

Efectos biológicos de las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas empleadas en el diagnóstico de enfermedades neuroinflamatorias

Biological effects of superparamagnetic iron oxide nanoparticles used in the diagnosis of neuroinflammatory diseases

Graphical Abstract (GA)



Efectos biológicos de las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas empleadas en el diagnóstico de enfermedades neuroinflamatorias

Biological effects of superparamagnetic iron oxide nanoparticles used in the diagnosis of neuroinflammatory diseases

***Daniela Lozano
Cifuentes****

** Programa de Bioquímica. Facultad de Ciencias. Universidad Antonio Nariño.*

*Dirigido por: Dr.
Monica Losada
Barragan*

Resumen

La neuroinflamación es una característica fisiopatológica de trastornos cerebrales, incluidas las enfermedades neurodegenerativas, cuyo diagnóstico oportuno constituye un desafío biomédico. El desarrollo de nuevas tecnologías de diagnóstico incluye el uso de nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas, las cuales ofrecen características ferromagnéticas que les permiten ser usadas como agentes de contraste en resonancia magnética de imagen. Adicionalmente, al conjugar estas nanopartículas con marcadores específicos aumenta el nivel de confianza del diagnóstico clínico. Por tanto, es necesario comprender los efectos biológicos de estas nanopartículas con el fin de ser escaladas a la práctica clínica. Se ha reportado que los principales efectos de las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas *in vitro* incluyen: disminución de la viabilidad celular, formación de radicales libres de oxígeno, daño al ADN y mal plegamiento proteico. A nivel *in vivo* se ha identificado acumulación en hígado, pulmones y riñones, favoreciendo la producción de especies reactivas de oxígeno. Por lo que resulta primordial considerar el recubrimiento, dosis, tamaño de la partícula y el sistema fisiológico a ser aplicado. Esta revisión identifica los efectos de nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas a nivel celular y tisular, para poder ser utilizadas en el área diagnóstica de enfermedades neuroinflamatorias.

Efectos biológicos de las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas empleadas en el diagnóstico de enfermedades neuroinflamatorias

Biological effects of superparamagnetic iron oxide nanoparticles used in the diagnosis of neuroinflammatory diseases

Palabras clave: Nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas, neuroinflamación, resonancia magnética, efectos biológicos.

Abstract

Neuroinflammation is a pathophysiological feature of brain disorders, including neurodegenerative diseases, whose timely diagnosis constitutes a biomedical challenge. The development of new diagnostic technologies includes the use of superparamagnetic iron oxide nanoparticles, which offer ferromagnetic characteristics that allow them to be used as contrast agents in magnetic resonance imaging. Additionally, by conjugating these nanoparticles with specific markers, the confidence level of the clinical diagnosis increases. Therefore, it is necessary to understand the biological effects of these nanoparticles in order to be scaled to clinical practice. The main effects of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in vitro have been reported to include: decreased cell viability, oxygen free radical formation, DNA damage, and protein misfolding. At the in vivo level, accumulation in the liver, lungs and kidneys has been identified, favoring the production of reactive oxygen species. Therefore, it is essential to consider the coating, dose, particle size and the physiological system to be applied. This review identifies the effects of superparamagnetic iron oxide nanoparticles at the cellular and tissue level, to be used in the diagnostic area of neuroinflammatory diseases.

Keywords: Superparamagnetic iron oxide nanoparticles, neuroinflammation, magnetic resonance imaging, biological effects

Introducción

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por provocar un deterioro neurológico progresivo, disfunción lenta y pérdida de neuronas y axones en el sistema nervioso central (SNC). De acuerdo con su patología se clasifican en diferentes grupos: trastorno del movimiento y la postura (enfermedad de Parkinson), síndrome demencial (enfermedad de Alzheimer); debilidad y atrofia muscular (esclerosis lateral amiotrófica, ELA) y ataxia progresiva (atrofia olivopontocerebelosa) (Amor et al., 2010). Se estima que en todo el mundo hay 46,8 millones de personas que viven con la enfermedad de Alzheimer u otras demencias, provocando un gran impacto personal y familiar. Muchas de estas enfermedades se ven asociadas a procesos neuroinflamatorios, afecciones que involucran componentes del SNC y alteran la respuesta inmune.

La neuroinflamación es entendida como una respuesta inflamatoria que ocurre en el SNC. Para esto, ocurren diversos fenómenos, que comprenden desde la alteración morfológica en células gliales hasta la invasión y destrucción de tejidos por leucocitos que migran desde la periferia hacia el SNC. Las variaciones en la homeostasis de los tejidos y el daño neuronal provocado por diferentes factores (agregación proteica, microorganismos, lesión etc.) inician una respuesta tisular por células residentes del SNC, mediada por microglía y astrocitos, que involucra la producción de factores inmunológicos como son quimiocinas y citocinas (Martínez-Tapia et al., 2018).

Una de las respuestas más importantes mediada por la microglía durante la neuroinflamación es la liberación de mediadores proinflamatorios que favorecen la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) (Chen et al., 2016). La BHE es una barrera física presente entre los capilares y el parénquima del SNC, cuya función es regular el flujo de moléculas, asegurar la homeostasis y la correcta funcionalidad del sistema neurovascular (Varatharaj & Galea, 2017).

Cuando la BHE se ve afectada por desórdenes como infecciones, traumas y estrés celular puede alterarse su estructura estrechamente tejida y, por tanto, el flujo de moléculas e iones que entran y salen del cerebro, permitiendo la entrada de toxinas, patógenos, o células del sistema inmune al cerebro, causando inflamación en el SNC (Förster, 2008).

La marcación dirigida a procesos neuroinflamatorios implica cruzar la BHE para llegar al SNC, es por esto que el diagnóstico de estas enfermedades es muy limitado. Notablemente, es necesario desarrollar técnicas diagnósticas que permitan comprender el desarrollo y progresión de las alteraciones de la BHE en tiempo real bajo condiciones neuroinflamatorias. Es por ello que el desarrollo de nuevas tecnologías de diagnóstico en medicina incluye la nanotecnología para mejorar la detección temprana y el tratamiento de este tipo de enfermedades.

La nanotecnología es una tecnología habilitadora que se ocupa de objetos de tamaño nanométrico, como lo son las nanopartículas (NPs). En las últimas décadas, se han sintetizado y propuesto varios tipos de NPs y micropartículas con propiedades magnéticas a ser empleadas como agentes de contraste para diagnóstico e imagenología en el campo de la biomedicina (Panariti et al., 2012). Las NPs magnéticas en su forma más sencilla están compuestas por un núcleo magnético y una envoltura polimérica, oscilando entre 5 y 100 nm de diámetro (Lamas, 2016). Las aplicaciones de este tipo de NPs derivan fundamentalmente de las propiedades físicas debido a su núcleo magnético, su alta relación tamaño/superficie y la capacidad que poseen para unir moléculas de interés a su superficie. Por otro lado, su reducido tamaño facilita la interacción con estructuras celulares, siendo esta una herramienta útil para manipular diferentes funciones e interactuar con estructuras subcelulares y moleculares (Lamas, 2016).

Las NPs con aplicaciones biomédicas consisten en un núcleo de óxido de hierro (magnetita, maghemita u otras ferritas insolubles), que se caracteriza por un momento magnético intenso en presencia de un campo magnético externo estático. Las NPs de óxido de hierro

superparamagnéticas (SPION) se clasifican de acuerdo con su tamaño: NPs de óxido de hierro superparamagnéticas (SPIO) (50-150 nm), NPs de óxido de hierro superparamagnéticas ultrapequeñas (USPIO) (<50 nm) y NPs de óxido de hierro muy pequeñas (VSPIO) (<10 nm) (Cortajarena et al., 2014). Las SPIO se caracterizan por la captación específica por el sistema de fagocitos mononucleares (SFM) y sus principales objetivos clínicos son el tumor hepático y células metastásicas de diferentes tipos de cáncer (Saito et al., 2012). Por otro lado, debido al pequeño tamaño de las USPIO y su recubrimiento hidrófilo, las USPIO generalmente pueden evitar la captación temprana y masiva por parte de los macrófagos del SFM. Esto les confiere propiedades de circulación prolongada en el torrente sanguíneo después de la administración intravenosa (Di Marco et al., 2007).

Las SPION son sustancias ferromagnéticas con características propias debido a su pequeño tamaño. La magnetización de tales nanopartículas sigue un campo magnético externo y son más conocidas como “superparamagnéticas” debido a su gran susceptibilidad magnética y su alta estabilidad coloidal, haciéndolas atractivas para una amplia gama de usos. Las SPION poseen la capacidad de unirse con moléculas de interés biológico a su superficie y mejorar el contraste en la resonancia magnética (RM). La RM es un método de diagnóstico no invasivo que proporciona información sobre los cambios morfológicos y fisiológicos de los órganos internos a lo largo del tiempo (Barrefelt et al., 2014), permitiendo monitorearlos durante la evolución de una enfermedad o tratamiento (Farrell et al., 2013). Por ello, es necesario definir el potencial de las SPION para ser empleadas como agentes de contraste biocompatibles con especificidad molecular.

Para poder definir el potencial que tienen las NPs, se han realizado varios estudios *in vitro* e *in vivo* donde se han observado los efectos positivos y negativos que poseen las SPION. Entre los efectos negativos más frecuentes encontramos estrés oxidativo, daño al ADN (Nemmar et al.,

2016), estrés del retículo endoplasmático (RE) (Morris et al., 2018), daño a organelos y muerte celular (Laffon et al., 2016). No obstante, las SPION han demostrado que son eficaces en el área de diagnóstico por RM, sin tener efectos adversos a nivel celular.

La aplicación a futuro de nanopartículas para diagnóstico de enfermedades en el SNC debe centrarse en aumentar el rendimiento y especificidad del medio de contraste en el tejido cerebral; mejorando la permeabilidad de la BHE, reduciendo su neurotoxicidad y efectos adversos (He et al., 2018). Teniendo en cuenta que estas nanopartículas por sí solas son inespecíficas, pero que pueden ser conjugadas con moléculas que proporcionan el reconocimiento de factores moleculares a nivel celular, esta propuesta busca identificar por medio de una revisión bibliográfica los efectos biológicos de las SPION empleadas en el diagnóstico de enfermedades neuroinflamatorias. Para ello se han tomado bases de datos (Scopus y Google Scholar) caracterizada por secciones en el área de investigación, en donde encontraremos artículos recientes con estudios *in vitro* acerca de los efectos celulares e *in vivo* de los efectos tisulares o sistémicos que pueden llegar a provocar las SPION.

Estado del arte

Marco Teórico

Barrera hematoencefálica

La BHE es una barrera física presente entre los capilares y el parénquima del SNC, cuya función es regular el flujo de moléculas, permitiendo el paso de agua, lípidos, glucosa y aminoácidos que son de gran importancia para la función neuronal. De igual forma, asegura la homeostasis y correcta funcionalidad del sistema neurovascular. La BHE está compuesta por células endoteliales especializadas que recubren el interior de los vasos sanguíneos, por pericitos, astrocitos, microglía, oligodendrocitos y neuronas inmersas en la membrana basal, todos ellos conformando la unidad neurovascular (Fig.1).

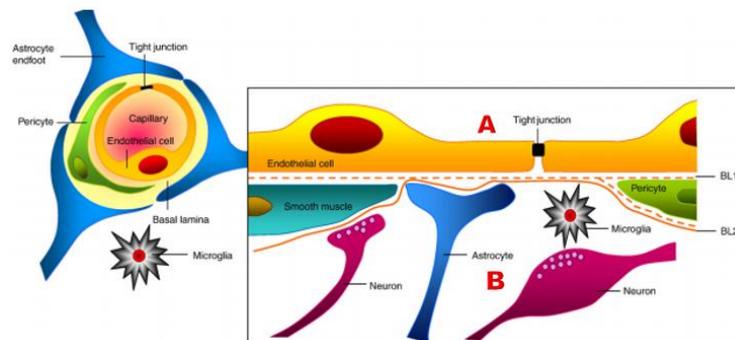


Figura 1. Conformación celular de la barrera hematoencefálica (Abbott et al., 2010). (A)

Tanto las células endoteliales cerebrales como los pericitos están rodeadas por la membrana basal local (BL1). (B) Los pies terminales gliales que limitan el parénquima cerebral (BL2).

Los astrocitos forman una red compleja que rodea los capilares y esta estrecha asociación celular es importante para la inducción y el mantenimiento de las propiedades de la BHE.

La BHE, más que una barrera pasiva, es un complejo metabólico activo, con múltiples bombas, receptores de neurotransmisores, transportadores y citoquinas, esenciales para el funcionamiento del SNC (Zhou et al., 2018). La presencia de uniones estrechas, mecanismos de resistencia a los fármacos y sistemas de desintoxicación a nivel de este sistema vascular protege al cerebro de la entrada incontrolada de sustancias químicas y patógenos transmitidos por la sangre, pero también de la entrada de agentes terapéuticos (Wohlfart et al., 2012).

