

Nanopartículas viromiméticas para la entrega de ácidos nucleicos en el estudio del parásito *Trypanosoma cruzi*

Viromimetic nanoparticles for nucleic acid delivery in the study of parasite *Trypanosoma cruzi*

R. E. Cárdenas-Guerra,* D. S. Moreno-Gutiérrez,** A. Hernández-García*[†]

ABSTRACT: Chagas disease, caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, remains a neglected illness with high rates of underdiagnosis and limited therapeutic options, especially in the chronic phase. Despite advances in molecular biology, the functional study of genes in *T. cruzi* faces significant challenges due to its genetic diversity and the lack of efficient nucleic acid delivery tools. In this context, viromimetic nanoparticles (VNPs) emerge as bioinspired platforms that mimic the structural and functional properties of viruses, enabling safe, targeted, and minimally immunogenic delivery of genetic material. This work explores the design principles, functional characteristics, and biomedical applications of VNPs. The viromimetic system C₄B^{K12} is highlighted as an example of antisense oligonucleotide delivery in *T. cruzi*, demonstrating the potential of these platforms as emerging tools for functional research and the development of new targeted therapeutic strategies.

KEYWORDS: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, viromimetic nanoparticles, antisense oligonucleotides, gene therapy.

RESUMEN: La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, sigue siendo una patología desatendida con altas tasas de subdiagnóstico y opciones terapéuticas limitadas, especialmente en la fase crónica. A pesar de los avances en biología molecular, el estudio funcional de genes en *T. cruzi* enfrenta grandes desafíos debido a su diversidad genética y a la falta de herramientas eficientes para la entrega de ácidos nucleicos. En este contexto, las nanopartículas viromiméticas (NPVM) se perfilan como plataformas bioinspiradas, las cuales imitan propiedades estructurales y funcionales de los virus, permitiendo una entrega segura, dirigida y poco inmunogénica de material genético. Se abordan los principios de diseño, características funcionales y aplicaciones biomédicas de las NPVM. Se destaca el caso del sistema viromimético C₄B^{K12} como ejemplo de entrega de oligonucleótidos antisentido en *T. cruzi*, evidenciado el potencial de estas plataformas como herramientas emergentes para la investigación funcional y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas.

PALABRAS CLAVE: enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, nanopartículas viromiméticas, oligonucleótidos antisentido, terapia génica.

Recibido: 9 de noviembre, 2024.

Aceptado: 21 de abril, 2025.

Publicado: 6 de mayo, 2024.

* Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química, Laboratorio de Ingeniería Biomolecular y Bionanotecnología, Departamento de Biomacromoléculas.

** Universidad de California Los Ángeles, Departamento de Química y Bioquímica. Los Ángeles, EUA.

[†] Autor de correspondencia: armandohg@iquimica.unam.mx



Introducción

La enfermedad de Chagas, también conocida como tripanosomiasis americana, es una enfermedad tropical desatendida y potencialmente mortal causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*. Como se observa en el cuadro 1, la propagación de la enfermedad de Chagas, considerada endémica en 21 países de América Latina, ha trascendido esta región debido a la migración de personas infectadas y a modos específicos de transmisión no vectorial, lo cual ha facilitado su expansión a países no endémicos de América y otras partes del mundo.

En la actualidad, se estiman infectadas en el mundo a más de entre 6 y 7 millones de personas, mientras 75 millones permanecen en riesgo de contraer la enfermedad. Cada año se reportan 30,000 nuevos casos y más de 12,000 muertes, subrayando su relevancia como una gran preocupación de salud pública a nivel global. Sin embargo, menos del 10% de los infectados han sido diagnosticados, lo cual dificulta su control y tratamiento oportuno.

En México, entre los estados con mayor incidencia se encuentran: Campeche, Chiapas, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, reflejando la distribución geográfica de los vectores transmisores en el país.

