shear-Activated Nanotherapeutics

for Drug Targeting to Obstructed Blood Vessels. *Science*, 337(6095), 738–742. doi:10.1126/science.1217815

32. Farokhzad, O. Platelet mimicry. *Nature* 526, 47–48 (2015).
<https://doi.org/10.1038/nature15218>

