

# Efecto inmunomodulador de nanopartículas usadas en nanomedicina

Diana Maryory Gómez-Gallego<sup>1</sup>, Silvio Urcuqui-Inchima<sup>2</sup>, Juan Carlos Hernández<sup>1</sup>

## RESUMEN

Las nanopartículas (NP) son estructuras con tamaño en la escala nanométrica ( $1 \times 10^{-9}$  m). Por sus características, en los últimos años ha crecido su potencial para usarlas en los campos biotecnológico y biomédico en una amplia gama de aplicaciones, tales como el diagnóstico, la terapia y la medicina regenerativa.

El sistema inmunológico es el responsable de la defensa del cuerpo ante organismos patógenos y otros agentes extraños, como las NP, que pueden ser reconocidas por dicho sistema, interactuar con él y modular su función induciendo efectos inmunosupresores o inmunoestimuladores. Las primeras se podrían utilizar como agentes terapéuticos antiinflamatorios o para tratar las enfermedades autoinmunes, y las que activan el sistema inmune, como adyuvantes en vacunación o potenciadores de la respuesta inmune en cáncer y otras enfermedades humanas. Sin embargo, su uso en nanomedicina debe estar sujeto a ensayos previos que determinen su efecto en la respuesta inmune antes de aplicarlas a los sistemas biológicos. Por esta razón es importante conocer su composición, tamaño y características superficiales, entre otras propiedades fisicoquímicas, directamente implicadas en los efectos sobre el sistema inmune. Se presenta una visión general de la relación entre las propiedades fisicoquímicas de las NP candidatas para ser usadas en los campos biomédico y biotecnológico y su actividad inmunomoduladora.

## PALABRAS CLAVE

*Inmunomodulación; Nanomedicina; Nanopartículas*

## SUMMARY

### Immunomodulating effect of nanoparticles used in nanomedicine

Nanoparticles (NP) are structures with a size on the nanometer scale ( $1 \times 10^{-9}$  m). Due to their characteristics, their potential use in the fields of biotechnology and biomedicine has grown in

---

<sup>1</sup> Infettare, Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Juan Carlos Hernández; juankhernandez@gmail.com

Recibido: enero 27 de 2016

Aceptado: marzo 02 de 2016

Cómo citar: Gómez-Gallego DM, Urcuqui-Inchima S, Hernández JC. Efecto inmunomodulador de nanopartículas usadas en nanomedicina. Iatreia. 2016 Oct-Dic;29(4):445-457. DOI 10.17533/udea.iatreia.v29n4a06.

recent years with a wide range of applications, such as diagnosis, therapy and regenerative medicine.

The immune system is responsible for defending the body against pathogenic organisms and other foreign agents, such as NP, which can be recognized by such system, interact with it and modulate its function inducing immunostimulatory or immunosuppressive effects. The latter could be used as anti-inflammatory therapeutic agents or to treat autoimmune diseases, and those that activate the immune system, as adjuvants in vaccination or enhancers of the immune response in cancer and other human diseases. However, their use in nanomedicine should be submitted to preliminary tests to determine their effects on the immune response before being applied to biological systems. For this reason it is important to know their composition, size and surface characteristics, as well as other physicochemical properties, directly involved in the effects on the immune system. We present an overview about the relationship between the physicochemical characteristics of NP candidates to be used in the biomedical and biotechnological fields and their immunomodulatory activity.

## KEY WORDS

*Immunomodulation; Nanomedicine; Nanoparticles*

## RESUMO

### Efeito imunomodulador de nanopartículas usadas na nanomedicina

As nanopartículas (NP) são estruturas com um tamanho na escala nanométrica ( $1 \times 10^{-9}$  m). Por suas características, nos últimos anos há crescido seu potencial para ser usadas no campo biotecnológico e biomédico em uma ampla gama de aplicações, tais como o diagnóstico, a terapia e a medicina regenerativa.

O sistema imunológico é o responsável da defesa do corpo ante organismos patógenos e outros agentes estranhos, como as NP, que podem ser reconhecidas pelo sistema imunológico, interatuar com ele e modular sua função induzindo um efeito imunossupressor ou imunostimulador. As NP com efeitos imunossupressores poderiam ser utilizadas como agentes terapêuticos anti-inflamatórios ou para tratar as doenças autoimunes e as NP que ativam o sistema

imune, como adjuvantes em vacinação ou potenciadores da resposta imune no câncer e outras patologias humanas. Porém, seu uso na nanomedicina deve estar sujeito a ensaios prévios que determinem seu efeito na resposta imune antes de ser aplicadas aos sistemas biológicos. Por esta razão é importante conhecer seu composição, tamanho e características da superfície, entre outras propriedades físico-químicas, diretamente implicadas nos efeitos sobre o sistema imune. Aqui recopilamos uma visão geral da relação entre as propriedades físico-químicas das NP candidatas para ser usadas no campo biomédico e biotecnológico e sua atividade imunomoduladora.

## PALAVRAS CHAVE

*Imunomodulação; Nanomedicina; Nanopartículas*

## INTRODUCCIÓN

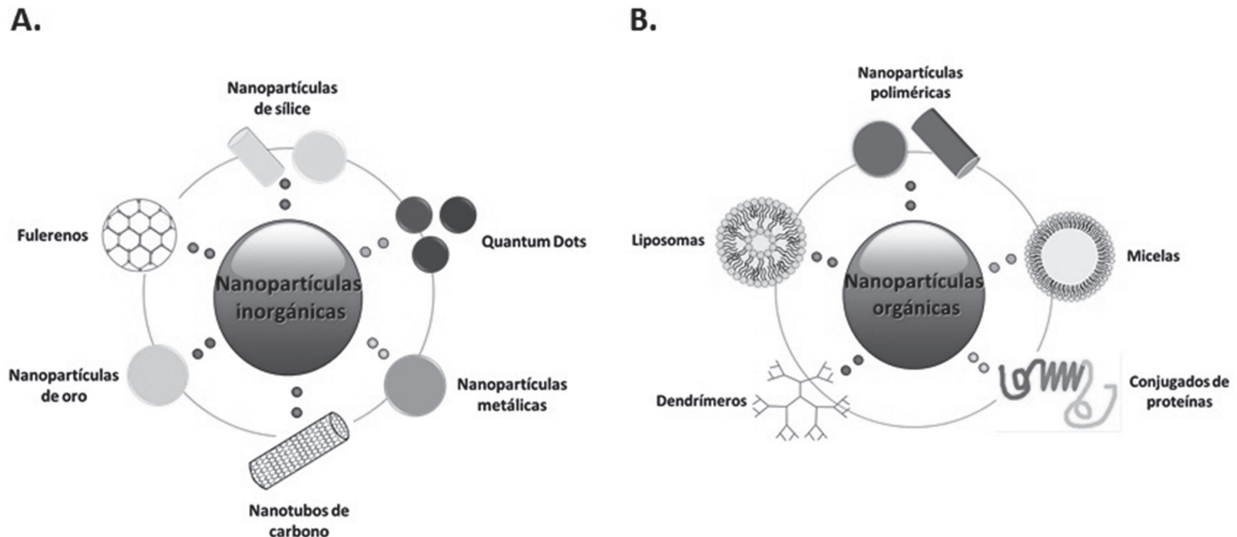
La nanotecnología es una disciplina extensa y heterogénea en la que se diseñan, fabrican, caracterizan y aplican estructuras en la escala nanométrica. Lo interesante es que las propiedades de las nanopartículas (NP) se pueden manipular, para modificar su tamaño o forma sin afectar su composición química (1-5).