Uno de los componentes principales de la BHE son las células endoteliales de la microvasculatura cerebral las cuales tienen una baja actividad pinocítica y alta resistencia eléctrica, y una relación mitocondria/citoplasma debido a la elevada actividad metabólica. La BHE presenta complejos de unión intercelular de tipo ocluyente (zonula occludens), que involucran proteínas de unión como la ocludina y claudinas y proteínas de anclaje al citoesqueleto de actina, que causan una restricción al pasaje paracelular de solutos hidrofílicos (Persidsky et al., 2006).

Neuroinflamación

La inflamación hace parte de la respuesta inmune inespecífica que ocurre en reacción a cualquier tipo de lesión corporal u estrés celular y se manifiesta por un aumento del flujo sanguíneo, metabolismo celular elevado, vasodilatación, liberación de mediadores solubles, extravasación de fluidos y afluencia celular en la región afectada (Ferrero-Miliani et al., 2007).

La respuesta inflamatoria está orquestada por la movilización e interacción de varios tipos de células y moléculas de señalización, produciendo una respuesta tanto local como sistémica. Los tipos de células fundamentales para la respuesta inflamatoria son los glóbulos blancos (leucocitos) y las células endoteliales (Pardridge, 2011). La inflamación tiene como objetivo despejar y controlar el estímulo inicial, por ejemplo, a través de la fagocitosis y la activación del inflammasoma, para finalmente permitir la regeneración y cicatrización de los tejidos. Sin embargo, aunque se pretende que sea protector y beneficioso, una respuesta inflamatoria excesiva puede causar o contribuir al daño tisular y, por tanto, a la patología de la enfermedad (Varatharaj & Galea, 2017).

Teniendo en cuenta lo anterior, la neuroinflamación es una respuesta que involucra la BHE, la glía y las neuronas, y es un término utilizado para describir una amplia gama de respuestas inmunitarias del SNC (Sulhan et al., 2018). Existe una lista creciente de patologías del SNC

que involucran un elemento de disfunción de la BHE, incluida la esclerosis múltiple, hipoxia e isquemia, edema, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer, epilepsia, tumores, glaucoma y enfermedades por almacenamiento lisosómico (Martínez-Tapia et al., 2018). La disfunción de la barrera puede variar desde la apertura leve y transitoria de la unión estrecha hasta la ruptura crónica de la barrera (Förster, 2008). En la mayoría de los casos, no es posible determinar si el compromiso de la barrera es causal en el inicio de la enfermedad, pero a menudo se puede ver que la alteración de la barrera contribuye y agrava la patología en desarrollo (Persidsky et al., 2006). La activación microglial se reconoce cada vez más como un signo temprano de inflamación del SNC, ya que la microglía activada libera factores de crecimiento polipeptídicos y citocinas que incitan la proliferación de células endoteliales capilares del cerebro y cambios reactivos en los astrocitos. Los astrocitos se vuelven reactivos como respuesta a la acción de los nucleósidos y nucleótidos, factores de crecimiento polipeptídicos o una combinación de ambos, liberando pleiotrofina y neurotrofinas, estas proteínas tróficas son neuroprotectoras y reducen la pérdida neuronal (Carda, 2015).

Diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas

El diagnóstico inicial de enfermedades neurodegenerativas se basa en síntomas como pérdida de memoria, olvido, apatía, ansiedad, agitación y cambios de humor. Las enfermedades neurodegenerativas causan daños permanentes, por lo que los síntomas tienden a empeorar a medida que avanza la enfermedad y su diagnóstico suele ser tardío (Reed-Guy, 2012). Una de las principales técnicas de diagnóstico para enfermedades neurodegenerativas es la RM la cual es una herramienta de obtención de imágenes que permite obtener información morfológica y funcional, con alta resolución y detalle anatómico y lo más importante es que no utiliza radiaciones ionizantes (Subias & Jerez, 2021). La RM ofrece una imagen superior al resto de técnicas a la hora de representar el SNC, aportando información funcional y estructural. Esto hace que sea una técnica de elección en el diagnóstico de la patología en el área anatómica de

interés. De hecho, se ha identificado que, a pesar de varias limitaciones, la RM indudablemente ha mejorado la precisión diagnóstica diferencial del parkinsonismo neurodegenerativo durante las últimas tres décadas (Heim et al., 2017).

Para caracterizar el tejido, la técnica de RM utiliza dos tiempos de relajación diferentes: tiempo de relajación longitudinal (T1) y tiempo de relajación transversal (T2). T1 es la constante de tiempo que determina la velocidad a la que los protones excitados vuelven al equilibrio (Fig.2A,). T2 es la constante de tiempo que determina la velocidad a la que los protones excitados alcanzan el equilibrio o se desfasan entre sí (Fig.2B). En general, las imágenes ponderadas en T1 y T2 se pueden diferenciar fácilmente mirando el líquido cefalorraquídeo (LCR). El LCR es oscuro en las imágenes ponderadas en T1 y brillante en las imágenes ponderadas en T2 (Fig.2) (Preston, 2016).

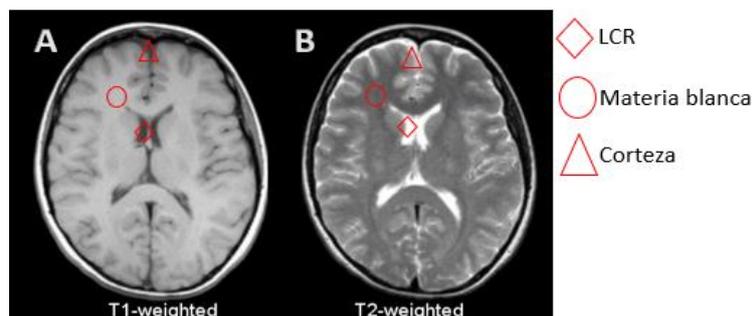


Figura 2. Resonancia magnética del cerebro, comparación de T1 frente a T2 (Preston, 2016).

A. Las imágenes ponderadas T1 poseen la característica de que el LCR se ve oscuro, la materia blanca se ve clara, la corteza se denota gris y la inflamación (infección, desmielinización) se denota oscura. B. Las imágenes ponderadas T2 poseen características donde el LCR se ve brillante, la materia blanca se denota gris oscuro, la corteza gris claro y la inflamación se denota brillante.

Nanopartículas SPION

Las SPION se componen de un núcleo cristalino y un recubrimiento circundante estabilizador del núcleo y que opcionalmente, previene la agregación. El núcleo cristalino de las SPION está

compuesto por material férrico (Fe^{3+}) y ferroso (Fe^{2+}) magnético en forma de maghemita (Fe_2O_3) y magnetita (Fe_3O_4). Se sintetiza con precipitación controlada de óxidos de hierro en solución acuosa (coprecipitación de sales de hierro mediante la adición de una base, por ejemplo, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, $<100\text{ }^\circ\text{C}$) o en solución orgánica (descomposición a alta temperatura de acetilacetonato de hierro en feniléter, alcohol, ácido oleico u oleilamina, $250 - 300\text{ }^\circ\text{C}$) (Ittrich et al., 2013).

Las aplicaciones actuales de las SPION son limitadas porque pueden ser relativamente grandes, con un diámetro medio de 80 nm, e internalizadas rápidamente por el sistema fagocítico mononuclear de hígado y bazo. Este problema se aborda actualmente mediante el desarrollo de USPIO, las cuales tienen un tamaño <50 nm. Las NPs-USPIO están compuestas por un núcleo de óxido de hierro con un tamaño de cristal que generalmente mide menos de 10 nm. El tamaño controlará la relajación T2/T1 y, por tanto, la señal en la RM, que es un factor clave para la calidad del diagnóstico (Di Marco et al., 2007).

Estos materiales a nanoescala son de especial importancia debido a su tamaño compatible con genes (2 nm de ancho por 10–100 nm largo), proteínas (5–50 nm), células (10–100 μm) y virus (20–450 nm). Los nanomateriales son tan pequeños como para moverse dentro del cuerpo sin interrumpir las funciones normales, pudiendo ingresar a lugares inaccesibles para otros materiales (Estelrich et al., 2015). Sin embargo, se han reportado algunos efectos biológicos no deseados con este tipo de nanopartículas, entre los más comunes tenemos estrés celular y toxicidad.

Estrés celular

El estrés celular es comprendido como un conjunto de procesos celulares que se dan en respuesta a cambios en las condiciones homeostáticas, que buscan contrarrestar o proteger la célula u organismo (Barouki, 2007). Las células de mamíferos responden al estrés activando

mecanismos que apoyan las funciones celulares y, por lo tanto, mantienen la homeostasis microambiental y orgánica (Galluzzi et al., 2018). Se ha acumulado considerable evidencia que indica que los mecanismos intracelulares que se activan en respuesta a diferentes tensiones, implican como respuesta predominante el estrés oxidativo causado por estados redox desequilibrados, debido a la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) o la alteración del sistema antioxidante. El estrés oxidativo puede provocar daños en las membranas celulares y otros componentes funcionales como proteínas, lípidos y ADN. El cerebro es especialmente susceptible a estos efectos dañinos debido a su alta demanda de oxígeno, su abundancia de sustratos altamente peroxidables y su baja actividad antioxidante (Chen & Liu, 2017).

Toxicidad

La toxicidad se puede dar debido a los efectos adversos, generados sobre un órgano u organelo, asociados a la exposición a agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones (Silbergeld, 2013). Es por esto que, la neurotoxicidad se produce cuando la exposición a sustancias tóxicas naturales o artificiales (neurotóxicos) alteran la actividad normal del SNC. Esto eventualmente puede alterar o incluso matar neuronas, afectando la transmisión y procesamiento de señales en el cerebro y otras regiones del sistema nervioso (*National Institute of Neurological Disorders and Stroke*, 2020). Existen múltiples estudios que han investigado la toxicidad de las SPION a nivel celular, genómico e inmunológico, evidenciando que las NPs ejercen su efecto tóxico causando principalmente lisis celular, inflamación y alteración del sistema de coagulación sanguínea (Bahadar et al., 2016).

Revisión Literaria

Nanomedicina

La nanomedicina es considerada una ciencia joven debido a que la nanotecnología enfocada en la medicina y la farmacología solo se ha investigado desde la década de 1990. De hecho, los filtros cerámicos nanoporosos ya se usaban en el siglo XIX para separar virus, y alrededor de 1900 Max Planck y Albert Einstein presentaron evidencia teórica de que debían existir una gama de partículas diminutas que obedecían a sus propias leyes. Sin embargo, estas partículas no podían ser visualizadas debido a que no existían los desarrollos tecnológicos necesarios para ello (Mg et al., 2015). Después de alcanzar estos avances, Richard Zsigmondy y Henry Siedentopf en 1902 detectaron con éxito estructuras de menos de 4 nanómetros en vidrios de rubí utilizando el ultramicroscopio (Mappes et al., 2012). En 1986, el primer microscopio de fuerza atómica permitió evidenciar estructuras a nanoescala con precisión, así como posicionarlas y manipularlas de forma controlada. Estos hallazgos abrieron paso a otras aplicaciones y al nacimiento de nuevas disciplinas científicas hechas a la medida de la gama nano, incluida la nanomedicina (Kateb & Heiss, 2014).

La nanomedicina es la aplicación de la nanotecnología a la medicina, ya que propone un nuevo enfoque para el tratamiento y el diagnóstico de muchas enfermedades mediante el desarrollo de nanopartículas multifuncionales. Algunas de estas aplicaciones incluyen la imagen molecular, nuevos sistemas de liberación de fármacos, mejora de las técnicas de transfección, e ingeniería tisular, y herramientas en el desarrollo de la microscopía, la instrumentación médica, biosensores y sistemas informáticos (Jun et al., 2007).

Dentro de las enfermedades más complejas para su diagnóstico y tratamiento son aquellas que involucran el SNC, debido a que las sustancias en el mercado no pueden atravesar la BHE de manera efectiva, lo que conduce a un pronóstico limitado, tardío y tratamientos menos efectivos (Luo et al., 2020) Las enfermedades neurodegenerativas afectan a mil millones de personas, una de cada seis de la población mundial. Padeciendo trastornos neurológicos, desde la enfermedad de Alzheimer y Parkinson, accidentes cerebrovasculares, esclerosis múltiple y

epilepsia hasta migraña, lesiones cerebrales y neuroinfecciones, causando 6,8 millones muertes cada año (WHO, 2021). Desafortunadamente, estas enfermedades no se pueden curar, pero un diagnóstico temprano puede ayudar a controlar mejor sus síntomas y su evolución (De Stefano et al., 2019).

La identificación de este tipo de enfermedades es particularmente difícil en sus primeras fases cuando los familiares y los médicos a menudo atribuyen incorrectamente los síntomas del paciente al envejecimiento normal. Sin embargo, la herramienta de diagnóstico comúnmente utilizada para evaluar el deterioro cognitivo en enfermedades neurodegenerativas se basa en criterios clínicos establecidos. Pero, el diagnóstico diferencial entre trastornos puede resultar difícil, especialmente en fases tempranas o variantes atípicas (Gómez-Río et al., 2016). En los últimos veinticinco años se han introducido una variedad de técnicas poderosas que han permitido la visualización de la estructura y función de los órganos con detalles exactos (Szymański et al., 2010). Entre estas se encuentra la RM, convirtiéndose en una herramienta primordial para el estudio de las enfermedades neurodegenerativas, delineando las alteraciones estructurales y funcionales de cada una. Las técnicas avanzadas de RM son de especial interés por su potencial para caracterizar cada condición neurodegenerativa y ayudar tanto en el proceso de diagnóstico como en el seguimiento de la progresión de la enfermedad (Agosta et al., 2017).

