

**Nanoacarreadores:
Novedoso enfoque en la lucha
contra la enfermedad de
chagas**



Dra. Berenice Prestegui Martel
Dra. Bertha Espinoza Gutiérrez
Laboratorio de estudios sobre tripanosomiasis y
Leishmaniasis
Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

Abstract

Chagas disease is a little known disease, transmitted by a parasite named *Trypanosoma cruzi*. In 2005, the World Health Organization declared it a neglected disease, which contributed to spreading knowledge about the characteristics of the disease, as well as supporting scientific research into new and better treatments, early diagnosis, detection and care of people with the disease. In the field of scientific research, particles smaller than viruses are being studied, in order to efficiently carry already tested drugs; but also with the application of this nanotechnology, to the use of nanocarriers that manage to reach the parasite and modify its way of reproduction or infection, thus fighting the disease.

Keywords: Chagas disease, nanoparticles, virus-like particles, *Trypanosoma cruzi*.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, nanopartículas, partículas tipo viral, *Trypanosoma cruzi*.

Conociendo la Enfermedad de Chagas y el causante de ella.

La enfermedad de Chagas es causada por el parásito intracelular *Trypanosoma cruzi*, y transmitida principalmente por el vector hematófago de la subfamilia *Triatominae*, otras vías de transmisión son: a través de transfusiones sanguíneas provenientes de personas infectadas, por vía congénita, es decir, cuando una madre infectada lo transmite a su bebé durante la gestación, y por vía oral. La enfermedad y el parásito fueron descritos por el médico brasileño Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas en el año 1909.

El ciclo de vida del parásito está

constituido por una fase de replicación dentro del sistema digestivo del insecto vector (epimastigote), el insecto al alimentarse de la sangre del huésped, expulsa al parásito en sus heces (tripomastigote, fase infectiva), muy cerca de la zona en la que se alimenta. Cuando el huésped siente comezón, debido al piquete del insecto, este suele rascar la zona y producir una diminuta entrada hacia los vasos sanguíneos del huésped, dejando así, una vía de entrada al parásito. Así, *T. cruzi* invade las células para iniciar una fase de replicación (amastigote) e infección de los tejidos del hospedador.

Por años, la terapia farmacológica se ha basado en dos fármacos principalmente, el benznidazol (Bz) y el nifurtimox (Nfx). Ambos tienen marcadas desventajas, tales como: baja eficacia en la tasa de muerte del parásito en su fase intracelular, múltiples y graves efectos adversos. Estos últimos son la causa que genera el abandono del tratamiento por parte de los pacientes. El Bz, es el fármaco de primera línea para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, que de acuerdo con el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (Biopharmaceutical Classification System) es un fármaco con baja solubilidad y baja permeabilidad, lo que significa baja penetración en los tejidos afectados, por lo tanto baja capacidad para combatir al parásito. Cuando el fármaco es biotransformado en el hígado del huésped, se generan metabolitos tóxicos que pueden provocar vómitos, dolor abdominal, hepatitis y neuropatías, entre otros efectos adversos (Muraca y col., 2020). En el caso de Nfx, este se ha usado desde los últimos 40 años, y en 1970 fue aprobado para el tratamiento de la enfermedad en pacientes adultos y pediátricos de países de Latinoamérica, sin embargo,

para los pacientes pediátricos no se tienen bien claros los regímenes de dosificación. En el estudio realizado por Stass y col. se determinó que las dosis administradas a pacientes pediátricos (menores de 18 años y con peso corporal mayor a 2.5) no dejan un efecto benéfico claro para ellos, pues las dosificaciones se basan en las dosis para adultos pero ajustadas al peso de los pacientes pediátricos, esto dificulta valorar la eficacia del fármaco así como sus efectos adversos (Stass y col, 2022).

Estas características ponen de manifiesto la necesidad de realizar investigación enfocada en buscar nuevos blancos terapéuticos, diseñar y sintetizar nuevos fármacos o probar otros ya conocidos. Una novedosa forma de abordar estas investigaciones es el uso de nanotecnología. En este contexto, surge la nanomedicina, la cual se definió en 2005 como la aplicación de la nanotecnología

en la resolución de problemas de salud, que resulta en disminución de costos de desarrollo de nuevos fármacos. El término se refiere al uso de tecnología que implica manipular materiales de tamaño nanométrico ($1 \text{ nm} = 0.000000001 \text{ m}$) (Figura 1); los cuáles tienen blancos terapéuticos que son componentes celulares, como: proteínas, ácidos nucleicos, aquí se incluyen al ácido desoxirribonucleico (ADN) y al ácido ribonucleico (ARN). Estos materiales se usan para curar enfermedades, corregir la expresión de una proteína, o eliminar virus y bacterias que causan enfermedades. Sus propiedades físicas, químicas o biológicas les proveen la ventaja de ser controladas en un laboratorio, lo que les otorga estabilidad y mayor tiempo de vida media, les permite dirigirse hacia células específicas y aumentar su eficacia (Pautler y Brenner, 2010; Britto y col., 2022).