Las NP tienen propiedades físicas y químicas únicas como su pequeño tamaño, gran área superficial, alta relación de aspecto, o sea, la proporción entre su ancho y su altura, lo que permite que tengan gran potencial para diferentes aplicaciones biomédicas (1,2). La nanomedicina es la aplicación de la nanotecnología para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, y para el monitoreo y control de sistemas biológicos, un área interdisciplinaria de la investigación en ciencias básicas, ingeniería y medicina (2,4,6,7).

Entre los desarrollos más importantes de la nanomedicina se encuentran sistemas de diagnóstico para la detección temprana de enfermedades (8-10), recubrimientos para mejorar la biocompatibilidad de implantes o prótesis, aditivos para mejorar la solubilidad y biodisponibilidad de fármacos (11,12), materiales para ingeniería tisular, medicina regenerativa y biomiméticos (13-15), sistemas de encapsulación, transporte y administración dirigida y controlada de fármacos y genes a tejidos o células específicas (6,9,11-13,15,16), adyuvantes para vacunas (11) y terapias antitumorales (7,17), entre otras.

Hasta la fecha se han diseñado y estudiado diversos tipos de NP, tanto orgánicas como inorgánicas, para uso en nanomedicina: NP poliméricas, cerámicas, metálicas, lipídicas, a base de carbono, nanocápsulas, dendrímeros, liposomas, micelas, *Quantum Dots*, políplexos, entre otros (2,12,18) (figura 1). Estas NP asumen nuevas propiedades y funciones que

difieren marcadamente de un objeto del mismo material en una escala mayor, y son precisamente esas propiedades las que les dan la posibilidad de atravesar las barreras biológicas y llegar hasta diferentes células y tejidos, permitiéndoles interactuar con los sistemas celulares e incluso imitar los procesos biológicos (3,18).



**Figura 1. Nanopartículas usadas en nanomedicina.** Las NP se clasifican según su composición química en los siguientes dos grupos: A. Nanopartículas inorgánicas como las de silice, los *Quantum Dots*, las metálicas, los nanotubos de carbono, las de oro y los fulerenos. B. Nanopartículas orgánicas como los liposomas, las micelas, los dendrímeros, los conjugados de proteínas y las poliméricas

Es así como el uso de diferentes NP para el desarrollo de nuevas aplicaciones biomédicas va cada día en aumento. Sin embargo, los efectos perjudiciales en la salud humana y en especial los relacionados con la respuesta inmune resaltan la necesidad de estudios de seguridad e inmunomodulación previos a su implementación comercial. En esta revisión se discute la actividad inmunomoduladora de diferentes NP utilizadas en nanomedicina, según sus propiedades fisicoquímicas y los mecanismos subyacentes.

## ACTIVIDAD INMUNOMODULADORA DE DIFERENTES NANOPARTÍCULAS

La diversidad química y estructural de las NP, sumada a la capacidad de llegar a diferentes células y tejidos,

es ventajosa para su uso; sin embargo, esas mismas características y propiedades hacen que, cuando una NP se introduce en el organismo, el sistema inmunitario la reconozca como un agente extraño y se produzca una respuesta inmune (19,20). Además, factores como la dosis y la vía de administración, el mecanismo de acción y el sitio de la actividad -que son propiedades extrínsecas al material- también son críticos en el establecimiento de la respuesta inmune (12,21). Por esta razón, se han reportado múltiples efectos inmunomoduladores mediados por las NP en diferentes componentes de la respuesta inmune (12).

Como parte de la inmunostimulación, las NP han mostrado propiedades adyuvantes (potenciadoras de la respuesta inmune), incluso en el contexto del cáncer, favoreciendo la eliminación de tumores secundarios

refractarios al tratamiento (12). Además, se han descrito múltiples modificaciones a las NP que les confieren efectos específicos sobre la respuesta inmune, pero que no serán consideradas en esta revisión, pues dichos efectos se asocian directamente con estas modificaciones. Por otra parte, la inmunosupresión se describe como la regulación negativa o la prevención de la activación del sistema inmune. Aunque la inmunosupresión

tiene sus inconvenientes, tales como el aumento de la susceptibilidad a las infecciones causadas por microorganismos (12) y el desarrollo de neoplasias (22), también puede ser deseable para el tratamiento de enfermedades autoinmunes y para la compatibilidad de tejidos en pacientes que reciben trasplantes. A continuación se discuten los efectos inmunomoduladores reportados para las diferentes NP (tabla 1).

**Tabla 1. Inmunomodulación *in vivo* de diferentes nanopartículas usadas en nanomedicina**

NANOMATERIAL	EFFECTOS EN EL SISTEMA INMUNE	REFERENCIA
<b>Fulerenos</b>		
C60	Aumento de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$ e IgE	23
NP derivadas de fulerenos	Aumento de la respuesta de linfocitos Th1	24
C60 hidroxilados	Disminución de la respuesta proliferativa de linfocitos T y B, histamina, ROS, enzimas cinasas (Lyn y Syk), TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ y elastasa 2. Aumento de IL-11 y mieloperoxidasa	26-29
<b>Nanotubos de carbono</b>		
Nanotubos de carbono	Aumento de IL-4, IL-5, IL-13, IL-33, IFN- $\gamma$ , IL-17A, IL-23, TGF- $\beta$ , PDGF-AA, CCL3, CCL11, eotaxina, IgG1; afluencia de macrófagos, eosinófilos y neutrófilos; producción de colágeno, moco y MMP13	33,34,36-38
	Disminución de la respuesta de linfocitos T. Aumento de IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP1 y NAD(P)H1 oxidorreductasa	39-42
<b>NP de sílice</b>		
NP amorfas de sílice	Aumento de los niveles de IgE, IgG, sCD40 y citocinas Th2	51-53
NP de sílice no porosas	Aumento de ROS, TNF- $\alpha$ y NO	54
<b>NP de oro</b>		
NP de oro	Inmunogenicidad	61
<b>Dendrímeros</b>		
<i>Pan HLA DR-binding epitope</i> (PADRE)-derivatized-dendrimer (PDD)	Aumento de la inmunidad adaptativa	75
Dendrímeros de poliamidoamina	Disminución de citocinas inducidas por LPS	76
Dendrímeros de poliamidoamina conjugados con heteroglucano	Aumento de la producción de óxido nítrico y generación de ROS. Aumento de los marcadores celulares CD4, CD8, CD19, CMH-II	78

ROS: especies reactivas del oxígeno, por la sigla en inglés de *reactive oxygen species*; PDGF-AA: factor de crecimiento derivado de plaquetas, compuesto de dos cadenas A (-AA), por la sigla en inglés de *platelet derived growth factor*; CCL: ligando de quimiocina; MMP: metaloproteinasas de matriz, por la sigla en inglés de *matrix metalloproteinases*; MCP: proteína quimioatrayente de monocitos, por la sigla en inglés de *monocyte chemotactic protein*; sCD40: CD40 soluble; LPS: lipopolisacárido

## Fulerenos de carbono (C60)

Representan la tercera forma molecular más estable del carbono, tras el grafito y el diamante. Los más conocidos son los formados por 60 átomos de carbono (C60). Recientemente ha aumentado su uso en la industria y la biomedicina, debido a sus propiedades fisicoquímicas, por lo que su toxicidad ambiental y en la salud humana ha motivado la investigación (23,24).