Para que se de una intensidad de la señal se utilizan ciertos agentes de contraste para acortar el tiempo de relajación de T1 y estos se basan principalmente en quelatos de bajo peso molecular del ión gadolinio (Gd^{+3}). El medio de contraste convencional son los quelatos de gadolinio, utilizados para la formación de imágenes por resonancia magnética. Históricamente se han considerado seguros y bien tolerados cuando se usan en los niveles de dosis recomendados. Sin embargo, han surgido reportes recientes sobre la acumulación de gadolinio en varios tejidos de pacientes que no tienen insuficiencia renal, incluidos los huesos, el cerebro y los riñones

(Rogosnitzky & Branch, 2016). Los efectos acumulativos y a largo plazo del gadolinio retenido en el cerebro y en otros lugares aún no se comprenden (Strijkers, 2021).

Las partículas basadas en óxidos de hierro como lo son las SPION han demostrado ser de gran interés debido a sus excelentes propiedades magnéticas, biocompatibilidad y biodegradabilidad (Gutiérrez García, 2013). Sin embargo, son poco conocidos los efectos biológicos que puedan llegar a causar este tipo de NPs, es por ello el interés de tener claras las condiciones para que no se vea afectado el organismo al que se le suministre.

Recubrimientos, tamaños y concentraciones adecuadas para SPION

Tamaño

El tamaño de las NPs (incluidos núcleos y recubrimientos) no solo está relacionado con las propiedades magnéticas y la internalización de partículas, sino que también tiene un cierto impacto en su biocompatibilidad, e incluso en el comportamiento celular. Se demostró que después de la administración sistémica, las partículas de más de 200 nm de diámetro generalmente son eliminadas por los fagocitos en el bazo, mientras que las partículas menores de 10 nm se eliminan rápidamente por extravasación y eliminación renal (Gupta & Wells, 2004). Para la administración sistémica, algunos investigadores indican que las partículas con un rango de diámetro de 10 a 100 nm se consideran óptimas (Wahajuddin & Arora, 2012). Sin embargo, esto no significa que sea directamente proporcional el tamaño de la SPION y su citotoxicidad. Tong et al., (2016) identificó que SHP30, una SPION con tamaño de 30 nm con ácidos oleicos más recubrimiento de polímeros anfifílico, tenía una alta eficiencia de absorción celular y causaba pocos efectos citotóxicos a diferencia de la SPION con un tamaño de 10 nm. Pero, las SPION con un tamaño de partícula inferior a 2 nm no son adecuadas para uso médico (Tong et al., 2016). Esto se debe al mayor potencial de las partículas en este rango de tamaño

para difundirse a través de las membranas celulares, dañando los orgánulos intracelulares y exhibiendo así efectos potencialmente tóxicos (Wahajuddin & Arora, 2012).

Revestimiento

Ahora bien, el material de recubrimiento puede proteger el núcleo magnético de la oxidación, de modo que el magnetismo de las SPION se pueda mantener por más tiempo (Tabla 1). Las SPION se recubren con frecuencia con sustancias anti-incrustantes como el polietilenglicol (PEG) para evitar la deposición de proteínas y mejorar el tiempo de circulación *in vivo* (Meisel et al., 2020). Algunos estudios han evidenciado que al incrementar el espesor del recubrimiento (600 Da) con PEG se tiene mayor influencia en el tiempo de relajación en comparación con los cambios en el tamaño de la partícula magnética (20 nm, 50 nm y 100 nm) (Hajesmaeelzadeh et al., 2016). En contraste, otro estudio empleó NPs recubiertas con PEG con espesor de 550 Da, 2 KDa y 3KDa, y con tamaños de 4 nm, 6 nm y 8 nm, demostrando que se pueden usar como agentes de contraste de modo dual T1, T2 para RM en campos magnéticos específicos (Deng et al., 2021).

El alcohol polivinílico (PVA) también es un buen polímero sintético que previene la coagulación y da como resultado partículas monodispersas. Los investigadores han sugerido que el amino-polivinílico alcohol (A-PVA-SPION) es adecuado para la mejora del contraste de RM en la médula ósea (Schulze et al., 2015). Schulze et al., (2014) estudiaron en células estromales mesenquimales (MSC) SPION con recubrimiento A-PVA, y encontraron que las NPs no tienen influencias desfavorables sobre las MSC y permiten el monitoreo de MSC *in vivo* mejorando la visualización por medio de RM. De igual manera manifiestan que no son tóxicas para las MSC y no son destructivas para su potencial de diferenciación de múltiples linajes (Schulze et al., 2014).

El recubrimiento de sílice de SPIONs previene su agregación en solución acuosa, mejora su estabilidad química y biológica y proporciona una mejor biocompatibilidad. De acuerdo con Andrea Kunzmann et al., (2011), las nanopartículas de óxido de hierro recubiertas de sílice mostraron excelentes propiedades magnéticas, no eran tóxicas para los macrófagos primarios derivados de monocitos humanos (Kunzmann et al., 2011). Ye et al., (2012) sintetizaron SPION recubiertas de sílice (30-40 nm) mediante un método de descomposición térmica, y demostraron que las NPs eran un agente de contraste para RM ponderado en T_1 a diferentes concentraciones (0.1, 0.3, 0.6, 0.9 y 1.1 mM) para corazón, hígado, riñón y vejiga basado en análisis de imágenes *in vivo* (Ye et al., 2012).

Fernández et al., (2018) evaluaron la toxicidad potencial asociada con la exposición a SPION recubiertos de sílice (Si-SPION) en células de glioblastoma A172 humano. En varios tiempos de exposición (3 y 24 h), en concentraciones (5-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y medios de cultivo (completos y sin suero). Mostraron que Si-SPION exhibe cierta citotoxicidad, especialmente en medio sin suero, relacionado con la interrupción del ciclo celular e inducción de la muerte celular. Sin embargo, se observaron escasos efectos genotóxicos y ninguna alteración del proceso de reparación del ADN (Fernández et al., 2018).

Por otro lado, los polisacáridos naturales como material de recubrimiento también son ampliamente utilizados. El quitosano, comúnmente derivado de las conchas de los crustáceos, contiene diversos grupos funcionales reactivos que pueden servir como anclaje para la conjugación de agentes terapéuticos, ligandos dirigidos y agentes de contraste (Arami et al., 2011). Se ha demostrado que los recubrimientos a base de quitosano tienen propiedades anticoagulantes que son particularmente importantes para sus aplicaciones biomédicas (Kania et al., 2018). Kania et al., (2018) mostraron que SPION recubierta con capas ultrafinas de derivados iónicos de quitosano puede servir como agentes de contraste T_2 . Es importante destacar que la SPION recubierta de quitosano causó solo una activación leve de la respuesta

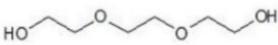
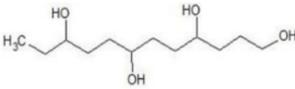
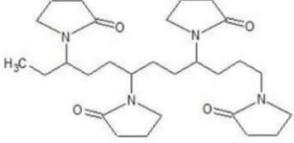
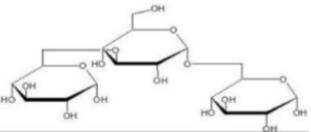
de fase aguda que no afectó los parámetros bioquímicos de la sangre (Kania et al., 2018). Por otro lado, Sun et al., (2019) identificó que SPION recubierta de quitosano, tiene potencial de imagen significativo con contraste mejorado para imágenes de ultrasonido/resonancia magnética (US/MR) de modo dual (Sun et al., 2019).

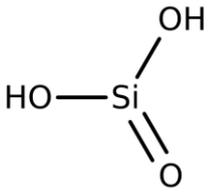
El dextrano, una clase de polisacáridos de D-glucosa producido por bacterias que crecen sobre un sustrato de sacarosa (Neely, 1961), también ha sido empleado en el recubrimiento de SPION (SPIONdex). Las SPIONdex han ostentado una excelente estabilidad y biocompatibilidad con las células endoteliales (Matuszak et al., 2015). Unterweger et al., (2017) sugieren que debido a su excelente biocompatibilidad, seguridad tras la administración intravenosa y ajuste de tamaño, las partículas de SPIONdex pueden ser un candidato adecuado para un agente de contraste de RM de nueva generación (Unterweger et al., 2017). Zare et al., (2019) revelaron que el método basado en RM podría monitorear con éxito las células madre de la pulpa dental (DPSC) marcadas con SPION recubiertas de dextrano sin ningún efecto significativo sobre la diferenciación osteogénica y adipogénica, la viabilidad y el tallo de las DPSC (Zare et al., 2019).

Otro estudio, probó recubrimientos basados en magnetita de dextrano tratada con álcali (ATDM) con tamaños de partícula de 28 y 74 nm, y magnetita de carboximetil dextrano (CMDM) con tamaños de partícula de 28 y 72 nm, identificando que las propiedades de las nanopartículas de 74 nm recubiertas con ATDM tienen un tiempo de relajación de T_2 más bajo que las otras (Saito et al., 2012). En contraste, un estudio que probó SPION recubiertas con carboxidextrano (CXD) de diferentes tamaños (19-86 nm), y SPION recubiertas con poliacrílico (PAA), PGE o almidón con un tamaño de 50 nm, encontró que las NPs recubiertas con CXD en un tamaño de 60 nm aumentaron la relajación T_2 (Roohi et al., 2012).

Matuszak et al., (2015) analizaron las respuestas de células endoteliales (CE) y monocíticas a tres tipos diferentes de SPION para evaluar la influencia de las propiedades fisicoquímicas en las reacciones biológicas de SPION. El estudio utilizó las siguientes formulaciones: (1) SPION-1 recubierta con ácido láurico y estabilizada con albúmina de suero bovino (BSA), (2) SPION-2 recubierta con ácido láurico/BSA y (3) SPION-3 recubierta con dextrano. Esta investigación demostró que, al no ser internalizado por células endoteliales o monocíticas, las SPION-3 no indujeron efectos relevantes sobre la viabilidad celular, motilidad o interacciones entre células endoteliales u monocíticas y puede representar un agente de imagen adecuado para aplicaciones intravasculares (Matuszak et al., 2015).

Tabla 1. *Agentes de recubrimiento comúnmente aplicados*

Nombre	Fórmula Química	Características
Polietilenglicol (PEG)		<ul style="list-style-type: none"> -Buena biocompatibilidad ya que no contiene grupos potencialmente tóxicos. -Los grupos hidroxilos le permiten la unión a anticuerpos y otros agentes. -Mejora el tiempo de vida media y reduce la captación celular. -Mejora la estabilidad coloidal.
Polialcohol vinílico (PVA)		<ul style="list-style-type: none"> -Altamente biocompatible. -Evita que las NPs se agrupen dentro de vasos estrechos. -Presenta baja toxicidad celular.
Quitosano		<ul style="list-style-type: none"> -Polímero catiónico, hidrófilo y altamente biocompatible. -Facilidad de conjunción de los grupos tiol (-SH) con el quitosano permite la unión a glicoproteínas mucosas de manera eficaz, mostrando actividad proteasa. -Polisacárido natural, derivado de las conchas de los crustáceos.
Dextrano		<ul style="list-style-type: none"> -Vida media en circulación prolongada. -Polisacárido natural con una larga vida útil. -Buena biocompatibilidad y biodegradabilidad.

Sílice		<ul style="list-style-type: none"> -Mejora la estabilidad coloidal, biocompatibilidad y degradabilidad. - Presenta baja toxicidad celular. -Mejora su estabilidad química y biológica. -Los grupos hidroxilo expuestos, se pueden unir fácilmente a diferentes grupos funcionales, como amina y carboxilato.
--------	---	--

Concentración

Hay varios estudios que han sugerido que las SPION con diferentes características fisicoquímicas son tóxicas para las células en concentraciones superiores a 100 µg/mL (Yildirimer et al., 2011). Los investigadores encontraron que las SPION recubiertas con almidón o dextrano eran citotóxicas para las células PC-12 (línea celular derivada de un feocromocitoma de la médula suprarrenal de las ratas) a altas concentraciones (> 100 µg/mL) (Marcus et al., 2016). Este reporte es consistente con el trabajo de Pisanic et al., (2011) donde se utilizó una dosis de 500 µg/mL, demostrando que SPION pueden dañar la viabilidad celular de las células neuronales del hipocampo (Pisanic et al., 2011). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la concentración no es el único factor para determinar la toxicidad de las SPION, ciertos recubrimientos o funcionalizaciones, incluso a bajas concentraciones, pueden generar citotoxicidad.

Saengruengrit et al., (2018) combinaron las SPION monodispersas con ácido poli lactic-*co*-glicólico (poly lactic-*co*-glycolic acid, PLGA por sus siglas en inglés), biocompatible y cargaron BSA en las partículas SPIO-PLGA (BSA/SPION-PLGA) y luego evaluaron la citotoxicidad en las células RAW264.7 (macrófagos murinos). Después de la incubación durante 48 h, estas partículas mostraron una baja citotoxicidad a una concentración inferior a 300 µg/mL (Saengruengrit et al., 2018). Otro estudio demostró que USPIO-Molday Ion

Rhodamin B (MIRB) redujo significativamente la viabilidad de las células madre neurales NSC a la concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Umashankar et al., 2016).