A pesar de los esfuerzos y avances importantes en el control de su transmisión, la enfermedad de Chagas se ha convertido en un problema de salud global (WHO, 2024; DNDi, 2024).

Cuadro 1. Impacto de la enfermedad de Chagas.

- Endémica en 21 países de América Latina* y también presente en América del Norte, Europa, Asia.
- > 6-7 millones de personas en el mundo tienen Chagas.
- > 75 millones de personas están en riesgo de contraerla.
- 30,000 casos nuevos son reportados anualmente.
- > 12,000 muertes al año.
- < 10% de los infectados han sido diagnosticados.
- Los estados con mayor incidencia en México** son: Campeche, Chiapas, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán.

* Argentina, Belice, Bolivia (Estado Plurinacional de), Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guayana Francesa, Guatemala, Guyana, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Surinam, Uruguay y Venezuela (República Bolivariana de).

** Dirección General de Epidemiología (2022), Tripanosomiasis. SUIVE/DGE/Secretaría de Salud/Estados Unidos Mexicanos (2022).

Fuente: Información tomada de WHO (2024); DNDi (2024).

La enfermedad de Chagas fue descubierta en 1909, por el brasileño Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, y fue reconocida por la Asamblea Mundial de la Salud hasta 2019, declarando el 14 de abril como su día conmemorativo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la describe como una “enfermedad silenciosa”, al progresar a lo largo de varios años, y a menudo de manera asin-

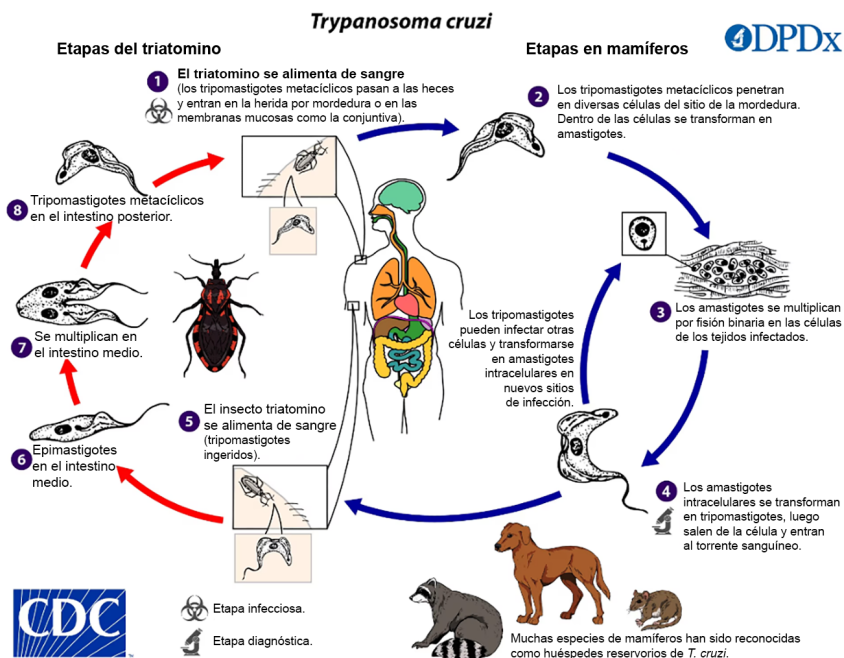
tomática. Sin tratamiento, la enfermedad de Chagas puede provocar alteraciones cardíacas y digestivas pudiendo ser estas fatales.

Su principal modo de transmisión es través de la picadura de chinches de la familia *Reduviidae* y subfamilia *Triatominae*, comúnmente conocidas como “chinches besuconas”, que estén infectadas con el parásito. Además de la transmisión vectorial, la infección se puede adquirir por vía oral (mediante alimentos o bebidas contaminados), por transfusiones de sangre o trasplantes de órganos, y, verticalmente, de madres infectadas a sus descendientes (WHO, 2024; DNDi, 2024; OPS, 2024).

Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*

El parásito tiene un ciclo de vida complejo y ocurre tanto en el vector insecto como en los hospederos mamíferos (figura 1). En humanos, se presenta en dos formas principales: tripomastigote y amastigote. Los tripomastigotes, presentes en la sangre, poseen un flagelo, el cual les permite moverse, pero no se dividen en el torrente sanguíneo; su función principal es diseminar la infección. Al invadir células del hospedador, se transforman en amastigotes, formas intracelulares sin flagelo que se replican activamente, preferentemente en células de origen mesenquimal.

Figura 1. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*.



Fuente: Imagen tomada de CDC - DPDX - American Trypanosomiasis. Traducción de los editores.

En el vector insecto, los tripomastigotes ingeridos por la chinche *reduviidae* se transforman en epimastigotes, su forma replicativa en el intestino del vector. Luego, en la parte posterior del intestino, evolucionan a tripomastigotes metacíclicos, la forma infectiva para los mamíferos, la cual se libera en las heces del insecto. Cuando estas entran en contacto con la piel o membranas mucosas del hospedador, los tripomastigotes penetran en las células y reinician el ciclo al diferenciarse nuevamente en amastigotes replicativos, los cuales eventualmente regresan al torrente sanguíneo como tripomastigotes para continuar la propagación de la infección.

Manifestaciones clínicas y diagnóstico

La enfermedad de Chagas progresa en dos etapas clínicas: fase aguda y fase crónica (tabla 1). La fase aguda, que dura de semanas a meses, puede ser asintomática o manifestarse con síntomas leves o no específicos como fatiga, fiebre, dolor de cabeza, dolor muscular, dificultad para respirar, ganglios inflamados, palidez, hinchazón y dolor abdominal o torácico. En algunos casos, aparecen manifestaciones características como el chagoma (lesión cutánea en el sitio de la picadura de la chinche) y el signo de Romaña (hinchazón violácea en un ojo, debido a la entrada del parásito por la conjuntiva ocular). En situaciones graves, la infección puede derivar en miocarditis y meningoencefalitis. Aunque la mortalidad en esta es baja (0.2-5%) y menos del 1-5% de los pacientes desarrolla síntomas graves, la infección suele resolverse espontáneamente. No obstante, sin tratamiento, la infección persiste en forma crónica.

En la fase crónica, la mayoría de los individuos permanecen asintomáticos, en una condición conocida como fase indeterminada, la cual puede prolongarse durante años. Sin embargo, entre el 30 y 40% de pacientes desarrolla complicaciones severas entre 10 y 30 años después de la infección aguda, afectando principalmente al corazón (miocardiopatía, insuficiencia cardíaca, arritmias y riesgo de muerte súbita) y/o al sistema digestivo (megaesófago y megacolon). El diagnóstico en esta fase se basa en pruebas serológicas, electrocardiograma, ecocardiograma y PCR, aunque la sensibilidad de esta última disminuye en comparación con la fase aguda (tabla 1). Además, los pacientes inmunocomprometidos presentan un mayor riesgo de desarrollar manifestaciones graves en esta etapa (Pérez-Molina y Molina 2018; DNDi, 2024).

El diagnóstico de la fase crónica requiere la concordancia de dos pruebas serológicas, siendo los métodos más utilizados ELISA (Chagatest recombinante, BioELISA Chagas Abbott Prism, MultiCruzi) y pruebas rápidas (Chagas Stat-Pak, Chagas Detect Plus, BIOLINE Chagas Ab). Aunque el uso de antígenos serológicos específicos de *T. cruzi* ha mejorado la detección de la enfermedad, se han identificado variaciones geográficas en la sensibilidad de las pruebas, lo que subraya la necesidad de mejorar en el diagnóstico congénito, la supervisión del tratamiento y los antígenos específicos de cepas (Bhattacharya *et al.*, 2024).