Con respecto a sus propiedades inmunomoduladoras, Park y colaboradores (23) demostraron en un modelo murino que C60 induce un aumento en la producción de citocinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-12 y de citocinas del perfil Th1, como IFN- $\gamma$ . Estos hallazgos se correlacionaron con la presencia de infiltrado linfocítico en el pulmón. Además, pueden favorecer la maduración de las células dendríticas (DC, por su sigla en inglés) mediante la producción de citocinas, incluyendo IL-12p70, así como el aumento en la expresión de CD80, CD83, CD86 y CMH-II (23). Otros autores han informado un aumento en la supervivencia de los neutrófilos, que se relacionó con una mayor capacidad bactericida luego de la estimulación con C60. Dicho efecto confiere resistencia a *Streptococcus pyogenes* en ratones infectados (25), lo que sugiere su potencial inmunoestimulante.

Sin embargo, otros autores han informado un efecto inmunosupresor de C60. Por ejemplo, se encontró que el tratamiento con él disminuye la hipersensibilidad tipo I, al prevenir la degranulación de mastocitos y basófilos dependiente de IgE (26). En modelos murinos de artritis, se ha informado que C60 suprime la producción de citocinas proinflamatorias, reduciendo la sinovitis y mejorando la sintomatología de la enfermedad (27). La inmunosupresión mediada por C60 no siempre resulta beneficiosa para el individuo. Un estudio publicado en 2009 (28) demostró que su administración intraperitoneal en ratones con melanoma aumenta significativamente el crecimiento del tumor, mediado por la producción de óxido nítrico, así como por una reducción en la respuesta proliferativa de linfocitos T y B. También se ha informado que C60 puede afectar la función de los neutrófilos, disminuyendo la explosión oxidativa, la liberación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET, por la sigla en inglés de *neutrophil extracellular traps*), la expresión de elastasa-2 y la degranulación (29).

## Nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono (CNT, por la sigla en inglés de *carbon nano tubes*) son estructuras tubulares en monocapa (*single-walled nanotubes*) que tienen una sola pared cilíndrica, o en multicapa (*multi-walled nanotubes*) que pueden formarse a partir de un conjunto coaxial de CNT en monocapa, o como una sola hoja de grafito dispuesta en forma de rollo. Los CNT tienen propiedades mecánicas, eléctricas, ópticas y térmicas únicas y un enorme potencial para aplicaciones industriales y biomédicas. Sin embargo, su uso es todavía limitado debido a su baja solubilidad, su poca dispersión, su toxicidad y sus efectos secundarios en el sistema inmunológico (30,31), por lo que aún se requieren más estudios para una mejor comprensión de los mecanismos que causan dichos efectos. Diferentes estudios han demostrado que los CNT inducen inmunoestimulación *in vitro* e *in vivo*. Por ejemplo, se ha demostrado que la instilación de CNT multicapa causa alteración de la función pulmonar en ratones debido al desarrollo de inflamación asociada a Th2 dependiente de IL-33, aumento de la hiperreactividad de las vías respiratorias, reclutamiento de eosinófilos y células linfoides innatas y producción de citocinas y quimiocinas (32). Además, en ratones provocan un aumento significativo en la expresión del ARNm de citocinas incluyendo IL-4, que se asocia con un aumento en la diferenciación celular esplénica de LT CD4+ y CD8+ (33). También se ha asociado con inflamación pulmonar por infiltración de células, depósito de colágeno, formación de granulomas y una huella inflamatoria marcada por citocinas (IL-33), quimiocinas (CCL3 y CCL11) y producción de la metaloproteinasa de matriz extracelular-13 (MMP13) (34). En un estudio reciente (35) se presentaron pruebas de la generación de ROS por el sistema NADPH oxidasa en macrófagos expuestos a CNT multicapa, lo que se relacionó con daño lisosomal y producción de IL-1 $\beta$ . Igualmente, se ha informado que los CNT aumentan la inflamación de las vías respiratorias inducida por alérgenos, caracterizada por un aumento en los niveles de IgG1, afluencia de macrófagos, eosinófilos y neutrófilos, producción de colágeno, TGF- $\beta$ 1, IL-13, eotaxina y quimiocina regulada y activada del timo (TARC, por la sigla en inglés de *Thymus and activation-regulated chemokine*) de manera dosis dependiente (36,37). Estos efectos se asocian con

un aumento de linfopoyetina estromal tímica, IL-25, IL-33 y factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos en las vías respiratorias. Otro estudio (30) demostró que los CNT multicapa aumentan la secreción basal de citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-5, IL-6, IL-12/23p40 e IFN- $\gamma$ ) en células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de donantes sanos estimuladas con agonistas de los TLR (por la sigla en inglés de *toll-like receptors*) o mitógenos. Sin embargo, inhibieron la respuesta inmune en CMSP de individuos alérgicos. Este trabajo demostró también que los CNT multicapa alteran la capacidad de los monocitos de diferenciarse a DC funcionales. Se ha informado también que tanto los CNT monocapa como los multicapa pueden promover respuestas alérgicas (38,39). En ratones sensibilizados con ovoalbúmina (OVA), los CNT aumentan la fibrosis de las vías respiratorias con elevación de los niveles de ARNm de IL-5 en ratones con asma alérgica, pero no tienen efecto en ratones sanos (39).

Por el contrario, otros estudios sugieren que los CNT multicapa pueden inducir inmunosupresión en ratones, caracterizada por respuesta reducida y disfunción de linfocitos T, además de un incremento en los niveles de IL-10 y prostaglandinas (33,40,41). Asimismo, la preincubación de linfocitos T vírgenes con DC tratadas con CNT monocapa reduce la proliferación de los linfocitos T (42).

## Nanopartículas de sílice

Las NP de sílice son biodegradables y en general presentan una buena biodistribución; estas características se pueden atribuir a su gran área superficial, distribución de tamaño, cristalinidad, propiedades de superficie, solubilidad y alta estabilidad química y térmica. Son fácilmente sintetizables y se pueden fabricar de distintas formas y tamaños (43,44). Aunque la sílice es generalmente considerada como un material no citotóxico, es bien conocido que como nanomaterial tiene cambios en sus propiedades fisicoquímicas, lo que puede llevar a efectos dañinos sobre las funciones celulares *in vivo* e *in vitro* (45), incluidas las del sistema inmune.