SPION comerciales con uso en RM

Actualmente, hay NPs que han sido aprobadas para su uso clínico como, agentes de imagen o suplemento para personas con deficiencia de hierro. Se ha aprobado ya sea por la FDA en los Estados Unidos o la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) en la Unión Europea (Anselmo et al., 2016). La mayoría se administran por vía intravenosa, después de esta administración, las NPs SPION aprobadas clínicamente se eliminan de la sangre mediante fagocitosis realizada por el sistema reticuloendotelial, de modo que se observa la captación en el hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos normales. Después de la captación intracelular, las SPION se metabolizan en los lisosomas en una forma de hierro soluble, no superparamagnético, que pasa a formar parte de la reserva de hierro normal (Ej., Ferritina, hemoglobina) (Wang et al., 2001). Sin embargo, a través del tiempo se han desarrollado otros tipos de SPION con usos en RM, los cuales se discutirán a continuación.

El ferumoxytol (Feraheme), consiste en nanopartículas USPIO recubiertas con un carbohidrato semisintético en una solución isotónica de pH neutro, con un tamaño de 17-30 nm. Se puede administrar en dosis relativamente altas (510 mg/mL) mediante una rápida inyección intravenosa (McCormack, 2012). Inicialmente fue aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) como terapia de reemplazo de hierro para pacientes con anemia debido a insuficiencia renal crónica. Recientemente, el ferumoxytol se ha investigado ampliamente como agente de contraste intravenoso en la RM (Bashir et al., 2014).

El ferumoxytol se ha empleado recientemente para uso clínico como agente de contraste de metástasis vascular y nodal (sin uso aprobado), y como herramienta de investigación para

estudios que involucran macrófagos y marcaje celular (Vasanawala et al., 2014). Otras características de imagen atractivas del ferumoxytol incluyen una fase de acumulación de sangre prolongada y una captación intracelular retardada. Con sus propiedades farmacológicas, metabólicas y de imagen únicas, el ferumoxytol puede desempeñar un papel crucial en las futuras imágenes por RM del SNC (Toth et al., 2017). De igual manera, la RM mejorada con ferumoxytol ha surgido como una herramienta importante para la evaluación no invasiva del estado inflamatorio de las lesiones cerebrovasculares, a saber, aneurismas y malformaciones arteriovenosas (Bashir et al., 2014).

Por otro lado, tenemos a Ferumoxtran-10 (Combidex-Serem), el cual es una solución de nanopartículas USPIO recubiertas de dextrano (tamaño 20-50 nm) administradas por vía intravenosa con una infusión de goteo lento (30 min) al paciente 24-36 h antes de la RM (Fortuin et al., 2018). En los últimos 15 años, se obtuvieron resultados clínicos alentadores para la detección de metástasis en los ganglios linfáticos pequeños mediante el uso de RM mejorada con combidex (Fortuin et al., 2017).

Neuwelt et al., (2004) utilizaron Combidex en pacientes con tumores cerebrales malignos, identificando que las lesiones que se realzan con este agente tienen un aumento persistente de la intensidad de la señal de T1 durante 2-5 días, lo que puede proporcionar ventajas sobre el gadolinio para la obtención de imágenes postoperatorias (Neuwelt et al., 2004). De igual forma se ha demostrado que combidex en RM proporciona información funcional para caracterizar los ganglios linfáticos en la estadificación clínica del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (Hoffman et al., 2000).

Los ferumoxidos (Feridex-Endorem) son coloides SPION con recubrimiento de dextrano de bajo peso molecular, un tamaño de partícula de 120-180 nm. Para reducir la incidencia de algunos efectos secundarios como la hipotensión, se prepara como una dilución en 100 ml de

dextrosa al 5% y se administra como una infusión por goteo durante aproximadamente 30 min. Aproximadamente 8 minutos después de la inyección intravenosa, las células reticuloendoteliales del hígado y el bazo captan partículas de óxido de hierro con una captación aproximada de 80% y 6-10%, respectivamente (Xiang et al., 2011). Se ha demostrado que las imágenes de RM y el etiquetado de células madre mesenquimales (hMSC) con ferumóxido aprobadas por la FDA se pueden aplicar fácilmente para el seguimiento *in vivo* no invasivo a largo plazo para el tratamiento de la osteoartritis (Henning et al., 2012).

Ferucarbotran (Resovist) está compuesto por nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas recubiertas con carboxidextrano, con un tamaño que varía entre 45 y 60 nm (Xiang et al., 2011). Varios investigadores han demostrado que mejora obtención de imágenes hepáticas significativamente en RM (Morcos, 2005). Sin embargo, el ferucarbotran también ha sido evaluado *in vivo* después de un trasplante cerebral en un modelo murino de enfermedad de Parkinson (Guo et al., 2010). La RM obtenida proporcionó una evaluación dinámica de los cambios espaciales y temporales en el cerebro de las ratas posterior al trasplante de células, resaltando su uso en este tipo de seguimientos (Guo et al., 2010).

Tabla 2. *SPION comercializadas que se utilizan para diferentes aplicaciones diagnósticas y terapéuticas.*

Nombre	Material del núcleo	Recubrimiento	Objetivo biológico	Aplicación	Relevancia clínica	Referencia
Ferumoxytol/Feraheme	Fe_3O_4	Dextrano poliglucosa sorbitol	metástasis cerebrales, metástasis en los ganglios linfáticos, neuroinflamación en la epilepsia, cáncer de cabeza y cuello, infarto de miocardio o esclerosis múltiple	Imágenes de tejido	Aprobado por la FDA (2009)	(Anselmo et al., 2016)
Ferumoxtran-10/	Fe_3O_4	Dextrano	Imágenes de tejido	Imágenes	Disponible	(Anselm

Combidex/ Serem			linfático no canceroso	de lesión hepática	solo en Holanda	o et al., 2016)
Ferumuxidos/ Feridex/ Endorem	Fe_3O_4 γ - Fe_3O_2	Dextrano	Sistema reticuloendotelial etiquetado de células madre hepáticas	Sistema reticuloendotelial	Aprobado por la FDA (1996) y descatalogado (2009)	(Ramirez-Núñez et al., 2018)
Ferumoxsil	Fe_3O_4	Éter carboximetílico	Tumorales	Imágenes cerebrales	Ensayos clínicos	(Shaghola ni et al., 2018)
Ferucarbotran/ Resovist	Fe_3O_4	Carboxidextrano	Imágenes de metástasis en los ganglios linfáticos	Imágenes de lesión hepática	Aprobado y descatalogado (2009)	(Anselmo et al., 2016)

Efectos biológicos de las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas en enfermedades neurodegenerativas

Efectos a nivel celular

Aunque los beneficios potenciales de SPION son considerables, existe una clara necesidad de identificar cualquier daño celular potencial asociado con estas NPs. Se ha visto que las características del material de prueba en lo que respecta a la composición química (pureza, cristalinidad, propiedades electrónicas, etc.), tamaño (distribución y área de superficie), estructura de la superficie (grupos funcionales, reactividad y recubrimientos inorgánicos / orgánicos, etc.), forma, solubilidad y agregación, pueden facilitar efectos biológicos poco deseados.

Sun Z. et al., (2013) utilizaron la línea celular endotelial de microvasos de cerebro de ratón bEnd.3, un cultivo primario de astrocitos, y neuronas de ratón y las expusieron a SPION recubiertas de aminosilano (AmS-SPION, de 27 nm) durante 24h. Las AmS-SPION no presentaron toxicidad en ninguno de los tipos celulares a concentraciones de hasta 100 $\mu\text{g/mL}$. Sin embargo, a concentraciones superiores de 200 $\mu\text{g/mL}$ las NPs redujeron la viabilidad neuronal en un 50% en presencia o ausencia de un campo magnético y de astrocitos en un 75%

en presencia de un campo magnético (Sun Z. et al., 2013). Otro estudio utilizó los recubrimientos polietilenimina (PEI) conjugado con PEG (mPEG-PEI) para reducir la citotoxicidad, mostrando que mPEG750-G-PEI-SPION y mPEG2000-G-PEI-SPION no resultaban tóxicos hasta 100 $\mu\text{g/mL}$ *in vitro* para la línea celular NT2 (células neuronales humanas) (Sadeghi et al., 2020).

Por otro lado, se ha visto que al aumentar la concentración de USPIO (75, 150, 300 y 600 $\mu\text{g/mL}$) respectivamente, ocurría daño al ADN cuando la dosis era mayor (>150 $\mu\text{g/mL}$) (Dissanayake et al., 2015). De manera análoga, se presentó daño a la membrana celular, evidenciado por el aumento de los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) en la línea celular linfoblastoide humana (MCL-5), después de haber sido incubadas con Fe_3O_4 superparamagnético durante 24 h (Dissanayake et al., 2015).

Neubert et al., (2015), concluyeron que la influencia de las SPION en las células cerebrales no solo dependía del tipo de partícula sino también del sistema fisiológico al que se aplica. En ese trabajo, se emplearon células primarias de microglía y neuronas del hipocampo, exponiéndose a nanopartículas VSPIO, ferucarbotran o ferumoxitol, durante 6 y 24 horas. Los hallazgos de ese trabajo indicaron que la viabilidad microglial se veía comprometida por altas concentraciones de SPION (0.5 mM, 1.5 mM, y 3.0 mM), a excepción del ferumoxitol. El ferumoxitol no causó la muerte microglial inmediata, pero indujo alteraciones morfológicas y un aumento del deterioro en las neuronas primarias. Además, las neuronas primarias se degeneraron después de la exposición a VSPIO y ferucarbotran. En los cocultivos de neurona-glía, los SPION estimularon bien el crecimiento de neuritas en las neuronas de cocultivo de una manera dependiente de la concentración (0.5 mM, 1.5 mM, y 3.0 mM) y de las partículas (VSPIO, ferucarbotran y ferumoxitol), esto con el fin de probar si la microglía en cocultivos neurona-glía podría mantener el equilibrio homeostático y proteger a las neuronas de los efectos adversos de las SPION. Por tanto, las concentraciones más bajas de ferucarbotran y

altas concentraciones de VSPIO estimularon el crecimiento de neuritas. Este efecto podría deberse muy probablemente a la acumulación de SPION por parte de las células microgliales, determinada por el recubrimiento y la carga de la superficie. Como se mencionó anteriormente, el ferucarbotran y las VSPIO se acumulan rápidamente por las células de la microglía utilizando vías ligeramente diferentes. En consecuencia, los mecanismos celulares que influyen en la fisiología de la microglía podrían afectar de manera diferencial la vitalidad de las neuronas, protegiendo así parcialmente la morfología neuronal. Sin embargo, no es posible descartar que las SPION también puedan tener un efecto estimulante sobre el crecimiento de neuritas (Neubert et al., 2015).

Soenen et al., (2011) probaron cuatro tipos de SPION diferentes (recubierto con dextrano Endorem®, recubiertos de carboxidextrano Resovist®, magnetoliposomas recubierto con lípidos, y VSPIO recubierto con citrato) en células progenitoras neurales C17.2 en concentraciones estándar ($67,37 \pm 5,98$ pg Fe). En ese estudio, se observó un potencial citotóxico diferente en relación con el tipo de recubrimiento, donde las SPION recubiertas de citrato fueron identificadas como las NPs más tóxicas, afectando la morfología celular, citoesqueleto, proliferación celular, inducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), viabilidad y funcionalidad. En contraste, las SPION recubiertas con lípidos fueron identificadas como las NPs menos tóxicas (Soenen et al., 2011).

En relación con efectos genotóxicos de las SPION, Liu et al., (2014), identificaron que SPION de 10 y 30 nm, recubiertas con PEG y empleadas a una concentración de 10 mg/kg durante 4 días, exhibieron actividad mutagénica sin anomalías cromosómicas. Las SPION PEG-10 nm presentaron un potencial mutagénico más fuerte que las PEG-30 nm, sugiriendo que la mutagenicidad de las SPION depende del tamaño de partícula (Liu et al., 2014).

Ghosh et al., (2017) utilizaron SPION recubiertas con poliláctido coglicólido de polímero biodegradable (PLGA) utilizando los dos tipos de tensioactivos: bromuro de didodecil dimetilamonio (DMAB) y succinato de tocoferil glicol (TPGS) para la modificación de la superficie, esto con el fin de ampliar el potencial de aplicación en el campo de la nanomedicina. Las células linfocitarias se expusieron a SPION a concentraciones de Fe de 11,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en cada grupo durante 3h a 37 ° C, demostrando que las SPION no recubiertas eran altamente tóxicas, mientras que las recubiertas mostraron una muerte celular significativamente menor. La genotoxicidad *in vitro* de las SPION formuladas mostraron un porcentaje de ADN significativamente menor que las SPION sin recubrimiento. Indicando que el tipo de modificación de la superficie gobernó principalmente la cantidad de daño del ADN, de igual forma los recubrimientos de SPION eran biocompatibles y adecuados para exploraciones *in vivo* (Ghosh et al., 2017).