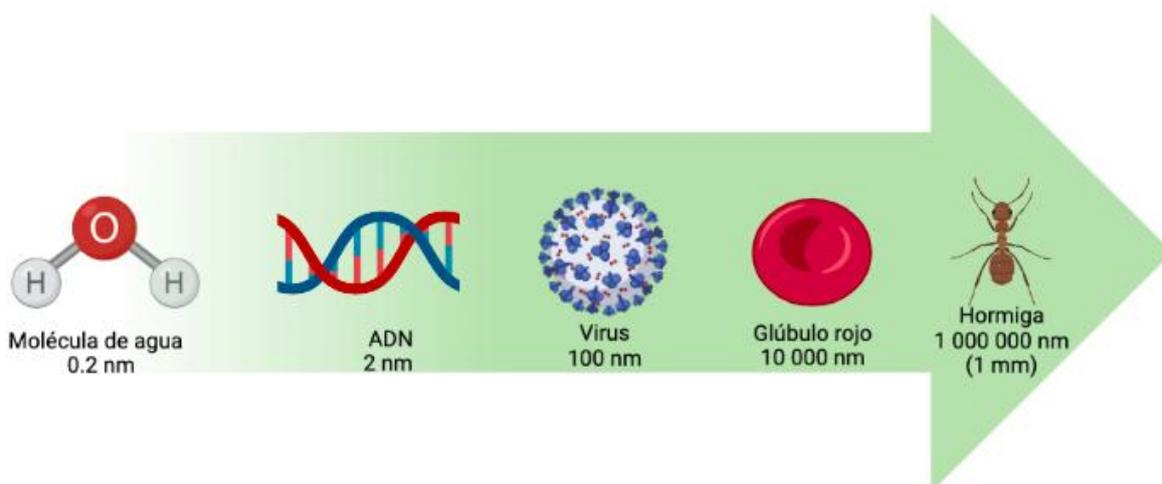


Figura 1: Comparación de tamaños en escala de nanómetros, de diferentes estructuras. El tamaño de un nanomaterial comprende entre 1 y 100 nm. Created with BioRender.com

El ADN es el centro de control que contiene la información para construir fragmentos de RNA mensajero, y a

partir de este, construir aminoácidos correctamente leídos para producir miles de proteínas capaces de realizar

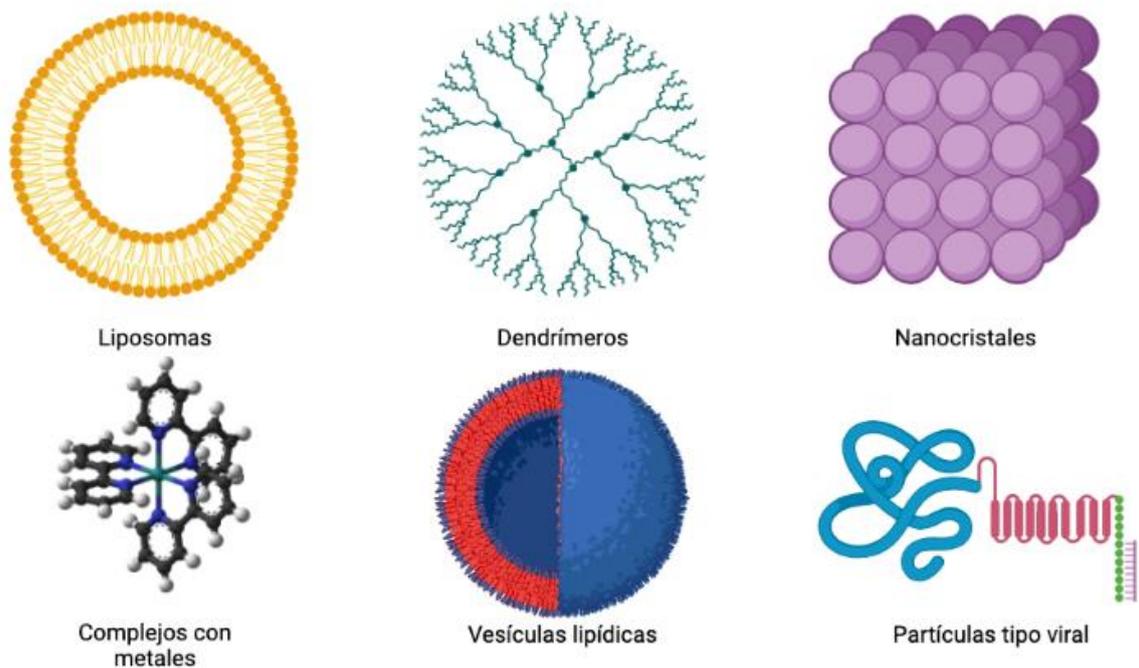
funciones específicas dentro de la célula. 2010).