Con respecto a sus propiedades inmunoestimuladoras, se han reportado los efectos inflamatorios de nanopartículas de sílice amorfa de 30 nm en CMSP y monocitos purificados, relacionados con un aumento

en la producción de IL-1 $\beta$ , IL-8 y ROS, así como con la activación del inflamasoma NLRP3 (46). Otros estudios indican que las NP de sílice pueden favorecer respuestas inmunes alérgicas de tipo Th2 en ratones expuestos a OVA, induciendo mayores niveles de inmunoglobulinas IgE, IgG e IgG1 (47). Estas NP también inducen la producción de TNF- $\alpha$  dependiente de la producción de ROS y de la activación de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK, por la sigla en inglés de *mitogen-activated protein kinases*) en macrófagos, activando una respuesta inflamatoria (48,49). Chen y colaboradores (50) mostraron que células de Kupffer estimuladas con NP de sílice liberan grandes cantidades de ROS, TNF- $\alpha$  y óxido nítrico causando inflamación. Varios autores han referido la capacidad de las NP de sílice para activar el inflamasoma NLRP3 (46). Lee y colaboradores (43) informaron que las NP de sílice coloidales inducen mayor expresión de las citocinas proinflamatorias TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 en macrófagos, que las NP mesoporosas, y que estas a su vez presentan mayor actividad proinflamatoria que las NP cristalinas (51). Hirai y colaboradores (52) mostraron que las NP amorfas de sílice con diámetro de 70 y 100 nm aumentan el paso de antígenos desde el endosoma al citoplasma induciendo la presentación cruzada en DC murinas.

Diferentes estudios han evidenciado el efecto inmunomodulador de las NP de sílice, con especial atención a la participación del estrés oxidativo como mecanismo de toxicidad. Uno de ellos demuestra que las NP porosas inducen mayor estrés oxidativo y de enzimas, tales como la superóxido-dismutasa y el grupo hemo-oxigenasa-1, que las nanopartículas no porosas en células del epitelio bronquial humano (53). Passagne y colaboradores (54) encontraron que las NP de sílice inducen estrés oxidativo, dependiente del tiempo y de su tamaño. Igualmente, se ha demostrado que las NP de sílice no cristalina, de tamaño nano y submicrónico, pueden inducir una alta producción de IL-1 $\beta$  por mecanismos que implican la activación del inflamasoma NLRP3, en macrófagos murinos preactivados con LPS (55) y en macrófagos humanos (48,56,57). Por otro lado, Peeters y colaboradores (58) demostraron que las NP de sílice cristalina inducen la activación del inflamasoma NLRP3 en células humanas derivadas del epitelio bronquial. Dicha estimulación induce la liberación de las alarminas HMGB1 (por la sigla en inglés de *high mobility group box 1*) y

bFGF, importantes para la potenciación de la respuesta inflamatoria sistémica.

## Nanopartículas de oro (AuNP)

Son NP metálicas que presentan propiedades ópticas y electrónicas totalmente dependientes de su forma y tamaño. Las AuNP han surgido como un candidato atractivo para la administración dirigida de diversos agentes terapéuticos debido a su baja citotoxicidad, parámetros optimizables de la superficie, estabilidad y biocompatibilidad en condiciones *in vivo* (59,60).

Parween y colaboradores (61) demostraron que AuNP formuladas con alumbre activan la inmunidad humoral contra *Plasmodium falciparum*, y muestran escasa inmunogenicidad en los ratones expuestos, por lo que se sugirió que podrían ser útiles en el desarrollo de un adyuvante contra dicho parásito. Estudios recientes hallaron que tanto los macrófagos como los neutrófilos humanos internalizan las AuNP lo que aumenta la producción intracelular de ROS (62,63). También se ha demostrado que las AuNP pueden iniciar una respuesta inflamatoria mediante la activación de macrófagos tanto *in vitro* como *in vivo* (64). Uno de esos estudios halló que AuNP de 40 nm aumentan no solo la hiperreactividad de las vías respiratorias, sino también el número de neutrófilos y macrófagos en ratones sensibilizados (65). Asimismo, AuNP de 13 nm recubiertas con polietilenglicol (PEG) pueden inducir una respuesta inflamatoria aguda y apoptosis en el hígado, con presencia de numerosas vesículas citoplasmáticas y lisosomas en células de Kupffer y macrófagos del bazo. Sin embargo, otros estudios han demostrado que las AuNP tienen propiedades antiinflamatorias, inhibiendo la respuesta celular inducida por citocinas proinflamatorias *in vivo* e *in vitro* (14,66).

## Quantums-dots

Los *Quantums Dots* (QD) son una categoría particular de NP de aproximadamente 1-20 nm de diámetro, que se caracterizan por su estructura cristalina compuesta de un material semiconductor. Su fotoestabilidad los hace ideales para la formación de imágenes. Entre los más utilizados están los QD de sulfuro de cadmio y seleniuro de cadmio (67,68). Como los QD son fuertes donadores de energía, se ha demostrado

que pueden inducir la generación de ROS mediante la transferencia de energía a moléculas de oxígeno cercanas, ocasionando daños en diferentes organelas y muerte celular (69).

Nguyen y colaboradores (70) informaron que la pre-exposición a QD suprime la respuesta inmune de macrófagos a *Pseudomonas aeruginosa*, debido a la reducción de los niveles de óxido nítrico, TNF- $\alpha$ , KC/CXCL-1 e IL-8. También se ha informado que la inyección de QD estimula en ratones la proliferación de células inmunes como linfocitos T y macrófagos, induciendo la producción de citocinas y quimiocinas proinflamatorias (71).

## Dendrímeros

Los dendrímeros son polímeros sintéticos globulares de distribución y tamaño monodisperso. Sus propiedades fisicoquímicas los hacen similares a las biomoléculas; son altamente biocompatibles, tienen una biodistribución predecible y características que les permiten interactuar con la membrana según su tamaño y carga superficial. Tienen múltiples grupos funcionales en la superficie que se pueden utilizar para acoplar diferentes moléculas biológicamente relevantes. Se destaca su uso como andamios para la presentación de antígenos, especialmente péptidos, que los hace buenos candidatos como adyuvantes en la formulación de vacunas (72,73). Córdoba y colaboradores (74) demostraron el potencial de glicodendrímeros para estimular DC y activar el sistema inmune. Se ha informado también que dendrímeros *derivatizados* (o sea, modificados químicamente para producir un compuesto con nuevas propiedades) con PADRE (por la sigla en inglés de *pan HLA DR-binding epitope*) tienen la capacidad de aumentar la eficacia de la anfotericina B liposomal y su orientación hacia las células presentadoras de antígeno, activando la respuesta inmune adaptativa como consecuencia de la activación de linfocitos T, con lo que se logra reducir la carga parasitaria en leishmaniasis cutánea murina (75).