Diversos estudios revelan que las NPs de óxido de hierro pueden generar efectos adversos sobre las células, incluyendo daño mitocondrial, estrés oxidativo, daño del ADN cromosómico, regulación del ciclo celular alterado y desnaturalización de proteínas. Uno de los mecanismos de toxicidad sugeridos con mayor frecuencia es la generación de ROS. Se ha encontrado que la exposición excesiva al hierro causa una producción elevada de ROS a través de la reacción de Fenton ($\text{Fe}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}_3 + \text{OH}^- + \text{OH} \cdot$), lo que da como resultado un estrés oxidativo que daña el ADN (Laurent et al., 2012). Para que esto ocurra, las NPs después de entrar en el interior de la célula, se degradan por las enzimas presentes en los lisosomas, rompiendo el ensamblaje para formar iones Fe^{2+} (Patil et al., 2018). El hierro (Fe^{2+}) en ambientes naturales y biológicos reacciona con el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y produce el radical $\text{OH} \cdot$. Por lo tanto, el Fe^{2+} en el citoplasma puede participar en la reacción de Fenton y conducir a la generación de ROS (Laurent et al., 2012).

Imam et al., (2015) mostraron que después de una exposición de 24 h de células de neuroblastoma humano SHSY-5Y a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de SPION sin recubrimiento de 10 y 30 nm, el contenido de dopamina celular se redujo en un 68 y 52%, respectivamente. También observaron aumentos en la tirosina quinasa c-Abl activada, un cambio molecular inducido por el ROS, y la expresión de α -sinucleína neuronal, un marcador proteico asociado con lesión neuronal (Imam et al., 2015).

Pongrac et al., (2016) midieron los niveles de ROS, glutatión intracelular, potencial de membrana mitocondrial, potencial de membrana celular, daño del ADN y actividades de superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) en células madre neurales murinas (NSC) para comprender el posible daño relacionado a SPION recubierta con D-manosa y poli-L-lisina durante 24h en concentraciones 20, 100 y 200 mg/L. Este trabajo mostró que los niveles de glutatión en las células se redujeron y demostraron actividades deterioradas de SOD y GPx. Las mitocondrias sufrieron hiperpolarización de la membrana, el potencial de la membrana celular se disipó y se observó un aumento del daño del ADN, independientemente del recubrimiento y la concentración de SPION (Pongrac et al., 2016).

Las ROS también generan productos aldehídos tóxicos, incluidos malondialdehído y 4-hidroxi-nonenal (Sripetchwandee et al., 2016). Estos componentes tóxicos reaccionan para producir funciones carbonilo, que dañan las proteínas. Las proteínas dañadas y mal plegadas no pueden ser reconocidas por el sistema de ubiquitina/proteasoma y se agregan dentro del citoplasma como se observa en las enfermedades neurodegenerativas (Crichton et al., 2011). En el caso de las nanopartículas USPIO, se ha reportado que estas NPs cambian la morfología del RE y desencadenan el estrés del RE, desplegando así la vía de señalización PERK/ATF4 encargada de la respuesta de proteostasis (He et al., 2018).

De igual manera, se ha identificado que la exposición de la transferrina humana a NPs USPIO da como resultado la liberación de hierro, cambiando la función principal de la proteína, la cual consiste en transportar hierro entre las células. Después de la eliminación de las NPs, la conformación de la proteína original no se recupera, lo que indica cambios irreversibles en la conformación de la transferrina (de una estructura compacta a una abierta) y potencialmente, de otras proteínas asociadas al hierro. Los cambios conformacionales de las proteínas pueden modificar sus funciones, que se reconocen como los mecanismos moleculares de la lesión y podrían contribuir a la patogénesis de la enfermedad, siendo un aspecto de vital importancia a considerar (Morteza Mahmoudi et al., 2011).

Efectos a nivel tisular, estudios *in vivo*

Curiosamente, existe una baja correlación entre la toxicidad *in vivo* e *in vitro* de las SPION, y se ha encontrado que la toxicidad *in vitro* de las SPION no se traduce exactamente *in vivo*. Estos resultados contradictorios pueden deberse a la regulación de los cambios en el pH, la fuerza iónica y la composición química de la sangre circulante por la hemostasia hepática y renal en el cuerpo.

Los trabajos con SPION han revelado que las NPs se distribuyen en forma decreciente en el cerebro, corazón, hígado, pulmones, riñones y bazo dentro de las 24 h posteriores a la inyección. Después de inyecciones repetidas durante 10 días, la deposición de hierro en los órganos estudiados es muy baja, lo que demuestra que el hierro se elimina rápidamente a 100 mg/kg administrados por vía subcutánea en ratones (Jain et al., 2005). Notablemente, es poco probable que los efectos demostrados de bajo riesgo en ratones tras la inyección aguda de SPION se traduzcan en la práctica clínica debido a la dosis única baja en humanos (Jain et al., 2005).

Sabareeswaran et al., (2016) utilizaron ratas Wistar hembra y evaluaron el efecto del recubrimiento de las SPION con dextrano (DEX-SPION) o PEG (PEG-SPION). Bajo anestesia, cada animal recibió una inyección intravenosa única en la vena lateral de la cola de 5 mg de Fe/kg de cuerpo, y 24 h después fueron sacrificados. Este estudio demostró que en DEX-SPION, PEG-SPION y SPION sin recubrimiento, las enzimas alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) se alteraron significativamente en comparación con el control solo con solución salina. Se observaron desequilibrios antioxidantes y peroxidación lipídica en todos los órganos principales. La histología reveló células de Kupffer y macrófagos cargados de hierro en el hígado y el pulmón, respectivamente y una sobrecarga de hierro en los túbulos contorneados del riñón (Sabareeswaran et al., 2016). Por tanto, aunque el recubrimiento de las SPION mejora la biocompatibilidad se afectan los niveles de moléculas antioxidantes.

Se ha notado que la respuesta tóxica *in vivo* de las SPION depende del tejido. De acuerdo con Lewinski et al., (2011), los cuales aplicaron una sola inyección intravenosa de SPIONs (0,8 mg/kg) en ratas por 24 h, demostraron que se podían promover los efectos tóxicos en el hígado, los pulmones y los órganos renales, mientras que el corazón y el cerebro no se vieron afectados (Lewinski et al., 2011). Otro estudio reportó que la administración intravenosa de SPION a una dosis de 10 mg/kg en ratas aumenta el estrés oxidativo en el hígado, el bazo y el riñón, alcanzando un máximo a los 3 días y luego, disminuyó lentamente, mientras que no se observaron cambios significativos para los pulmones, el cerebro, y tejidos cardíacos (Sharifi et al., 2012).

Sin embargo, Wu et al., (2013) suministraron a ratas por vía intranasal 20 mg/kg de NPs SPION (30 nm) durante siete días, encontrando que las partículas se depositaban a concentraciones particularmente altas en el cuerpo estriado y el hipocampo del cerebro rata. Más de la mitad de las SPION se retuvieron en el cuerpo estriado durante un mínimo de 14 días, acompañado de daño oxidativo en la región. Estudios *in vitro* de este mismo trabajo, indicaron que las SPION

pueden disminuir la viabilidad neuronal, desencadenar estrés oxidativo y activar vías mediadas por JNK y p53 para regular el ciclo celular y la apoptosis (Wu et al., 2013).

Adicionalmente, los efectos de las SPION en el tejido pulmonar de ratas Wistar macho adultas han sido explorados usando el método de inhalación pulmonar para la administración de las NPs (Sadeghi L. et al., 2015). Este estudio utilizó dos dosis de nanopartículas diferentes (20 y 40 mg/kg) y dos tiempos de exposición (7 y 14 veces). Las NPs administradas penetraron en la circulación y alcanzaron rápidamente el hígado, creando una inflamación grave en los tejidos del pulmón y el hígado. De igual manera se identificó que al aumentar la dosis administrada, el tejido pulmonar mostraba síntomas como enfisema pulmonar, hiperemia intersticial e inflamación en los pulmones con mayor intensidad y la exposición de las NPs provocaba la presencia de neutrófilos, linfocitos y eosinófilos en el tejido pulmonar, confirmando que existía una condición patológica grave (Sadeghi L. et al., 2015).

Otros ensayos evaluaron a nivel clínico en humanos las SPION aprobadas para ensayos clínicos, como Feridex® en los seres humanos y fue reconocido como un agente seguro y eficiente. Sin embargo, el efecto secundario más frecuente se centró en el dolor de espalda, que se detectó en el 4% de los pacientes (Wang, 2011).

Wang, (2011) informó que la administración de Feridex en dosis recomendadas (0,56 mg/kg) puede tener efectos adversos. Entre los eventos más frecuentes se encuentran la hipotensión, el dolor lumbar y dolor en las piernas con una incidencia que oscila entre el 2 y el 10%. De igual manera se informó que el 2,5% de los pacientes presentaba dolor lo suficientemente intenso como para provocar la interrupción o suspensión de la perfusión (Wang, 2011).

Vadhan-Raj et al., (2016), evaluaron la seguridad y eficacia de ferumoxytol, demostrando que podría tolerarse bien sin que se identificaran nuevas señales de seguridad entre los pacientes que recibieron dosis repetidas. El efecto secundario más frecuente se centró en el dolor de

cabeza, que se detectó en el 7% de los pacientes y la infección del tracto urinario en el 5,6% de estos. Además, se encontraron náuseas, vómitos, mareos, diarrea, nasofaringitis, fatiga, dolor de espalda, estreñimiento, hipopotasemia, tos, en el 2-5% de los pacientes (Vadhan-Raj et al., 2016).

Muehe et al., (2016) administraron ferumoxytol a 49 pacientes pediátricos (21 niñas y 28 niños, de 5 a 18 años) y 19 adultos jóvenes (8 mujeres y 11 hombres, de 18 a 25 años), recibiendo una dosis de 5 mg Fe/kg por vía intravenosa. El estudio reportó cuatro acontecimientos adversos leves, que se cree que están relacionados con el ferumoxytol, dos episodios de hipotensión leve, un caso de náuseas, y eritema en el lugar de la inyección. No obstante, el estudio demostró que las dosis de ferumoxitol de hasta 5 mg de Fe/kg administrados para RM de imagen no conduce a sucesos adversos relevantes o toxicidad hepática (Muehe et al., 2016).

Tabla 3. Efectos de SPION reportados in vivo

SPIO utilizado	Dosis	Modelo animal	Vía de administración	Resultados	Ref.
Feridex	0,56 mg/kg	Humanos	Inyección intravenosa	Hipotensión, el dolor lumbar y dolor en las piernas	(Yi Xiang Wang, 2011)
SPION	0,8 mg/ kg	Ratas	Inyección intravenosa	Efectos tóxicos en el hígado, los pulmones y los órganos renales	(Lewinski et al., 2011).
Ferumoxytol	510 mg/ kg	Humanos	Inyección intravenosa	Dolor de cabeza, que se detectó y infección del tracto urinario	(Vadhan-Raj et al., 2016)
SPION	20 y 40 mg/kg	Ratas Wistar	Inhalación pulmonar	Inflamación grave en los tejidos del pulmón y el hígado	(L. Sadeghi et al., 2015).
SPION desnudas, dex y recubiertas de PEG	5 (mg/ kg)	Ratas Wistar	Inyección intravenosa	Mostrando propiedades nocivas <i>in vivo</i>	(Sabareeswaran et al., 2016)
Fe_2O_3	20 mg/ kg	Rata	Intranasal	Aumento significativo del	(Wu et al.,

				estrés oxidativo y retraso en la eliminación de la NPs del hipocampo	2013)
Fe_2O_3	50 mg/kg	Rata	Inyección intravascular	Dopamina significativamente disminuida en el cuerpo estriado y daño a las neuronas dopaminérgicas	(Imam et al., 2015).

Mejoras en RM por medio de las SPION empleadas en el diagnóstico de enfermedades neuroinflamatorias

La RM se ha convertido en una herramienta esencial e insustituible para el examen médico y el diagnóstico clínico. El medio de contraste convencional son los quelatos de gadolinio, utilizados para la formación de imágenes por RM. Históricamente se han considerado seguros y bien tolerados cuando se usan en los niveles de dosis recomendados. Sin embargo, han surgido informes recientes sobre la acumulación de gadolinio en varios tejidos de pacientes que no tienen insuficiencia renal, incluidos los huesos, el cerebro y los riñones (Rogosnitzky & Branch, 2016). Los efectos acumulativos y a largo plazo del gadolinio retenido en el cerebro y en otros lugares aún no se comprenden. Recientemente, los pacientes que informan que padecen síntomas crónicos secundarios a la exposición y retención de gadolinio crearon grupos de apoyo en línea para poder identificar la toxicidad del gadolinio (Ramalho et al., 2016). Las SPION han atraído un interés particular como un excelente agente de contraste para RM por su velocidad de relajación mejorada, modificación flexible, orientación multifuncional y forma de degradación no tóxica. Se ha aplicado estas NPs con éxito en el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades del hígado, sistema linfático, pancreático y SNC (Barrefelt et al., 2014).