En el humano, muchas enfermedades aparecen debido a alteraciones en cualquiera de estas moléculas. En otros organismos, como en bacterias y protozoarios, las proteínas son importantes para poder infectar, crecer y replicarse dentro de un huésped, causando así enfermedades.

Las nanopartículas pueden resolver problemas como: aumentar la disolución en agua de fármacos poco hidrosolubles, evitar la degradación enzimática, dirigir el fármaco a células específicas disminuyendo así, los efectos adversos y aumentando la eficacia del fármaco, entre otros (Pautler y Brenner,

Los materiales mas usados en el campo de la nanomedicina son las nanopartículas, que pueden ser: dendrímeros, liposomas, vesículas lipídicas, nanocristales, complejos con metales, complejos nanométricos de ciclodextrinas y más recientemente, las partículas tipo viral. Figura 2.

Se han diseñado gran variedad de sistemas de tamaño nanométrico, empleando diversidad de materiales. Aquí nos enfocaremos en el uso de nanopartículas para mejorar el tratamiento de la enfermedad de Chagas.



Created in BioRender.com 

Figura 2: Representación de algunos nanomateriales de interés en medicina. Las nanopartículas tienen diversidad en su origen químico, forma y tamaño, lo que permite ampliar las posibilidades de combinación con fármacos o ser acarreadores de ácidos nucleicos. Created with BioRender.com

Dendrimeros Los dendrimeros son macromoléculas nanoestructuradas ramificadas, con forma globular y múltiples cargas, positivas o negativas, que le confieren la capacidad de transportar fármacos de naturaleza variable. Estas nanoestructuras, mejoran las propiedades farmacocinéticas, aumentan la solubilidad en agua, protegen al fármaco de la degradación cuando circulan en sangre y mejoran su paso a través de las membranas biológicas. Se han diseñado estructuras de dendrimeros con fármacos parecidos a los denominados triazoles, como el fluconazol (fármaco usado en infecciones causadas por hongos) pero con fines de actividad contra *T. cruzi*. En estos estudios se encontró que el uso de dendrimeros muestra actividad antiproliferativa y alta actividad contra epimastigotes de *T. cruzi* in vitro (Juárez y col., 2019).

Liposomas

Los liposomas son estructuras construidas por lípidos y sus derivados, que tienen la característica de transportar fármacos hidrofílicos como lipofílicos. Son sistemas biodegradables, compatibles con la naturaleza celular y tienen la ventaja de poder modificar su superficie, para poder identificar un blanco terapéutico específico. Bz en estructuras de liposomas ha sido probado, y se ha observado mayor cantidad de Bz en hígado cuando va en liposoma comparado con su forma libre (Morilla y Romero, 2015).

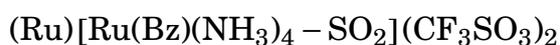
Nanocristales

El Bz es una molécula hidrofóbica, es decir, no se disuelve en agua. Algunos grupos de investigación se enfocan en diseñar nanocristales de Bz, que son estructuras de Bz combinadas con un polímero biocompatible (Bz-nps), que mejora la solubilidad del fármaco, en

agua. Además, han encontrado que estas nanopartículas no causan la hemólisis de glóbulos rojos (eritrocitos), lo cual disminuiría la toxicidad en modelos en animales; también, se ha observado inhibición del amastigote de *T. cruzi* en cardiomiocitos en cultivo (Scalise y col., 2016).