Sin embargo, otros autores han demostrado que los dendrímeros tienen propiedades inmunosupresoras. Dendrímeros de poliamidoamina (PAMAM) conjugados con eritromicina demostraron tener actividad antibacteriana y además un gran efecto antiinflamatorio,

evidenciado en la supresión de la producción de óxido nítrico en macrófagos murinos activados con LPS (76). De manera similar, estos dendrímeros *derivatizados* con grupos alquilo protegen contra la sepsis fatal y la secreción *in vivo* e *in vitro* de citocinas inducidas por LPS (77). Además, los dendrímeros pueden afectar la estructura y actividad de moléculas inmunes; por ejemplo, los dendrímeros de PAMAM pueden afectar la estructura secundaria y la conformación de la molécula de  $\gamma$ -globulina, inhibir la activación del complemento y deteriorar la reacción antígeno-anticuerpo de los glóbulos rojos humanos (78). Igualmente, se ha informado que en modelos murinos los dendrímeros heteroglucanos glicoconjugados pueden inducir mejoras en las funciones inmunológicas tales como la producción de óxido nítrico y la generación de ROS (79). También inducen una alta regulación de los marcadores de superficie de células inmunes (CD4, CD8, CD19, MHC-II) y de los niveles de citocinas.

## Nanopartículas poliméricas

Son partículas coloidales de tamaño submicrónico usadas en diferentes aplicaciones biomédicas debido a sus propiedades como alta biodegradabilidad y biocompatibilidad, circulación prolongada y a que pueden *funcionalizarse* (o sea, modificarles la estructura mediante la introducción de átomos o grupos funcionales en la superficie) con un amplio espectro de agentes terapéuticos (80).

Se han informado algunas NP poliméricas como activadoras del sistema inmune al favorecer la activación de DC y linfocitos T. Por ejemplo, las NP anfífilas de polianhídrido poseen propiedades que mimetizan componentes de los patógenos, como se evidenció en su capacidad para activar DC de manera similar al LPS (81). Las NP de polianhídrido metil vinil éter comaleico (PVMA NP) utilizadas como adyuvante activan diferencialmente las DC a través de receptores TLR2 y TLR4, de manera dosis dependiente (82-84). NP basadas en quitosano prometen ser una buena opción como adyuvantes y como sistemas para la entrega de antígenos. Por ejemplo, la vacunación intranasal con NP de quitosano cargadas con toxoide tetánico induce respuesta inmune sistémica y en las mucosas (85).

## CONCLUSIÓN

El notable progreso de la nanotecnología y su aplicación en biomedicina ha ampliado los rangos y tipos de NP usadas. Esta revisión presenta una visión general de resultados recientes sobre los efectos inmunomoduladores de varias de estas NP. Tales resultados muestran que actualmente se están utilizando las NP en aplicaciones cada vez más diversas y complejas, pero aún existen muchas preguntas acerca de su papel inmunomodulador, que no se han abordado por completo.

Para las aplicaciones en nanomedicina, el efecto inmunomodulador de las NP es un arma de doble filo: se puede obtener beneficio de sus propiedades para estimular o suprimir el sistema inmune y usarlas, por ejemplo, como adyuvantes o como antiinflamatorios respectivamente, pero, al mismo tiempo, es necesario evitar las respuestas inmunes indeseables (inflamación, hiperreactividad, inmunosupresión) con el fin de minimizar los efectos secundarios sistémicos. Los factores que influyen en los diferentes mecanismos de la respuesta inmune son múltiples y complejos, entre ellos: la composición química de las partículas, el tamaño, la forma, la composición y la carga de la superficie, la vía de exposición y la dosis. Igualmente, las variaciones e incluso contradicciones de los efectos inmunomoduladores de las NP reportadas a la fecha, pueden estar asociadas con las condiciones particulares de cada preparación y con los modelos celulares o animales utilizados. Por esto, para su aplicación potencial en medicina y otras áreas, es crucial investigar la relación entre las características fisicoquímicas de las NP y la respuesta inmune sistémica en diferentes modelos biológicos, pues los enfoques actuales de predicción y prevención de la inmunomodulación de las NP siguen siendo muy precarios, por lo que se deben fomentar estudios mucho más profundos.

## AGRADECIMIENTOS

Al doctor Felipe García Quiroz por la lectura crítica del manuscrito y sus aportes para mejorarlo.

## CONFLICTOS DE INTERESES

Ninguno que declarar.



## FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado por el Comité Nacional para el Desarrollo de la Investigación (CONADI) de la Universidad Cooperativa de Colombia, y la Universidad de Antioquia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sainz V, Coniot J, Matos AI, Peres C, Zupan I E, Moura L, et al. Regulatory aspects on nanomedicines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015 Dec;468(3):504-10. DOI 10.1016/j.bbrc.2015.08.023.
2. Chang EH, Harford JB, Eaton MA, Boisseau PM, Dube A, Hayeshi R, et al. Nanomedicine: Past, present and future - A global perspective. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015 Dec;468(3):511-7. DOI 10.1016/j.bbrc.2015.10.136.
3. Kumar S, Anselmo AC, Banerjee A, Zakrewsky M, Mitragotri S. Shape and size-dependent immune response to antigen-carrying nanoparticles. *J Control Release*. 2015 Dec;220(Pt A):141-8. DOI 10.1016/j.jconrel.2015.09.069.
4. Boisseau P, Loubaton B. Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *C R Phys*. 2011 Sept;12(7):620-36. DOI 10.1016/j.crhy.2011.06.001.
5. Silva GA. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surg Neurol*. 2004 Mar;61(3):216-20.
6. Santos T, Boto C, Saraiva CM, Bernardino L, Ferreira L. Nanomedicine Approaches to Modulate Neural Stem Cells in Brain Repair. *Trends Biotechnol*. 2016 Feb. pii: S0167-7799(16)00036-6. DOI 10.1016/j.tibtech.2016.02.003.
7. Misra R, Acharya S, Sahoo SK. Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. *Drug Discov Today*. 2010 Oct;15(19-20):842-50. DOI 10.1016/j.drudis.2010.08.006.
8. Gao X, Chen J, Chen J, Wu B, Chen H, Jiang X. Quantum dots bearing lectin-functionalized nanoparticles as a platform for in vivo brain imaging. *Bioconjug Chem*. 2008 Nov;19(11):2189-95. DOI 10.1021/bc8002698.
9. Bhakta G, Sharma RK, Gupta N, Cool S, Nurcombe V, Maitra A. Multifunctional silica nanoparticles with potentials of imaging and gene delivery. *Nanomedicine*. 2011 Aug;7(4):472-9. DOI 10.1016/j.nano.2010.12.008.
10. Rosenholm JM, Sahlgren C, Lindén M. Multifunctional mesoporous silica nanoparticles for combined therapeutic, diagnostic and targeted action in cancer treatment. *Curr Drug Targets*. 2011 Jul;12(8):1166-86. DOI 10.2174/138945011795906624.
11. Moddarese M, Brown MB, Zhao Y, Tamburic S, Jones SA. The role of vehicle-nanoparticle interactions in topical drug delivery. *Int J Pharm*. 2010 Nov;400(1-2):176-82. DOI 10.1016/j.ijpharm.2010.08.012.
12. Naahidi S, Jafari M, Edalat F, Raymond K, Khademhosseini A, Chen P. Biocompatibility of engineered nanoparticles for drug delivery. *J Control Release*. 2013 Mar;166(2):182-94. DOI 10.1016/j.jconrel.2012.12.013.
13. Goldberg M, Langer R, Jia X. Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2007;18(3):241-68.
14. Chen H, Zeng Y, Liu W, Zhao S, Wu J, Du Y. Multifaceted applications of nanomaterials in cell engineering and therapy. *Biotechnol Adv*. 2013 Sep-Oct;31(5):638-53. DOI 10.1016/j.biotechadv.2012.08.002.
15. Singh RK, Kim H. Inorganic nanobiomaterial drug carriers for medicine. *J Tissue Eng Regen Med*. 2013 Dec;10(6):296-309. DOI 10.1007/s13770-013-1092-y.
16. Tosi G, Costantino L, Ruozi B, Forni F, Vandelli MA. Polymeric nanoparticles for the drug delivery to the central nervous system. *Expert Opin Drug Deliv*. 2008 Feb;5(2):155-74. DOI 10.1517/17425247.5.2.155.
17. Wang M, Thanou M. Targeting nanoparticles to cancer. *Pharmacol Res*. 2010 Aug;62(2):90-9. DOI 10.1016/j.phrs.2010.03.005.
18. Singh R, Lillard JW Jr. Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Exp Mol Pathol*. 2009 Jun;86(3):215-23. DOI 10.1016/j.yexmp.2008.12.004.
19. Dobrovolskaia MA. Pre-clinical immunotoxicity studies of nanotechnology-formulated drugs: Challenges, considerations and strategy. *J Control Release*. 2015 Dec;220(Pt B):571-83. DOI 10.1016/j.jconrel.2015.08.056.
20. Dobrovolskaia MA, Shurin M, Shvedova AA. Current understanding of interactions between nanoparticles and the immune system. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2015 Dec. pii: S0041-008X(15)30168-X. DOI 10.1016/j.taap.2015.12.022. Forthcoming.
21. Říhová B. Biocompatibility and immunocompatibility of water-soluble polymers based on HPMA. *Compos*