Tabla 1. Fases de la enfermedad de Chagas.

Fase	Duración	Síntomas principales	Diagnóstico	Pronóstico
Aguda	Semanas a meses	Fiebre, fatiga, chagoma, signo de Romaña, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía. En casos graves: miocarditis y meningoencefalitis.	Parasitológico directo, PCR.	Baja mortalidad (0.2-5%). Resolución espontánea en 4-8 semanas.
Crónica indeterminada	Años o toda la vida	Asintomática, ausencia de signos clínicos visibles.	Serología, PCR (baja sensibilidad).	Buen pronóstico; la mayoría no desarrolla complicaciones.
Crónica sintomática	10-30 años post infección	<i>Cardíaca:</i> Miocardiopatía, insuficiencia cardíaca, arritmias, muerte súbita. <i>Digestiva:</i> Disfagia, regurgitación, estreñimiento crónico, megacolon, megaesófago.	Serología, electrocardiograma, ecocardiograma, estudios de imagen (esofagograma, manometría).	Riesgo de muerte súbita, insuficiencia cardíaca o complicaciones digestivas graves.

Fuente: Elaboración de los autores, con base en Pérez-Molina y Molina (2018), y DNDi (2024).

Tratamiento actual para la enfermedad de Chagas

Durante más de 60 años, solo se han utilizado dos fármacos para tratar la enfermedad de Chagas: nifurtimox y benznidazol, cuya eficacia varía según la fase de la enfermedad. Ambos son compuestos nitro-heterocíclicos que actúan como prodrogras, siendo convertidos en su forma activa por la enzima específica del parásito, nitrorreductasa tipo I (TcNTR I), el cual los transforma en intermediarios con actividad antiparasitaria y produciendo especies reactivas de oxígeno (Cárdenas-Guerra *et al.*, 2022; Francisco *et al.*, 2020).

Sin embargo, el uso de estos fármacos está limitado por la aparición de efectos adversos significativos, incluyendo manifestaciones cutáneas, digestivas, neurológicas y hematológicas en el caso del benznidazol, y trastornos digestivos, psiquiátricos y neurológicos para el nifurtimox (tabla 2). Estos efectos adversos contribuyen a una alta tasa de abandono del tratamiento, lo cual afecta su eficacia terapéutica (De Sousa *et al.*, 2024).

Los estudios clínicos han demostrado que estos fármacos son más efectivos cuando se administran en etapas tempranas de la infección y han mostrado cierto grado de eficacia en la fase crónica asintomática. No obstante, presentan tres limitaciones principales: i) tratamientos prolongados de 60 a 90 días; ii) efectos adversos severos, los cuales afectan la adherencia al tratamiento, y, iii) baja eficiencia en la etapa crónica con síntomas severos (DNDi, 2024).

Las limitaciones de los tratamientos actuales resaltan la necesidad de desarrollar nuevas herramientas terapéuticas que optimicen la eficacia y tolerabilidad del manejo de la enfermedad de Chagas.

Tabla 2. Reacciones adversas de benznidazol y nifurtimox.