Complejos con metales

Respecto al área de metales de coordinación se han reportado complejos de Bz con rutenio



que proporcionan mayor solubilidad en agua a dicho fármaco y disminuye la toxicidad en cultivos de células. Un hallazgo interesante fue encontrar reducción de la carga parasitaria en experimentos in vitro y con animales (Silva y col., 2010).

Partículas tipo viral

El trabajo de la Dra Bertha Espinoza Gutiérrez, en el Laboratorio de estudios sobre Tripanosomiasis y Leishmaniasis, del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM ha resultado en el diseño de nanopartículas transportadoras de ácidos nucleicos, que constituye un avance biotecnológico en la búsqueda de dirigir de manera específica un fármaco, en este caso un oligonucleótido antisentido (OAS), hacia el parásito.

Los avances en este campo se centran en el estudio de proteínas importantes para la sobrevivencia e infección del parásito. Sabemos que para que una proteína sea fabricada por una célula, un ARN mensajero (mARN) debe ser sintetizado en el núcleo y transportado hacia el citoplasma, posteriormente es conducido hacia las estructuras intracelulares denominadas ribosomas, lugar donde se crean nuevas proteínas

que realizan actividades vitales para el parásito. La estrategia tiene como objetivo bloquear el paso de estos mRNA, mediante el uso de OAS que se unen de manera complementaria al

mRNA, evitando que sea transportado al ribosoma y que sea sintetizado, deteniendo así, la función de proteínas clave (Figura 3).

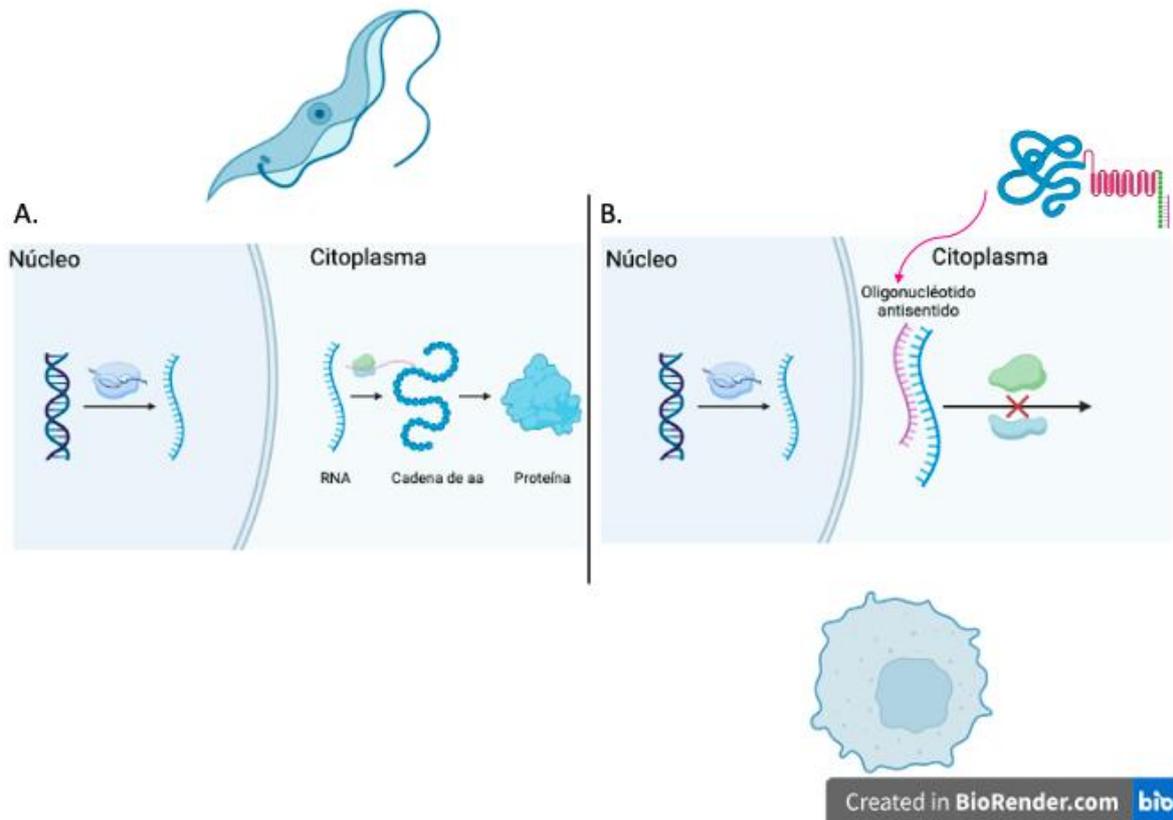


Figura 3: Bloqueo de la síntesis de proteínas a través de OAS. A) Esquema de la síntesis de una proteína a partir de su RNA. B) Mecanismo de bloqueo del RNA por medio de un OAS para evitar la síntesis de proteína. Created with BioRender.com