- Part B-Eng. 2007 Apr;38(3):386-97. DOI 10.1016/j.compositesb.2006.07.007.
22. Vial T, Descotes J. Immunosuppressive drugs and cancer. *Toxicology*. 2003 Apr;185(3):229-40. DOI 10.1016/S0300-483X(02)00612-1.
  23. Park EJ, Kim H, Kim Y, Yi J, Choi K, Park K. Carbon fullerenes (C60s) can induce inflammatory responses in the lung of mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010 Apr;244(2):226-33. DOI 10.1016/j.taap.2009.12.036.
  24. Yang D, Zhao Y, Guo H, Li Y, Tewary P, Xing G, et al. [Gd@C(82)(OH)(22)](n) nanoparticles induce dendritic cell maturation and activate Th1 immune responses. *ACS Nano*. 2010 Feb;4(2):1178-86. DOI 10.1021/nn901478z.
  25. Tsao N, Luh TY, Chou CK, Wu JJ, Lin YS, Lei HY. Inhibition of group A streptococcus infection by carboxyfullerene. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Jun;45(6):1788-93. DOI 10.1128/AAC.45.6.1788-1793.2001.
  26. Ryan JJ, Bateman HR, Stover A, Gomez G, Norton SK, Zhao W, et al. Fullerene nanomaterials inhibit the allergic response. *J Immunol*. 2007 Jul;179(1):665-72. DOI 10.4049/jimmunol.179.1.665.
  27. Yūdoh K, Karasawa R, Masuko K, Kato T. Water-soluble fullerene (C60) inhibits the development of arthritis in the rat model of arthritis. *Int J Nanomedicine*. 2009;4:217-25.
  28. Zogovic NS, Nikolic NS, Vranjes-Djuric SD, Harhaji LM, Vucicevic LM, Janjetovic KD, et al. Opposite effects of nanocrystalline fullerene (C60) on tumour cell growth in vitro and in vivo and a possible role of immunosuppression in the cancer-promoting activity of C60. *Biomaterials*. 2009 Dec;30(36):6940-46. DOI 10.1016/j.biomaterials.2009.09.007.
  29. Jovanović B, Anastasova L, Rowe EW, Palić D. Hydroxylated fullerenes inhibit neutrophil function in fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). *Aquat Toxicol*. 2011 Jan;101(2):474-82. DOI 10.1016/j.aquatox.2010.11.002.
  30. Laverny G, Casset A, Purohit A, Schaeffer E, Spiegelhalter C, de Blay F, et al. Immunomodulatory properties of multi-walled carbon nanotubes in peripheral blood mononuclear cells from healthy subjects and allergic patients. *Toxicol Lett*. 2013 Feb;217(2):91-101. DOI 10.1016/j.toxlet.2012.12.008.
  31. Čolić M, Džopalić T, Tomić S, Rajković J, Rudolf R, Vuković G, et al. Immunomodulatory effects of carbon nanotubes functionalized with a Toll-like receptor 7 agonist on human dendritic cells. *Carbon*. 2014 Feb;67:273-87. DOI 10.1016/j.carbon.2013.09.090.
  32. Beamer CA, Girtsman TA, Seaver BP, Finsaas KJ, Migliaccio CT, Perry VK, et al. IL-33 mediates multi-walled carbon nanotube (MWCNT)-induced airway hyper-reactivity via the mobilization of innate helper cells in the lung. *Nanotoxicology*. 2013 Sep;7(6):1070-81. DOI 10.3109/17435390.2012.702230.
  33. Wang X, Podila R, Shannahan JH, Rao AM, Brown JM. Intravenously delivered graphene nanosheets and multiwalled carbon nanotubes induce site-specific Th2 inflammatory responses via the IL-33/ST2 axis. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:1733-48. DOI 10.2147/IJN.S44211.
  34. Wang X, Katwa P, Podila R, Chen P, Ke PC, Rao AM, et al. Multi-walled carbon nanotube instillation impairs pulmonary function in C57BL/6 mice. *Part Fibre Toxicol*. 2011 Aug;8:24. DOI 10.1186/1743-8977-8-24.
  35. Sun B, Wang X, Ji Z, Wang M, Liao YP, Chang CH, et al. NADPH Oxidase-Dependent NLRP3 Inflammasome Activation and its Important Role in Lung Fibrosis by Multiwalled Carbon Nanotubes. *Small*. 2015 May;11(17):2087-97. DOI 10.1002/sml.201402859.
  36. Ronzani C, Casset A, Pons F. Exposure to multi-walled carbon nanotubes results in aggravation of airway inflammation and remodeling and in increased production of epithelium-derived innate cytokines in a mouse model of asthma. *Arch Toxicol*. 2014 Feb;88(2):489-99. DOI 10.1007/s00204-013-1116-3.
  37. Inoue K, Koike E, Yanagisawa R, Hirano S, Nishikawa M, Takano H. Effects of multi-walled carbon nanotubes on a murine allergic airway inflammation model. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009 Jun;237(3):306-16. DOI 10.1016/j.taap.2009.04.003.
  38. Ryman-Rasmussen JP, Tewksbury EW, Moss OR, Cesta MF, Wong BA, Bonner JC. Inhaled multiwalled carbon nanotubes potentiate airway fibrosis in murine allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2009 Mar;40(3):349-58. DOI 10.1165/rcmb.2008-0276OC.
  39. Nygaard UC, Hansen JS, Samuelson M, Alberg T, Marioara CD, Løvik M. Single-walled and multi-walled carbon nanotubes promote allergic immune responses in mice. *Toxicol Sci*. 2009 May;109(1):113-23. DOI 10.1093/toxsci/kfp057.