Estudios en ratones transgénicos (modelo enfermedad de alzheimer) para la proteína precursora beta amiloide ($A\beta$ PP)/proteína de presenilina (PS1), demostraron la capacidad de las SPION

conjugadas anti-A β PP (anticuerpos) de penetrar la BHE para actuar como un agente de contraste para la obtención de imágenes por RM de placas (Sillerud et al., 2013).

En contraste, Mc Connell et al., (2016) utilizaron un anticuerpo anti-dextrano (Dx1) que tiene la capacidad de unirse a la capa de carboximetildextrano de la NPs para diferenciar el ferumoxitol del hierro endógeno y localizar inequívocamente en el tejido cerebral. La inyección intravenosa de ferumoxitol en ratas inmunocompetentes que albergaban lesiones cerebrales inflamatorias inducidas por xenoinjertos de tumores humanos dio como resultado una mejora de la señal heterogénea y específica de la lesión en las exploraciones de RM *in vivo* (Mc Connell et al., 2016).

De acuerdo con Yang et al., (2014), las NPs USPIO proporcionan información complementaria con respecto a la actividad de las células inflamatorias en la isquemia neuroinflamatoria cerebral que no se había visualizado usando dimeglumina gadopentetato (Gd-DTPA) convencional. La evaluación utilizó múltiples parámetros de RM que pueden identificar USPIO intracelular y extracelular *in vivo* (Yang et al., 2014). Teniendo en cuenta el estudio anterior, Thorek et al., (2011) evaluaron a SPION como agentes de contraste de RM para detectar específicamente la neuroinflamación en los sitios de lesión dolorosa en un modelo de rata de compresión de la raíz nerviosa cervical. Utilizaron dos grupos separados de ratas: un grupo con lesiones que se sometió a una compresión transitoria controlada de la raíz dorsal y un grupo simulado que recibió los mismos procedimientos quirúrgicos, pero sin lesiones. Se realizó una RM previa al contraste 6 días después de la cirugía, seguida de la administración de SPION mediante inyección en la vena de la cola. Después de 24 horas, las imágenes ponderadas T₂ en el sitio de la lesión de la raíz revelaron una mejora poscontraste de $72,9 \pm 31\%$ (Thorek et al., 2011).

Gambarota & Leenders, (2011) complementan diciendo que la relajación de T₂ con USPIO es hasta 20 veces mayor que la de Gd-DTPA, debido a que USPIO proporciona un marcador muy

sensible de alteraciones en el volumen vascular entre los tejidos; esta característica podría aprovecharse para la detección de tumores. Por lo tanto, las imágenes con USPIO pueden ser una alternativa muy atractiva a las imágenes de Gd-DTPA más comúnmente utilizadas y, al menos, tendrán un valor agregado, especialmente para la detección y delimitación de tumores cerebrales infiltrativos difusos Gambarota & Leenders, (2011).

Seyfer, (2014) demostró la capacidad de la RM mejorada con USPIO para diferenciar las lesiones benignas, inflamatorias y malignas. De igual manera Zivadinov et al., (2020) consideran a USPIO un biomarcador prometedor para obtener imágenes en serie y investigar el efecto de las intervenciones terapéuticas sobre los monocitos/macrófagos y la activación de neurodegeneración de la microglía en animales infectados con un modelo de desmielinización crónica del virus de la encefalomyelitis murina (Seyfer, 2014).

Algunos estudios muestran la capacidad de permanencia de SPION, no mostrando resultados instantáneos sino a través del tiempo como lo evidenciaron Ouyang et al., (2016). En ese trabajo encontraron que 24 h después de la lesión, todos los conejos mostraron focos de señal alta en T2, mientras que solo el 55% de las lesiones se pudieron encontrar en Gd-T1 y ninguna en USPIO-T1. Las lesiones se intensificaron en Gd-T1 en el 100% de los sujetos después de 48 h y los tamaños de los realces aumentaron al máximo después de 72 h. En el punto de tiempo de 72 h después de la lesión, el 90% de las lesiones se intensificaron por USPIO. Cinco días después de la lesión, 19 lesiones mostraron una disminución del realce de Gd y una desaparición; sin embargo, en USPIO la mejora se hizo más grande que antes (Ouyang et al., 2016).

Pero no hay que dejar atrás a las SPION comerciales para la obtención de imágenes por RM, Gkagkanasiou et al., (2015) demostraron que el ferumoxytol, parece tener características ideales para la formación de imágenes del SNC. En los últimos años, el ferumoxitol se ha utilizado con éxito para obtener imágenes de neoplasias del SNC, inflamaciones del SNC y

malformaciones cerebrales, ofreciendo información útil a nivel celular y molecular (Gkagkanasiou et al., 2015).

Por otro lado, Lee, (2017) demostró la viabilidad del etiquetado de células madre mesenquimales derivadas de sangre del cordón umbilical humano (hUCB-MSC) con ferumoxitol y observó, mediante RM, el injerto de hUCB-MSC marcadas con ferumoxitol administradas mediante inyección estereotáctica en el hipocampo de un modelo de ratón transgénico de la enfermedad de Alzheimer familiar (5XFAD). A través de la RM, se pudieron discernir señales hipointensas en el sitio donde se inyectaron las células madre mesenquimales humanas marcadas con ferumoxitol. También se observaron áreas positivas para hierro en el hipocampo injertado (Lee, 2017).

Conclusiones

- ❖ Las SPION pueden ejercer efectos importantes sobre la dinámica y fisiología celular, presentando efectos celulares y moleculares, que dependen principalmente, del tiempo de exposición, tamaño de la partícula, tipo de recubrimiento y concentración.
- ❖ Entre los efectos biológicos más comunes de las SPION a nivel celular encontramos la disminución de la viabilidad, alteración de la membrana plasmática, alteraciones mitocondriales, daño oxidativo y mal plegamiento de proteínas.
- ❖ A nivel tisular las SPION afectan principalmente hígado, pulmones y riñones, debido a que la acumulación de hierro en estos tejidos es de mayor demanda, favoreciendo así la reacción Fenton y la producción de ROS tóxico para la célula y el tejido.
- ❖ En tejido cerebral no se ha detectado acumulación de SPION ni efectos citotóxicos. Sin embargo, *in vitro* estas NPs afectan diferencialmente los linajes celulares dependiendo del recubrimiento, la dosis y el campo magnético al que es sometido.
- ❖ Existen variedades de NPs de uso comercial que implementan el Fe_3O_4 , algunas ya autorizadas por la FDA, sin embargo, se identificó que la mayoría de ellas tienen efectos biológicos en los que se destacan el dolor de cabeza y el dolor de espalda.
- ❖ Es necesario que se amplíen los estudios de las NPs comerciales para su uso en diferentes tejidos y como agentes de contraste.
- ❖ Las SPION han demostrado ser eficaces en el área de diagnóstico por medio de la RM, teniendo como principales características la mejora de imagenología, el seguimiento *in vivo* de células y la marcación de células de interés biológico.

Agradecimientos

Este proyecto fue financiado por el Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación (código No

123377757091 y contrato 672 del 2018). Agradezco a la Dr. Monica Losada por su asesoría, apoyo y guía durante el proceso; al grupo de investigación biología celular y funcional e ingeniería de biomoléculas. A cada uno de los profesores que de una u otra forma aportaron de sus conocimientos para soportar con argumentos este trabajo; a mis compañeros que he conocido a lo largo de este proceso, especialmente a Valentina Carvajal, Valeria Torres y Solangie Ramon, quienes también fueron de gran apoyo.

Referencias

- Abbott, N. J., Patabendige, A. A., & Dolman, Diana EM. (2010). Structure and function of the blood–brain barrier. *Neurobiology of Disease*, 37(1), 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030>
- Agosta, F., Galantucci, S., & Filippi, M. (2017). Advanced magnetic resonance imaging of neurodegenerative diseases - PubMed. *Neurological Sciences : Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 38(1). <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2764-x>
- Amor, S., Puentes, F., Baker, D., & Van Der Valk, P. (2010). Inflammation in neurodegenerative diseases. *Immunology*, 129(2), 154–169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2009.03225.x>
- Arami, H., Stephen, Z., Veiseh, O., & Zhang, M. (2011, April 14). Chitosan-Coated iron oxide nanoparticles for molecular imaging and drug delivery. SpringerLink. https://link.springer.com/chapter/10.1007/12_2011_121
- Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2016). *Nanoparticles in the clinic. Bioengineering & Translational Medicine*, 1(1), 10–29. doi:10.1002/btm2.10003
- Avasthi, A., Caro, C., Pozo-Torres, E., Leal, M. P., & García-Martín, M. L. (2020). Magnetic Nanoparticles as MRI Contrast Agents. *Topics in Current Chemistry*, 378(3),

1–16. <https://doi.org/10.1007/s41061-020-00302-w>

- Barouki, R. (2007). Cellular stress. *FEBS Letters*, 581(19), 3581–3581. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.07.001>
- Barrefelt, A., Paradossi, G., Asem, H., Margheritelli, S., Saghafian, M., Oddo, L., Muhammed, M., Aspelin, P., Hassan, M., & Brismar, T. B. (2014). Dynamic MR imaging, biodistribution and pharmacokinetics of polymer shelled microbubbles containing spion. *Nano*, 09(06), 1450069. <https://doi.org/10.1142/s1793292014500696>
- Bashir, M. R., Bhatti, L., Marin, D., & Nelson, R. C. (2014). Emerging applications for ferumoxytol as a contrast agent in MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 41(4), 884–898. <https://doi.org/10.1002/jmri.24691>
- Carda, V. N. (2015). La microglía y su función inmunitaria en el sistema nervioso. *Uji.es*. Recuperado el 15 de octubre de 2021, de http://repositori.uji.es/xmlui/bitstream/handle/10234/80608/forum_1995_14.pdf?sequence=1
- Chen, W. W., Zhang, X., & Huang, W. J. (2016). Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Molecular Medicine Reports*, 13(4), 3391–3396. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4948>
- Chen, L., & Liu, B. (2017). Relationships between stress granules, oxidative stress, and neurodegenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2017/1809592>
- Crichton, R. R., Dexter, D. T., & Ward, R. J. (2011). Brain iron metabolism and its perturbation in neurological diseases - PubMed. *Journal of Neural Transmission* (Vienna, Austria : 1996), 118(3). <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0470-z>
- De Stefano, C., Fontanella, F., & Impedovo, D. I. (2019). Handwriting analysis to support neurodegenerative diseases diagnosis: A review. *Pattern Recognition Letters*,

121, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2018.05.013>

- Deng, L.-H., Jiang, H., Lu, F.-L., Wang, H.-W., Pu, Y., Wu, C.-Q., Tang, H.-J., Xu, Y., Chen, T.-W., Zhu, J., Shen, C.-Y., & Zhang, X.-M. (2021). Size and PEG length-controlled pegylated monocrystalline superparamagnetic iron oxide nanocomposite for MRI contrast agent. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 201–211. <https://doi.org/10.2147/IJN.S271461>
- Di Marco, M., Sadun, C., Port, M., Guilbert, I., Couvreur, P., & Dubernet, C. (2007). Physicochemical characterization of ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles (USPIO) for biomedical application as MRI contrast agents. *International Journal of Nanomedicine*, 2(4), 609–622.
- Dissanayake, N. M., Current, K. M., & Obare, S. O. (2015). Mutagenic effects of iron oxide nanoparticles on biological cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 23482–23516. <https://doi.org/10.3390/ijms161023482>
- Farrell, B. T., Hamilton, B. E., Dosa, E., Rimely, E., Nasser, M., Gahramanov, S., Lacy, C. A., Frenkel, E. P., Doolittle, N. D., Jacobs, P. M., & Neuwelt, E. A. (2013). Using iron oxide nanoparticles to diagnose CNS inflammatory diseases and PCNSL. *Neurology*, 81(3), 256–263. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31829bfd8f>
- Fernández, Natalia, Costa, C., Brandão, F., & Duarte, A. (2018). Toxicological assessment of silica-coated iron oxide nanoparticles in human astrocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 118, 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.04.058>
- Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. E. (2007). Chronic inflammation: Importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clinical and Experimental Immunology*, 147(2), 227–235. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x>
- Fortuin, A. S., Brüggemann, R., Linden, J. van der, Panfilov, I., Israël, B., Scheenen,

- T. W. J., & Barentsz, J. O. (2017). Ultra-small superparamagnetic iron oxides for metastatic lymph node detection: Back on the block. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 10(1). <https://doi.org/10.1002/wnan.1471>
- Förster, C. (2008). Tight junctions and the modulation of barrier function in disease. *Histochemistry and Cell Biology*, 130(1), 55–70. <https://doi.org/10.1007/s00418-008-0424-9>
 - Gambarota, G., & Leenders, W. (2011, August 1). Characterization of tumor vasculature in mouse brain by USPIO contrast-enhanced MRI. SpringerLink. https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-61779-219-9_25
 - Ghosh, S., Ghosh, I., & Mukherjee, A. (2017, May 1). Comet assay based detection of SPION induced DNA damage in human lymphocytes. *IEEE Xplore*. <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/7915095>
 - Galluzzi, L., Yamazaki, T., & Kroemer, G. (2018). Linking cellular stress responses to systemic homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(11), 731–745. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0068-0>
 - Gkagkanasiou, M., Ploussi, A., Gazouli, M., & Efsthopoulos, E. P. (2015). USPIO-Enhanced MRI neuroimaging: A review. *Journal of Neuroimaging*, 26(2), 161–168. <https://doi.org/10.1111/jon.12318>
 - Guo, Shen, Wang, Xiao, Zhang, Luo, Gong, Sun, Xu, Sirois, & Li. (2010). In vivo evaluation of cerebral transplantation of resovist-labeled bone marrow stromal cells in parkinson's disease rats using magnetic resonance imaging. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 163(5), 636–648. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9069-y>
 - Gupta, A. K., & Wells, S. (2004). Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: Preparation, characterization, and cytotoxicity studies - PubMed. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 3(1). <https://doi.org/10.1109/tnb.2003.820277>

- Gutiérrez García, E., Camacho López, M. Á., Hidalgo Tobón, S. S., & Méndez Rojas, M. Á. (2013). Relaxometría de Nanopartículas de Oxido de Hierro como medio de contraste en Imágenes de Resonancia Magnética.