Debido a que estas estructuras de OAS, son sensibles a la degradación por enzimas localizadas en el citoplasma del parásito, se han buscado formulaciones que protejan al OAS de esta degradación, pero que además, lo entreguen y liberen de manera eficiente dentro del parásito de *T. cruzi*. Existen grupos de investigación que centran sus recursos en el diseño de Partículas Tipo Viral (Virus Like Particle, VLP por sus siglas en inglés) que transporten un mRNA. Las VLP tienen diferentes estructuras, hablaremos de las formadas por una nanoestructura

denominada tribloque. El grupo de investigación, en colaboración con el grupo del Dr. Hernández del Instituto de Química de la UNAM diseñó esta nanopartícula artificial denominada C-S10-K12, en la Figura 4 podemos observar la partícula compuesta por tres partes. La parte 1 se refiere a un polipéptido en espiral de 400 aminoácidos que le da estabilidad a la nanopartícula; la parte 2, es la columna central y está formada por 10 cadenas rígidas de proteína similar a la seda; finalmente, la parte 3, es una serie de lisinas (K12) que

sirven de unión al mRNA. Con este diseño, se han realizado estudios de estabilidad y de transfección en cultivos celulares; aunque se ha encontrado baja eficiencia en la capacidad de la nanopartícula para atravesar la membrana de células de mamífero, el

diseño permite la protección del mRNA mensajero dentro de la estructura de la nanopartícula pues han visto que se encapsula, quedando dentro de ella, a diferencia de otros lipocomplejos donde el mRNA queda fuera, exponiéndolo a la degradación (Jekhmane y col., 2017).

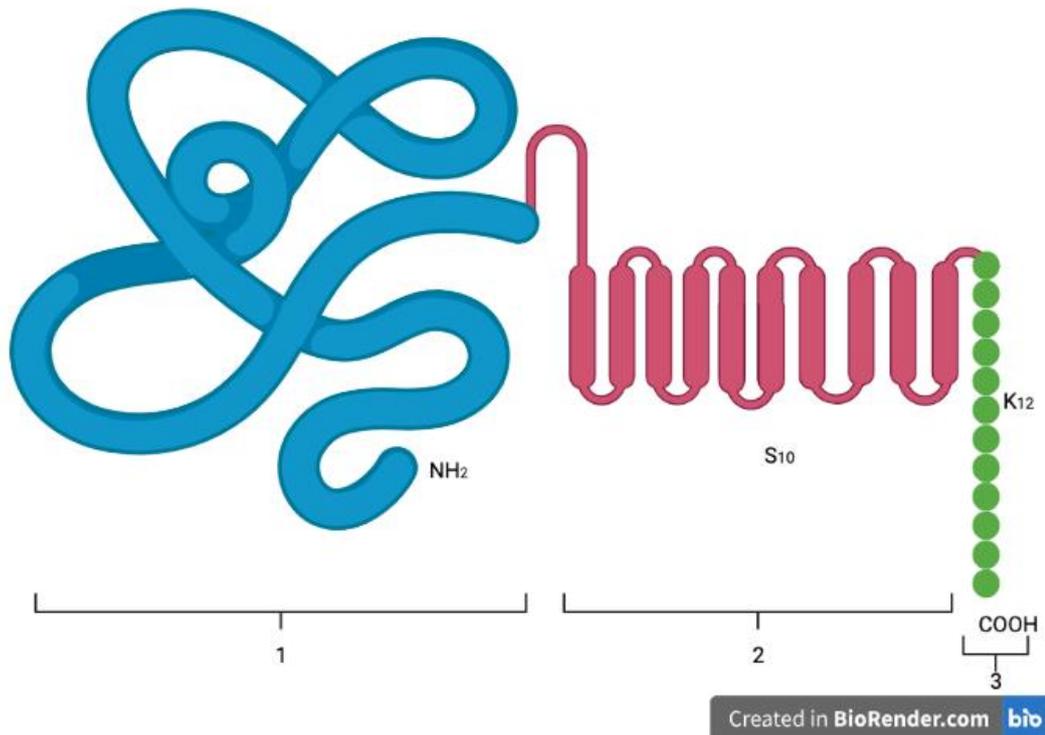


Figura 4: Estructura de nanopartículas tipo viral que acarrean OAS. Created with BioRender.com