40. Mitchell LA, Gao J, Wal RV, Gigliotti A, Burchiel SW, McDonald JD. Pulmonary and systemic immune response to inhaled multiwalled carbon nanotubes. *Toxicol Sci.* 2007 Nov;100(1):203-14. DOI 10.1093/toxsci/kfm196.
41. Mitchell LA, Lauer FT, Burchiel SW, McDonald JD. Mechanisms for how inhaled multiwalled carbon nanotubes suppress systemic immune function in mice. *Nat Nanotechnol.* 2009 Jul;4(7):451-6. DOI 10.1038/nnano.2009.151.
42. Tkach AV, Shurin GV, Shurin MR, Kisin ER, Murray AR, Young SH, et al. Direct effects of carbon nanotubes on dendritic cells induce immune suppression upon pulmonary exposure. *ACS Nano.* 2011 Jul;5(7):5755-62. DOI 10.1021/nn2014479.
43. Lee S, Kim MS, Lee D, Kwon TK, Khang D, Yun HS, et al. The comparative immunotoxicity of mesoporous silica nanoparticles and colloidal silica nanoparticles in mice. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:147-58. DOI 10.2147/IJN.S39534.
44. Slowing II, Vivero-Escoto JL, Wu CW, Lin VS. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008 Aug;60(11):1278-88. DOI 10.1016/j.addr.2008.03.012.
45. Huang X, Teng X, Chen D, Tang F, He J. The effect of the shape of mesoporous silica nanoparticles on cellular uptake and cell function. *Biomaterials.* 2010 Jan;31(3):438-48. DOI 10.1016/j.biomaterials.2009.09.060.
46. Yang EJ, Choi IH. Immunostimulatory effects of silica nanoparticles in human monocytes. *Immune Netw.* 2013 Jun;13(3):94-101. DOI 10.4110/in.2013.13.3.94.
47. Yoshida T, Yoshioka Y, Fujimura M, Yamashita K, Higashisaka K, Morishita Y, et al. Promotion of allergic immune responses by intranasally-administrated nanosilica particles in mice. *Nanoscale Res Lett.* 2011 Mar;6(1):195. DOI 10.1186/1556-276X-6-195.
48. Morishige T, Yoshioka Y, Inakura H, Tanabe A, Narimatsu S, Yao X, et al. Suppression of nanosilica particle-induced inflammation by surface modification of the particles. *Arch Toxicol.* 2012 Aug;86(8):1297-307. DOI 10.1007/s00204-012-0823-5.
49. Park HJ, Sohn JH, Kim YJ, Park YH, Han H, Park KH, et al. Acute exposure to silica nanoparticles aggravate airway inflammation: different effects according to surface characteristics. *Exp Mol Med.* 2015 Jul;47:e173. DOI 10.1038/emm.2015.50.
50. Chen Q, Xue Y, Sun J. Kupffer cell-mediated hepatic injury induced by silica nanoparticles in vitro and in vivo. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:1129-40. DOI 10.2147/IJN.S42242.
51. Lee S, Yun HS, Kim SH. The comparative effects of mesoporous silica nanoparticles and colloidal silica on inflammation and apoptosis. *Biomaterials.* 2011 Dec;32(35):9434-43. DOI 10.1016/j.biomaterials.2011.08.042.
52. Hirai T, Yoshioka Y, Takahashi H, Ichihashi K, Yoshida T, Tochigi S, et al. Amorphous silica nanoparticles enhance cross-presentation in murine dendritic cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Oct;427(3):553-6. DOI 10.1016/j.bbrc.2012.09.095.
53. Eom HJ, Choi J. Oxidative stress of silica nanoparticles in human bronchial epithelial cell, Beas-2B. *Toxicol In Vitro.* 2009 Oct;23(7):1326-32. DOI 10.1016/j.tiv.2009.07.010.
54. Passagne I, Morille M, Rousset M, Pujalté I, Lazou B. Implication of oxidative stress in size-dependent toxicity of silica nanoparticles in kidney cells. *Toxicology.* 2012 Sep;299(2-3):112-24. DOI 10.1016/j.tox.2012.05.010.
55. Sandberg WJ, Låg M, Holme JA, Friede B, Gualtieri M, Kruszewski M, et al. Comparison of non-crystalline silica nanoparticles in IL-1 $\beta$  release from macrophages. *Part Fibre Toxicol.* 2012 Aug;9:32. DOI 10.1186/1743-8977-9-32.
56. Yue H, Wei W, Yue Z, Lv P, Wang L, Ma G, et al. Particle size affects the cellular response in macrophages. *Eur J Pharm Sci.* 2010 Dec;41(5):650-7. DOI 10.1016/j.ejps.2010.09.006.
57. Yazdi AS, Guarda G, Riteau N, Drexler SK, Tardivel A, Couillin I, et al. Nanoparticles activate the NLR pyrin domain containing 3 (Nlrp3) inflammasome and cause pulmonary inflammation through release of IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Nov;107(45):19449-54. DOI 10.1073/pnas.1008155107.
58. Peeters PM, Perkins TN, Wouters EF, Mossman BT, Reynaert NL. Silica induces NLRP3 inflammasome activation in human lung epithelial cells. *Part Fibre Toxicol.* 2013 Feb;10:3. DOI 10.1186/1743-8977-10-3.
59. Joseph MM, Aravind SR, Varghese S, Mini S, Sreelekha TT. PST-Gold nanoparticle as an effective anticancer