- Gómez-Río, M., Caballero, M. M., Sáez, J. M. G., & Mínguez-Castellanos, A. (2016). Diagnosis of neurodegenerative diseases: The clinical approach - PubMed. *Current Alzheimer Research*, 13(5). <https://doi.org/10.2174/1567205013666151116141603>

- Hajesmaeelzadeh, F., Shanehsazzadeh, S., Grüttner, C., Daha, F. J., & Oghabian, M. A. (2016). Effect of coating thickness of iron oxide nanoparticles on their relaxivity in the MRI. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19(2), 166–171.

- He, Q., Liu, J., Liang, J., Liu, X., Li, W., Liu, Z., ... Tuo, D. (2018). Towards Improvements for Penetrating the Blood–Brain Barrier—Recent Progress from a Material and Pharmaceutical Perspective. *Cells*, 7(4), 24. doi:10.3390/cells7040024

- Heim, B., Krismer, F., De Marzi, R., & Seppi, K. (2017). Magnetic resonance imaging for the diagnosis of Parkinson’s disease. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 124(8), 915–964. <https://doi.org/10.1007/s00702-017-1717-8>

- Henning, T. D., Gawander, R., & Khurana, A. (2012). Magnetic Resonance Imaging of Ferumoxide-Labeled Mesenchymal Stem Cells in Cartilage Defects: In Vitro and in Vivo Investigations. *SAGE Journals*. <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.2310/7290.2011.00040>

- Hoffman, H. T., Quets, J., Toshiaki, T., Funk, G. F., McCulloch, T. M., Graham, S. M., ... Yuh, W. T. (2000). Functional Magnetic Resonance Imaging Using Iron Oxide Particles in Characterizing Head and Neck Adenopathy. *The Laryngoscope*, 110(9), 1425–1430. doi:10.1097/00005537-200009000-00002

- Imam, S. Z., Lantz-McPeak, S. M., Cuevas, E., Rosas-Hernandez, H., Liachenko, S.,

- Zhang, Y., Sarkar, S., Ramu, J., Robinson, B. L., Jones, Y., Gough, B., Paule, M. G., Ali, S. F., & Binienda, Z. K. (2015). Iron Oxide Nanoparticles Induce Dopaminergic Damage: In vitro Pathways and In Vivo Imaging Reveals Mechanism of Neuronal Damage - PubMed. *Molecular Neurobiology*, 52(2). <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9259-2>
- Ittrich, H., Peldschus, K., Raabe, N., Kaul, M., & Adam, G. (2013). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles in biomedicine: Applications and developments in diagnostics and therapy. *RöFo - Fortschritte Auf Dem Gebiet Der Röntgenstrahlen Und Der Bildgebenden Verfahren*, 185(12), 1149–1166. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1335438>
 - Jain, T. K., Reddy, M. K., Morales, M. A., Leslie-Pelecky, D. L., & Labhasetwar, V. (2008). Biodistribution, Clearance, and Biocompatibility of Iron Oxide Magnetic Nanoparticles in Rats. *Molecular Pharmaceutics*, 5(2), 316–327. doi:10.1021/mp7001285
 - Jun, Y., Choi, J., & Cheon, J. (2007). Heterostructured magnetic nanoparticles: Their versatility and high performance capabilities. *Chemical Communications*, 12, 1203–1214. <https://doi.org/10.1039/B614735F>
 - Kania, G., Sternak, M., Jaształ, A., Chłopicki, S., & Błażejczyk, A. (2018). Uptake and bioreactivity of charged chitosan-coated superparamagnetic nanoparticles as promising contrast agents for magnetic resonance imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 14(1), 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.09.004>
 - Kateb, B., & Heiss, J. D. (2014). *The textbook of nanoneuroscience and nanoneurosurgery*. Google Books. <https://books.google.co.in/books?id=DYgImzrBrr0C&dq=From+nanotechnology+to+nanoneuroscience/nanoneurosurgery+and+nanobioelectronics.+A+historical+review+>

of+milestones&source=gbs_navlinks_s

- Kunzmann, A., Andersson, B., Thurnherr, T., Krug, H., Scheynius, A., & Fadeel, B. (2011). Toxicology of engineered nanomaterials: Focus on biocompatibility, biodistribution and biodegradation - PubMed. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1810(3). <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2010.04.007>
- Lamas, L. (2016). Encender una bomba de agua con Arduino. 18 De Diciembre 2016, 72, 629–646. https://www.luisllamas.es/bomba-de-agua-con-arduino/%0Ahttp://oa.upm.es/13652/1/INVE_MEM_2011_114886.pdf%0Ahttps://www.luisllamas.es/bomba-de-agua-con-arduino/
- Laurent, S., Burtea, C., Thirifays, C., Häfeli, U. O., & Mahmoudi, M. (2012). Crucial ignored parameters on nanotoxicology: The importance of toxicity assay modifications and “cell vision.” *PloS One*, 7(1), e29997. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029997>
- Laffon, B., Fernández-Bertólez, N., Costa, C., Brandão, F., Teixeira, J. P., Pásaro, E., & Valdiglesias, V. (2018). Cellular and Molecular Toxicity of Iron Oxide Nanoparticles. *Cellular and Molecular Toxicology of Nanoparticles*, 199–213. doi:10.1007/978-3-319-72041-8_12
- Lee, N. K. (2017). Magnetic resonance imaging of ferumoxytol-labeled human mesenchymal stem cells in the mouse brain.
- Leung, K. (2007, December 12). Ferumoxides. *Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD)* - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK23037/>
- Lewinski, N., Colvin, V., & Drezek, R. (2011). Cytotoxicity of Nanoparticles. *Small*,

4(1), 26–49. doi:10.1002/sml.200700595

- Liu, Y., Xia, Q., Liu, Y., Zhang, S., Cheng, F., Zhong, Z., Wang, L., Li, H., & Xiao, K. (2014). Genotoxicity assessment of magnetic iron oxide nanoparticles with different particle sizes and surface coatings - PubMed. *Nanotechnology*, 25(42). <https://doi.org/10.1088/0957-4484/25/42/425101>
- Luo, S., Ma, C., Zhu, M.-Q., Ju, W.-N., Yang, Y., & Wang, X. (2020). Application of iron oxide nanoparticles in the diagnosis and treatment of neurodegenerative diseases with emphasis on alzheimer's disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 0. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00021>
- Mappes, T., Jahr, N., Csaki, A., Vogler, N., Popp, J., & Fritzsche, W. (2012). The invention of immersion ultramicroscopy in 1912-the birth of nanotechnology? - PubMed. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 51(45). <https://doi.org/10.1002/anie.201204688>
- Marcus, M., Karni, M., Baranes, K., Levy, I., Alon, N., Margel, S., & Shefi, O. (2016). Iron oxide nanoparticles for neuronal cell applications: Uptake study and magnetic manipulations. *Journal of Nanobiotechnology*, 14(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0190-0>
- Martínez-Tapia, R. J., Estrada-Rojo, F., Hernández-Chávez, A. A., Barajas-Martínez, A., Escoto, S. I., Navarro, L., Chavarría, A., Martínez-Tapia, R. J., Estrada-Rojo, F., Hernández-Chávez, A. A., Barajas-Martínez, A., Escoto, S. I., Navarro, L., & Chavarría, A. (2018). Neuroinflamación: El ying-yang de la neuroinmunología. *Revista de La Facultad de Medicina (México)*, 61(5), 44–53.
- Mahmoudi, M., Milani, Abbas S. , & Stroeve, P. (2010, August 16). Synthesis, surface architecture and biological response of superparamagnetic iron oxide nanoparticles for application in drug delivery: a review. *InderScience Online*.

<https://www.inderscienceonline.com/doi/abs/10.1504/IJBNN.2010.034651>

- Matuszak, J., Dörfler, P., Zaloga, J., Unterweger, H., Lyer, S., Dietel, B., Alexiou, C., & Cicha, I. (2015). Shell matters: Magnetic targeting of SPIONs and in vitro effects on endothelial and monocytic cell function - PubMed. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 61(2). <https://doi.org/10.3233/CH-151998>
- Mc Connell, H. L., Schwartz, D. L., Richardson, B. E., Woltjer, R. L., Muldoon, L. L., & Neuwelt, E. A. (2016). Ferumoxytol nanoparticle uptake in brain during acute neuroinflammation is cell-specific. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 12(6), 1535–1542. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.03.009>
- McCormack. (2012). Ferumoxytol. *Drugs*, 72(15), 2013–2022. <https://doi.org/10.2165/11209880-000000000-00000>
- Meisel, C. L., Bainbridge, P., Mulkern, R. V., & Mitsouras, D. (2020, May 13). Assessment of superparamagnetic iron oxide nanoparticle poly(ethylene glycol) coatings on magnetic resonance relaxation for early disease detection. *IEEE Xplore*. <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/9085934>
- Mg, K., V, K., & F, H. (2015). History and possible uses of nanomedicine based on nanoparticles and nanotechnological progress. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 06(06). <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000336>
- Morcos, S. K. (2005). Radiological contrast agents. *Side Effects of Drugs Annual*, 552–567. doi:10.1016/s0378-6080(05)80468-4
- Morris, G., Puri, B. K., Walder, K., Berk, M., Stubbs, B., Maes, M., & Carvalho, A. F. (2018). The Endoplasmic Reticulum Stress Response in Neuroprogressive Diseases: Emerging Pathophysiological Role and Translational Implications. *Molecular Neurobiology*, 55(12), 8765–8787. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1028-6>
- Morteza Mahmoudi, A. Shokrgozar, M., Soroush Sardari, K. Moghadam, M.,

- Hojatollah Vali, Sophie Laurent, & Pieter Stroeve. (2011). Irreversible changes in protein conformation due to interaction with superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Nanoscale*, 3(3), 1127–1138. <https://doi.org/10.1039/C0NR00733A>
- Muehe, A. M., Feng, D., von Eyben, R., Luna-Fineman, S., Link, M. P., Muthig, T., Huddleston, A. E., Neuwelt, E. A., & Daldrup-Link, H. E. (2016). Safety report of ferumoxytol for magnetic resonance imaging in children and young adults. *Investigative Radiology*, 51(4), 221–227. <https://doi.org/10.1097/RLI.0000000000000230>
 - Neely, W. B. (1961). Dextran: Structure and Synthesis. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 341–369. doi:10.1016/s0096-5332(08)60191-5
 - Nemmar, A., Beegam, S., Yuvaraju, P., Yasin, J., Tariq, S., Attoub, S., & Ali, B. H. (2016). Ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles acutely promote thrombosis and cardiac oxidative stress and DNA damage in mice. *Particle and Fibre Toxicology*, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12989-016-0132-X>
 - Neubert, J., Wagner, S., Kiwit, J., Bräuer, A. U., & Glumm, J. (2015). New findings about iron oxide nanoparticles and their different effects on murine primary brain cells. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 2033–2049. <https://doi.org/10.2147/IJN.S74404>
 - Neuwelt, E. A., Várallyay, P., Bagó, A. G., Muldoon, L. L., Nesbit, G., & Nixon, R. (2004). Imaging of iron oxide nanoparticles by MR and light microscopy in patients with malignant brain tumours - PubMed. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 30(5). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2004.00557.x>
 - Ouyang, L., Zeng, S., Zheng, G., & Lu, G. M. (2016). Early Inflammatory Response following Traumatic Brain Injury in Rabbits Using USPIO- and Gd-Enhanced MRI. *BioMed Research International*, 2016.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2016/8431987>

- Panariti, A., Miserocchi, G., & Rivolta, I. (2012). The effect of nanoparticle uptake on cellular behavior: Disrupting or enabling functions? *Nanotechnology, Science and Applications*, 5(1), 87–100. <https://doi.org/10.2147/NSA.S25515>
- Pardridge, W. M. (2011). Drug transport in brain via the cerebrospinal fluid. *Fluids and Barriers of the CNS*, 8(1), 2–5. <https://doi.org/10.1186/2045-8118-8-7>
- Persidsky, Y., Ramirez, S. H., Haorah, J., & Kanmogne, G. D. (2006). Blood-brain barrier: Structural components and function under physiologic and pathologic conditions. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 1(3), 223–236. <https://doi.org/10.1007/s11481-006-9025-3>
- Pisanic, T. R., Blackwell, J. D., Shubayev, V. I., Fiñones, R. R., & Jin, S. (2011). Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons - PubMed. *Biomaterials*, 28(16). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.043>
- Pongrac, I. M., Pavičić, I., Milić, M., Brkić Ahmed, L., Babič, M., Horák, D., Vinković Vrček, I., & Gajović, S. (2016). Oxidative stress response in neural stem cells exposed to different superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 1701–1715. <https://doi.org/10.2147/IJN.S102730>
- Preston, D. C. (2016). MRI basics. <https://case.edu/med/neurology/NR/MRI%20Basics.htm>
- Ramirez-Nuñez, A. L., Jimenez-Garcia, L. F., Goya, G. F., Sanz, B., & Santoyo-Salazar, J. (2018). In vitro magnetic hyperthermia using polyphenol-coated Fe₃O₄@γ-Fe₂O₃ nanoparticles from *Cinnamomun verum* and *Vanilla planifolia*: The concert of green synthesis and therapeutic possibilities - PubMed. *Nanotechnology*, 29(7). <https://doi.org/10.1088/1361-6528/aaa2c1>
- Reed-Guy, L. (2012, July 16). Brain disorders. Healthline Media.