Un paso importante en la ruta que siguen estas nanopartículas en la nanomedicina, fue el dado por el grupo de investigadores dirigidos por la Dra Bertha Espinoza, pues en sus experimentos demostraron la eficacia de bloqueo de un mRNA dirigido hacia un receptor de membrana del parásito, este quedó evidenciado porque se encontró una cantidad de mRNA menor cuando se expusieron los parásitos a la nanopartícula comparado con parásitos que no fueron expuestos a la nanopartícula (Cárdenas y col., 2020). Aún queda mucho por desarrollar, como por ejemplo agregar moléculas en la

nanopartícula que las dirijan a blancos específicos, agregar facilitadores de la entrada de las nanopartículas al parásito. Hay un trabajo intenso detrás de esta compleja nanotecnología, y este tipo de trabajo se está haciendo en varios laboratorios de la UNAM.

Agradecimientos

BPM agradece al Programa de Becas Posdoctorales de la SECIHTI. BPM agradece a Kevin Axel Prestegui Ramos por el apoyo en la conceptualización de este manuscrito.

Referencias

- [1] Britto Hurtado, R., Cortez Valadez, M., & Flores Acosta, M. (2022). Aplicaciones tecnológicas de las nanopartículas en la medicina e industria. *Epistemus*, 16(33).
- [2] Cárdenas-Guerra, R. E., Moreno-Gutierrez, D. S., Vargas-Dorantes, O. J., Espinoza, B., & Hernandez-Garcia, A. (2020). Delivery of antisense DNA into pathogenic parasite *Trypanosoma cruzi* using virus-like protein-based nanoparticles. *Nucleic acid therapeutics*, 30(6), 392–401.
- [3] Jekhmane, S., de Haas, R., Paulino da Silva Filho, O., van Asbeck, A. H., Favretto, M. E., Hernandez Garcia, A., Brock, R., & de Vries, R. (2017). Virus-like particles of mRNA with artificial minimal coat proteins: particle formation, stability, and transfection efficiency. *Nucleic acid therapeutics*, 27(3), 159–167.
- [4] Juárez-Chávez, L., Pina-Canseco, S., Soto-Castro, D., Santillan, R., Magaña-Vergara, N. E., Salazar-Schettino, P. M., Cabrera-Bravo, M., & Pérez-Campos, E. (2019). In vitro activity of steroidal dendrimers on *Trypanosoma cruzi* epimastigote form with PAMAM dendrons modified by click chemistry. *Bioorganic chemistry*, 86, 452–458.
- [5] Morilla, M. J., Romero, E. L. (2015). Nanomedicines against Chagas disease: an update on therapeutics, prophylaxis and diagnosis. *Nanomedicine*, 10(3), 465–481.
- [6] Muraca GS, Talevi A, Pesce GO. (2020). Enfermedad de Chagas: novedades en naomedicinas como estrategia terapéutica. *Ciencia Reguladora*, Abr (6): 32-37.
- [7] Pautler, M., & Brenner, S. (2010). Nanomedicine: promises and challenges for the future of public health. *International journal of nanomedicine*, 5, 803–809.
- [8] Scalise ML, Arrúa EC, Rial MS, Esteva MI, Salomon CJ, Fichera LE. (2016). Promising efficacy of benznidazole nanoparticles in acute *Trypanosoma cruzi* murine model: In-vitro and in-vivo studies. *Am J Trop Med Hyg*, Aug 1;95(2):388–393.
- [9] Silva, J. J., Guedes, P. M., Zottis, A., Balliano, T. L., Nascimento Silva, F. O., França Lopes, L. G., Ellena, J., Oliva, G., Andricopulo, A. D., Franco, D. W., & Silva, J. S. (2010). Novel ruthenium complexes as potential drugs for Chagas's disease: enzyme inhibition and in vitro/in vivo trypanocidal activity. *British journal of pharmacology*, 160(2), 260–269.
- [10] Stass, H., Ince, I., Grossmann, U., Weimann, B., & Willmann, S. (2022). Nifurtimox for treatment of chagas disease in pediatric patients: the challenges of applying pharmacokinetic-pharmacodynamic principles to dose finding. *The AAPS journal*, 24(5), 92.