Benznidazol
• <i>Cutáneas</i>: Prurito, erupciones localizadas o generalizadas, eritema. En casos moderados: fiebre; raramente, síndrome de Stevens-Johnson. (Aparecen alrededor del día 10; se recomienda antihistamínicos o corticoides y evitar alcohol). • <i>Digestivas</i>: Náuseas, vómitos, dolor abdominal. En raros casos: coluria, hepatomegalia y/o ictericia. (Surgen en las dos primeras semanas; puede requerir ajuste en la administración o suspensión en casos graves). • <i>Neurológicas</i> (5% de los pacientes): Cefalea, neuropatía periférica y alteraciones sensoriales. (Aparecen después de 50 días; en casos graves, se suspende el tratamiento). • <i>Hematológicas</i> (raras, 1 en 2000 pacientes): Leucopenia, neutropenia y agranulocitosis. (Se presentan entre los días 20 y 30; es clave monitorear el recuento sanguíneo y suspender en caso grave).
Nifurtimox
• <i>Digestivas</i> (60% de los pacientes): Náuseas, anorexia y pérdida de peso. (Aparecen en 1-3 semanas; mantener tratamiento y ajustar alimentación). • <i>Psiquiátricas</i> (22%): Ansiedad, insomnio, ataques de pánico y agitación psicomotora. (Surgen en 1-3 semanas; puede ser necesario suspender el tratamiento temporalmente). • <i>Neurológicas</i> (18%): Cefalea, inestabilidad, mareos, neuropatía dolorosa. (Ocurren entre 2 y 10 días; en casos graves, suspender el tratamiento y derivar a atención especializada).
Dosis recomendadas: • Benznidazol: 5-10 mg/kg/día en adultos y niños, por 60 días (dosis ajustada según tolerancia). • Nifurtimox: 8-10 mg*kg/día en niños y 10 mg/kg/día en adultos, por 60-90 días.

Fuente: Elaboración de los autores, con base en De Sousa *et al.* (2024).

Desafíos en el estudio de *Trypanosoma cruzi*

El estudio de *T. cruzi* a nivel biológico y molecular ha sido particularmente desafiante debido a su complejo genoma, las complicadas interacciones con el huésped durante la etapa crónica y la falta de herramientas eficaces para su manipulación genética. Además, *T. cruzi*, clasificada como especie única, presenta una gran diversidad genética, la cual se ha reconocido y clasificado a través del análisis enzimático y genético de diferentes cepas en ambientes domésticos y silvestres, lo que ha llevado a la identificación de siete grupos genéticos o unidades de tipificación discretas (DTU, por sus siglas en inglés), denominadas TcI-TcVI y TcBat, agrupando cepas con características genéticas y biológicas comunes de acuerdo a la relación con la distribución geográfica, patogénesis, características clínicas y la respuesta a terapia (Zingales *et al.*, 2012; Bhattacharyya *et al.*, 2024). Aunque se han observado diferencias en la infectividad, virulencia y susceptibilidad a los fármacos entre las distintas cepas del parásito en estudios de laboratorio y en modelos animales, ha sido difícil relacionar de manera concreta estas diferencias genéticas con las manifestaciones clínicas en los pacientes (Gabaldón-Figueira *et al.*, 2023; Dumonteil *et al.*, 2023).

La entrega de ácidos nucleicos, tales como los ARN de interferencia pequeños (siARN), microRNAs, RNA mensajero y oligonucleótidos antisentido (AONs), ha demostrado ser efectiva en el desarrollo de fármacos, terapias génicas y vacunas. Estas terapias, conocidas por su capacidad de atacar enfermedades a nivel genético, han ampliado las opciones de tratamiento y han sido aprobadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) debido a su eficiencia y seguridad (Gupta *et al.*, 2021).

A diferencia de otros parásitos como *Trypanosoma brucei*, *T. cruzi* carece de la maquinaria celular para procesar moléculas como siRNA (DaRocha *et al.* 2004). Por ello, una alternativa de entre los ácidos nucleicos para manipular la expresión genética de *T. cruzi* a nivel de traducción es el uso de AONs. Estos oligonucleótidos sintéticos de cadena sencilla, compuestos de 20-40 nucleótidos ADN o ARN, pueden ser diseñados para unirse a secuencias complementarias del mRNA del gen blanco mediante interacciones del tipo Watson-Crick. Al ingresar al parásito y unirse con su mRNA blanco, los AONs son reconocidos por ciertos factores celulares, los cuales inducen la degradación del mRNA, inhibiendo así la expresión de la proteína blanco. Esta estrategia destaca por su alta especificidad, permitiendo “silenciar” cualquier gen deseado con precisión, reduciendo así los efectos tóxicos inespecíficos (Kole *et al.*, 2012).