- agent with immunomodulatory properties. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2013 Apr;104:32-9. DOI 10.1016/j.colsurfb.2012.11.046.
60. Loo C, Lin A, Hirsch L, Lee MH, Barton J, Halas N, et al. Nanoshell-enabled photonics-based imaging and therapy of cancer. *Technol Cancer Res Treat*. 2004 Feb;3(1):33-40.
  61. Parween S, Gupta PK, Chauhan VS. Induction of humoral immune response against PfMSP-1(19) and PvMSP-1(19) using gold nanoparticles along with alum. *Vaccine*. 2011 Mar;29(13):2451-60. DOI 10.1016/j.vaccine.2011.01.014.
  62. Martinez Paino IM, Zucolotto V. Poly(vinyl alcohol)-coated silver nanoparticles: Activation of neutrophils and nanotoxicology effects in human hepatocarcinoma and mononuclear cells. *Environ Toxicol Phar*. 2015 Mar;39(2):614-21. DOI 10.1016/j.etap.2014.12.012.
  63. Fatima F, Bajpai P, Pathak N, Singh S, Priya S, Verma SR. Antimicrobial and immunomodulatory efficacy of extracellularly synthesized silver and gold nanoparticles by a novel phosphate solubilizing fungus *Bipolaris tetramera*. *BMC Microbiol*. 2015 Feb;15:52. DOI 10.1186/s12866-015-0391-y.
  64. Fallarini S, Paoletti T, Battaglini CO, Ronchi P, Lay L, Bonomi R, et al. Factors affecting T cell responses induced by fully synthetic glyco-gold-nanoparticles. *Nanoscale*. 2013 Jan;5(1):390-400. DOI 10.1039/c2nr32338a.
  65. Cho WS, Cho M, Jeong J, Choi M, Cho HY, Han BS, et al. Acute toxicity and pharmacokinetics of 13 nm-sized PEG-coated gold nanoparticles. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009 Apr;236(1):16-24. DOI 10.1016/j.taap.2008.12.023.
  66. Sumbayev VV, Yasinska IM, Garcia CP, Gilliland D, Lall GS, Gibbs BF, et al. Gold nanoparticles down-regulate interleukin-1 $\beta$ -induced pro-inflammatory responses. *Small*. 2013 Feb;9(3):472-7. DOI 10.1002/smll.201201528.
  67. Romoser AA, Chen PL, Berg JM, Seabury C, Ivanov I, Criscitiello MF, et al. Quantum dots trigger immunomodulation of the NF $\kappa$ B pathway in human skin cells. *Mol Immunol*. 2011 Jul;48(12-13):1349-59. DOI 10.1016/j.molimm.2011.02.009.
  68. Juzenas P, Chen W, Sun YP, Coelho MA, Generalov R, Generalova N, et al. Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008 Dec;60(15):1600-14. DOI 10.1016/j.addr.2008.08.004.
  69. Lovrić J, Cho SJ, Winnik FM, Maysinger D. Unmodified cadmium telluride quantum dots induce reactive oxygen species formation leading to multiple organelle damage and cell death. *Chem Biol*. 2005 Nov;12(11):1227-34. DOI 10.1016/j.chembiol.2005.09.008.
  70. Nguyen KC, Seligy VL, Tayabali AF. Cadmium telluride quantum dot nanoparticle cytotoxicity and effects on model immune responses to *Pseudomonas aeruginosa*. *Nanotoxicology*. 2013 Mar;7(2):202-11. DOI 10.3109/17435390.2011.648667.
  71. Hoshino A, Hanada S, Manabe N, Nakayama T, Yamamoto K. Immune response induced by fluorescent nanocrystal quantum dots in vitro and in vivo. *IEEE Trans Nanobioscience*. 2009 Mar;8(1):51-7. DOI 10.1109/TNB.2009.2016550.
  72. Heegaard PM, Boas U, Sorensen NS. Dendrimers for vaccine and immunostimulatory uses. A review. *Bioconjug Chem*. 2010 Mar;21(3):405-18. DOI 10.1021/bc900290d.
  73. Gothwal A, Kesharwani P, Gupta U, Khan I, Iqbal Mohd Amin MC, Banerjee S, et al. Dendrimers as an Effective Nanocarrier in Cardiovascular Disease. *Curr Pharm Des*. 2015;21(30):4519-26.
  74. Córdoba EV, Pion M, Rasines B, Filippini D, Komber H, Ionov M, et al. Glycodendrimers as new tools in the search for effective anti-HIV DC-based immunotherapies. *Nanomedicine*. 2013 Oct;9(7):972-84. DOI 10.1016/j.nano.2013.03.004.
  75. Daftarian PM, Stone GW, Kovalski L, Kumar M, Vosoughi A, Urbietta M, et al. A targeted and adjuvanted nanocarrier lowers the effective dose of liposomal amphotericin B and enhances adaptive immunity in murine cutaneous leishmaniasis. *J Infect Dis*. 2013 Dec;208(11):1914-22. DOI 10.1093/infdis/jit378.
  76. Bosnjakovic A, Mishra MK, Ren W, Kurtoglu YE, Shi T, Fan D, et al. Poly(amidoamine) dendrimer-erythromycin conjugates for drug delivery to macrophages involved in periprosthetic inflammation. *Nanomedicine*. 2011 Jun;7(3):284-94. DOI 10.1016/j.nano.2010.10.008.
  77. Cromer JR, Wood SJ, Miller KA, Nguyen T, David SA. Functionalized dendrimers as endotoxin sponges. *Bioorg Med Chem Lett*. 2005 Mar;15(5):1295-8. DOI 10.1016/j.bmcl.2005.01.026.

78. Lin J, Hua W, Zhang Y, Li C, Xue W, Yin J, et al. Effect of poly(amidoamine) dendrimers on the structure and activity of immune molecules. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Feb;1850(2):419-25. DOI 10.1016/j.bbagen.2014.11.016.
79. Devi KS, Behera B, Sahoo B, Maiti TK. Heteroglucan-dendrimer glycoconjugate: a modulated construct with augmented immune responses and signaling phenomena. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Sep;1840(9):2794-805. DOI 10.1016/j.bbagen.2014.04.023.
80. Masood F. Polymeric nanoparticles for targeted drug delivery system for cancer therapy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Mar;60:569-78. DOI 10.1016/j.msec.2015.11.067.
81. Petersen LK, Ramer-Tait AE, Broderick SR, Kong C, Ulery BD, Rajan K, et al. Activation of innate immune responses in a pathogen-mimicking manner by amphiphilic polyanhydride nanoparticle adjuvants. *Biomaterials*. 2011 Oct;32(28):6815-22. DOI 10.1016/j.biomaterials.2011.05.063.
82. Silva JM, Videira M, Gaspar R, Pr at V, Florindo HF. Immune system targeting by biodegradable nanoparticles for cancer vaccines. *J Control Release*. 2013 Jun;168(2):179-99. DOI 10.1016/j.jconrel.2013.03.010.
83. Lou PJ, Cheng WF, Chung YC, Cheng CY, Chiu LH, Young TH. PMMA particle-mediated DNA vaccine for cervical cancer. *J Biomed Mater Res A*. 2009 Mar;88(4):849-57. DOI 10.1002/jbm.a.31919.
84. Shaky a AK, Nandakumar KS. Applications of polymeric adjuvants in studying autoimmune responses and vaccination against infectious diseases. *J R Soc Interface*. 2013 Feb;10(79):20120536. DOI 10.1098/rsif.2012.0536.
85. Sayin B, Somavarapu S, Li XW, Sesardic D, Senel S, Alpar OH. TMC-MCC (N-trimethyl chitosan-mono-N-carboxymethyl chitosan) nanocomplexes for mucosal delivery of vaccines. *Eur J Pharm Sci*. 2009 Nov;38(4):362-9. DOI 10.1016/j.ejps.2009.08.010.