<https://www.healthline.com/health/brain-disorders#risk-factors>

- Roohi, F., Lohrke, J., Ide, A., Schütz, G., & Dassler, K. (2012). Studying the effect of particle size and coating type on the blood kinetics of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 4447–4458. <https://doi.org/10.2147/IJN.S33120>
- Sabareeswaran, A., Ansar, B., & Varma Harikrishna, P. R. (2016). Effect of surface-modified superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONS) on mast cell infiltration: An acute in vivo study. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 12(6), 1523–1533. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2016.02.018>
- Sadeghi, L., Babadi, V. Y., & Espanani, H. R. (2015). Toxic effects of the Fe₂O₃ nanoparticles on the liver and lung tissue. *Bratislava Medical Journal*, 116(06), 373–378. https://doi.org/10.4149/bll_2015_071
- Sadeghi, Z., Maleki, P., Shahabi, F., Bondarkhilli, S. A. M., Masoumi, M., Taheri, M., Mohammadi, M., & Raheb, J. (2020). Surface modification of superparamagnetic iron oxide (SPION) and comparison of cytotoxicity effect of mPEG2000-PEI-SPION and mPEG750-PEI-SPION on the human embryonic carcinoma stem cell, NTERA2 cell line - IOS Press. *Human Antibodies*, 28(2), 159–167. <https://doi.org/10.3233/HAB-200403>
- Saengruengrit, C., Ritprajak, P., Wanichwecharungruang, S., Sharma, A., Salvan, G., Zahn, D. R. T., & Insin, N. (2018). The combined magnetic field and iron oxide-PLGA composite particles: Effective protein antigen delivery and immune stimulation in dendritic cells - PubMed. *Journal of Colloid and Interface Science*, 520. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.03.008>
- Saito, S., Tsugeno, M., Koto, D., Mori, Y., Yoshioka, Y., Nohara, S., & Murase, K. (2012). Impact of surface coating and particle size on the uptake of small and ultrasmall

- superparamagnetic iron oxide nanoparticles by macrophages. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 5415–5421. <https://doi.org/10.2147/IJN.S33709>
- Schulze, F., Gramoun, A., Crowe, L. A., Dienelt, A., Akcan, T., Hofmann, H., Vallée, J. P., Duda, G. N., & Ode, A. (2015, July 27). Accumulation of amino-polyvinyl alcohol-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles in bone marrow: implications for local stromal cells. *Future Medicine*. <https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/nmm.15.62>
 - Schulze, F., Dienelt, A., Geissler, S., Zaslansky, P., Schoon, J., Henzler, K., ... Ode, A. (2014). Amino-polyvinyl Alcohol Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles are Suitable for Monitoring of Human Mesenchymal Stromal Cells In Vivo. *Small*, n/a–n/a. doi:10.1002/sml.201400707
 - Seyfer. (2014). Cancer and inflammation. Differentiation by USPIO-enhanced MR imaging; Tumor oder Entzündung. Differenzierung mittels USPIO-verstaerkter Magnetresonanztomografie. *RoeFo - Fortschritte Auf Dem Gebiete Der Roentgenstrahlen Und Der Bildgebenden Verfahren*, 186.
 - Shagholani, H., Ghoreishi, S. M., & Sharifi, S. H. (2018). Conversion of amine groups on chitosan-coated SPIONs into carbocyclic acid and investigation of its interaction with BSA in drug delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 45, 373–377. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.03.029>
 - Sharifi, S., Behzadi, S., Laurent, S., Forrest, M. L., Stroeve, P., & Mahmoudi, M. (2012). Toxicity of nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, 41(6), 2323–2343. <https://doi.org/10.1039/C1CS15188F>
 - Silbergeld, E. K. (2013). *Toxicologia. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*. Sumario 33.

- Sillerud, L. O., Solberg, N. O., Chamberlain, R., Orlando, R. A., Heidrich, J. E., Brown, D. C., Brady, C. I., Jagt, T. A. V., Garwood, M., & Jagt, D. L. V. (2013). SPION-Enhanced magnetic resonance imaging of alzheimer's disease plaques in a β pp/ps-1 transgenic mouse brain - IOS press. *Journal of Alzheimer's Disease*, 34(2), 349–365. <https://doi.org/10.3233/JAD-121171>
- Soenen, S. J. H., Himmelreich, U., Nuytten, N., & Cuyper, M. (2011). Cytotoxic effects of iron oxide nanoparticles and implications for safety in cell labelling. *Biomaterials*, 32(1), 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.075>
- Sripetchwande, J., Wongjaikam, S., Krintratun, W., Chattipakorn, N., & Chattipakorn, S. C. (2016). A combination of an iron chelator with an antioxidant effectively diminishes the dendritic loss, tau-hyperphosphorylation, amyloids- β accumulation and brain mitochondrial dynamic disruption in rats with chronic iron-overload - PubMed. *Neuroscience*, 332. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.07.003>
- Stark, W. J., Stoessel, P. R., Wohlleben, W., & Hafner, A. (2015). Industrial applications of nanoparticles - PubMed. *Chemical Society Reviews*, 44(16). <https://doi.org/10.1039/c4cs00362d>
- Strijkers, G., M. Mulder, W., F. van Tilborg, G., & Nicolay, K. (2007). MRI Contrast Agents: Current Status and Future Perspectives. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 7(3), 291–305. doi:10.2174/187152007780618135
- Subias, J. C., & Jerez, J. A. S. (2021). *Resonancia magnética dirigida a técnicos superiores en imagen para el diagnóstico*. Elsevier.
- Sulhan, S., Lyon, K. A., Shapiro, L. A., & Huang, J. H. (2018). Neuroinflammation and blood-brain barrier disruption following traumatic brain injury: Pathophysiology and potential therapeutic targets. *Journal of Neuroscience Research*, 98(1), 19–28. <https://doi.org/10.1002/jnr.24331>

- Sun, J.-Z., Sun, Y.-C., & Sun, L. (2019). Synthesis of surface modified Fe₃O₄ superparamagnetic nanoparticles for ultra sound examination and magnetic resonance imaging for cancer treatment. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 197, 111547. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111547>
- Sun, Z., Yathindranath, V., Worden, M., Thliveris, J. A., Chu, S., Parkinson, F. E., Hegmann, T., & Miller, D. W. (2013). Characterization of cellular uptake and toxicity of aminosilane-coated iron oxide nanoparticles with different charges in central nervous system-relevant cell culture models. *International Journal of Nanomedicine*, 8, 961–970. <https://doi.org/10.2147/IJN.S39048>
- Szymański, P., Markowicz, M., Janik, A., Ciesielski, M., & Mikiciuk-Olasik, E. (2010). Neuroimaging diagnosis in neurodegenerative diseases - PubMed. *Nuclear Medicine Review. Central & Eastern Europe*, 13(1).
- Tong, H.-I., Kang, W., Shi, Y., Zhou, G., & Lu, Y. (2016). Physiological function and inflamed-brain migration of mouse monocyte-derived macrophages following cellular uptake of superparamagnetic iron oxide nanoparticles-Implication of macrophage-based drug delivery into the central nervous system - PubMed. *International Journal of Pharmaceutics*, 505(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.03.028>
- Toth, G. B., Varallyay, C. G., Horvath, A., Bashir, M. R., & Choyke, P. L. (2017). Current and potential imaging applications of ferumoxytol for magnetic resonance imaging. *Kidney International*, 92(1), 47–66. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.12.037>
- Thorek, D. L. J., Weisshaar, C. L., & Czupryna, J. C. (2011, May 1). Superparamagnetic Iron Oxide-Enhanced Magnetic Resonance Imaging of Neuroinflammation in a Rat Model of Radicular Pain. *SAGE Journals*. <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.2310/7290.2010.00042>

- Umashankar, A., Corenblum, M. J., Ray, S., Valdez, M., Yoshimaru, E. S., Trouard, T. P., & Madhavan, L. (2016). Effects of the iron oxide nanoparticle Molday ION Rhodamine B on the viability and regenerative function of neural stem cells: Relevance to clinical translation. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 1731–1748. <https://doi.org/10.2147/IJN.S102006>
- Unterweger, H., Janko, C., Schwarz, M., Dézsi, L., Urbanics, R., Matuszak, J., Órfi, E., Fülöp, T., Bäuerle, T., Szebeni, J., Journé, C., Boccaccini, A. R., Alexiou, C., Lyer, S., & Cicha, I. (2017). Non-immunogenic dextran-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles: A biocompatible, size-tunable contrast agent for magnetic resonance imaging. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 5223–5238. <https://doi.org/10.2147/IJN.S138108>
- Varatharaj, A., & Galea, I. (2017). The blood-brain barrier in systemic inflammation. *Brain, Behavior, and Immunity*, 60(March), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.03.010>
- Vasanawala, S. S., Nguyen, K.-L., Hope, M. D., Bridges, M. D., Hope, T. A., Reeder, S. B., & Bashir, M. R. (2016). Safety and technique of ferumoxytol administration for MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, 75(5), 2107–2111. doi:10.1002/mrm.26151
- Wahajuddin, & Arora, S. (2012). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Magnetic nanoplatforms as drug carriers. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 3445–3471. <https://doi.org/10.2147/IJN.S30320>
- Wang, Y X, Hussain, S. M., & Krestin, G. P. (2001). Superparamagnetic iron oxide contrast agents: Physicochemical characteristics and applications in MR imaging - PubMed. *European Radiology*, 11(11). <https://doi.org/10.1007/s003300100908>
- Wang, Yi Xiang . (2011). Superparamagnetic iron oxide based MRI contrast agents:

- Current status of clinical application. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 1(1), 35–40. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4292.2011.08.03>
- WHO, W. H. O. (2020, December 9). Las 10 principales causas de defunción. World Health Organization: WHO. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
 - Wohlfart, S., Gelperina, S., & Kreuter, J. (2012). Transport of drugs across the blood–brain barrier by nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 161(2), 264–273. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.08.017>
 - Wu, J., Ding, T., & Sun, J. (2013). Neurotoxic potential of iron oxide nanoparticles in the rat brain striatum and hippocampus - PubMed. *Neurotoxicology*, 34. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.09.006>
 - Yang, Y. M., Feng, X., Yin, L. K., Li, C. C., Jia, J., & Du, Z. G. (2014). Comparison of USPIO-enhanced MRI and Gd-DTPA enhancement during the subacute stage of focal cerebral ischemia in rats. *Acta Radiologica*, 55(7), 864–873. [doi:10.1177/0284185113506140](https://doi.org/10.1177/0284185113506140)
 - Ye, F., Laurent, S., Fornara, A., & Astolfi, L. (2012, March 13). Uniform mesoporous silica coated iron oxide nanoparticles as a highly efficient, nontoxic MRI T2 contrast agent with tunable proton relaxivities. *Wiley Online Library* . <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/cmami.1473>
 - Yildirim, L., Thanh, N. T. K., Loizidou, M., & Seifalian, A. M. (2011). Toxicology and clinical potential of nanoparticles. *Nano Today*, 6(6), 585–607. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2011.10.001>
 - Zare, S., Mehrabani, D., Jalli, R., Moghadam, M. S., Manafi, N., Mehrabani, G., Jamhiri, I., & Ahadian, S. (2019). MRI-Tracking of dental pulp stem cells in vitro and in vivo using dextran-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Journal of*

Clinical Medicine, 8(9). <https://doi.org/10.3390/jcm8091418>

- Zhou, Y., Peng, Z., Seven, E. S., & Leblanc, R. M. (2018). Crossing the blood-brain barrier with nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 270, 290–303. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.12.015>
- Zivadinov, R., Schweser, F., Dwyer, M. G., & Pol, S. (2020). Detection of monocyte/macrophage and microglia activation in the TMEV model of chronic demyelination using uspio-enhanced ultrahigh-field imaging. *Journal of Neuroimaging*, 30(6), 769–778. <https://doi.org/10.1111/jon.12768>

Documento realizado por: Alicia Romero
Modificado por: Diana Martínez Pachón
Actualizado por: Alejandra Baena
2021-II