Sistemas de entrega en *Trypanosoma cruzi*

En *T. cruzi*, los métodos de entrega de AONs u otro material genético se han realizado principalmente por electroporación y difusión pasiva a través de la membrana celular. A pesar del potencial terapéutico de los AONs, su aplicación en *T. cruzi* sigue siendo limitada, con pocos estudios disponibles (Araya *et al.*, 2008; Hashimoto *et al.*, 2014 y 2016; Málaga *et al.*, 2001; Okura *et al.*, 2005, Orrego *et al.*, 2014; San Francisco *et al.*, 2017; Arroyo-Olarte *et al.*, 2020). Estos métodos presentan desventajas relativas a su baja eficiencia de entrega, y son poco prácticos para su uso en el parásito. La electroporación, en particular, causa una alta mortalidad celular, requiere mucho tiempo, necesita equipos costosos y especializados, y carece de viabilidad para futuros usos (DaRocha *et al.* 2004; Padmanabhan *et al.* 2014; Olmo *et al.* 2018).

Los enfoques nanotecnológicos representan los métodos químicos avanzados para la transfección. Diversos estudios han demostrado que las nanopartículas pueden transportar fármacos al interior de *T. cruzi* (Romero *et al.*, 2010; Arias *et al.*, 2015; de Freitas *et al.*, 2022; Muraca *et al.*, 2023). Entre estas, destacan las nanopartículas basadas en polímeros o lípidos catiónicos, como liposomas o polimerosomas, utilizadas para introducir fármacos de baja masa molecular, aunque no se han empleado para la entrega de ácidos nucleicos (Quijia-Quezada *et al.*, 2019; Mengarda *et al.*, 2023). Por ello, es esencial desarrollar vectores efectivos para la entrega de AONs en *T. cruzi*,

con el fin de ampliar su aplicabilidad en herramientas avanzadas de manipulación genética.

Nanopartículas viromiméticas como sistemas de entrega

Desde el enfoque de la nanotecnología, los virus representan plataformas altamente eficientes para el diseño de terapias avanzadas, nanomedicinas, diagnósticos y nanomateriales funcionales, gracias a su notable capacidad de transferir genes, fármacos u otras biomoléculas hacia células blanco. Estas entidades, que en su mayoría oscilan entre 16 y 300 nanómetros de diámetro, aunque existen excepciones como los mimivirus, los cuales alcanzan hasta 1.5 μm (Mondrow *et al.*, 2013), presentan una arquitectura organizada combinando ácidos nucleicos encapsulados por una cápside proteica. Esta estructura les confiere estabilidad frente a condiciones ambientales adversas y permite su ingreso al interior celular mediante estrategias como el escape endosomal y la translocación nuclear (Gao *et al.*, 2021).

Inspiradas por esta eficacia natural, han surgido las nanopartículas viromiméticas (NPVM), sistemas bioinspirados imitando aspectos clave de la estructura y funcionalidad viral, pero sin contener material genético infeccioso. Estas nanopartículas buscan reproducir, de forma controlada y segura, los mecanismos que hacen de los virus vectores tan efectivos.

A diferencia de las partículas similares a virus (VLPs), las cuales derivan directamente de proteínas virales, las NPVM se construyen mediante bloques sintéticos o naturales (proteína, péptidos, polímeros, lípidos o nanomateriales inorgánicos) racionalmente diseñados para autoensamblarse en estructuras con geometrías virales, funcionalidad dirigida, y capacidad de respuesta a estímulos fisiológicos (Ni *et al.*, 2016; Walls *et al.*, 2020; Moreno-Gutiérrez *et al.*, 2023). Esta aproximación permite combinar la eficiencia de los virus con la versatilidad y seguridad de los sistemas artificiales.

Diseño estructural y funcional de las NPVM

El diseño de NPVM se basa en replicar características clave de los virus como su morfología, su superficie organizada, su habilidad de encapsular ácidos nucleicos, dirigirse a células blanco y responder al entorno intracelular. Por ejemplo, se han desarrollado cápsides sintéticas con simetría icosaédrica utilizando proteínas diseñadas computacionalmente, las cuales imitan la organización jerárquica de los virus (Bale *et al.*, 2016). También se han empleados péptidos autoensamblables inspirados en dominios de virus como el adenovirus o el virus del mosaico del tabaco para formar nanocápsides capaces de encapsular y liberar material genético (Hernández-García *et al.*, 2014; Matsuura *et al.*, 2010).

En cuanto a la superficies, se han diseñado partículas viromiméticas que emulan la topografía viral mediante la repetición simétrica de subunidades, lo cual favorece la interacción con receptores celulares y la activación inmuni-

taria (Niu *et al.*, 2013). Algunas de estas nanopartículas han incorporado envolturas lipídicas o glicoproteínas para replicar los mecanismos de reconocimiento y evasión de virus como VIH o herpes (Zhang *et al.*, 2015; Perrault y Shih, 2014).

Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas viromiméticas

Las NPVM tiene múltiples aplicaciones en el área de medicina y biotecnología, entre las cuales destacan:

Terapia génica y edición genética:

Las NPVM han demostrado ser vehículos eficaces para la entrega de ADN, ARN mensajero y oligonucleótidos terapéuticos. Gracias a su diseño modular, permiten proteger el material de la degradación, facilitar su liberación intracelular y dirigirlo al núcleo (Edwardson y Hilvert, 2019). Algunas plataformas han integrado señales de localización nuclear o dominios fusogénicos para emular rutas virales específicas (Yang *et al.*, 2017). Asimismo, nanopartículas basadas en péptidos derivados del adenovirus han sido diseñadas para promover el escape endosomal y la translocación nuclear (Alonso-Valente *et al.*, 2019).

Nanovacunas y presentación antigénica:

Inspiradas en la capacidad de los virus para activar el sistema inmune, diversas NPVM han sido desarrolladas como plataformas vacunales. Al presentar antígenos en una forma ordenada y multivalente, estas partículas promueven respuestas humorales y celulares más potentes que los antígenos solubles (Kanekiyo *et al.* 2013; Walls *et al.* 2020). Un ejemplo destacado es el uso de nanopartículas de ferritina que presentan proteínas hemaglutininas del virus de la influenza, generando anticuerpos neutralizantes de amplio espectro (Kanekiyo *et al.*, 2013).

Terapias antitumorales y antimicrobianas:

Se han desarrollado NPVM capaces de cruzar la barrera hematoencefálica, liberar fármacos de forma controlada en el microambiente tumoral, o combinar efectos fototérmicos y quimioterapéuticos en una sola plataforma (Zhuang *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2019). Por ejemplo, el sistema Vir-ZM@TD libera iones Zn y genera especies reactivas de oxígeno al degradarse por ATP, mejorando la terapia humoral (Zhao *et al.*, 2022). También existen diseños inspirados en virus bacteriófagos, los cuales actúan como antimicrobianos selectivos contra bacterias resistentes, donde un diseño inspirado en SARS-CoV-2 ha demostrado actividad antimicrobiana contra bacterias resistentes, integrando mecanismos de disrupción de membrana y activación por luz (Ni *et al.*, 2022).

Modelos simplificados de virus para investigación básica:

Las NPVM también sirven como herramientas para estudiar procesos virales como el ensamblaje de cápsides, el empaquetamiento de genomas, o la liberación intracelular, en un contexto no infeccioso pero funcionalmente comparable (Butterfield *et al.*, 2017; Terasaka *et al.*, 2018).

Nanopartículas (C_4B^{K12}) usadas para la transfección en *T. cruzi*

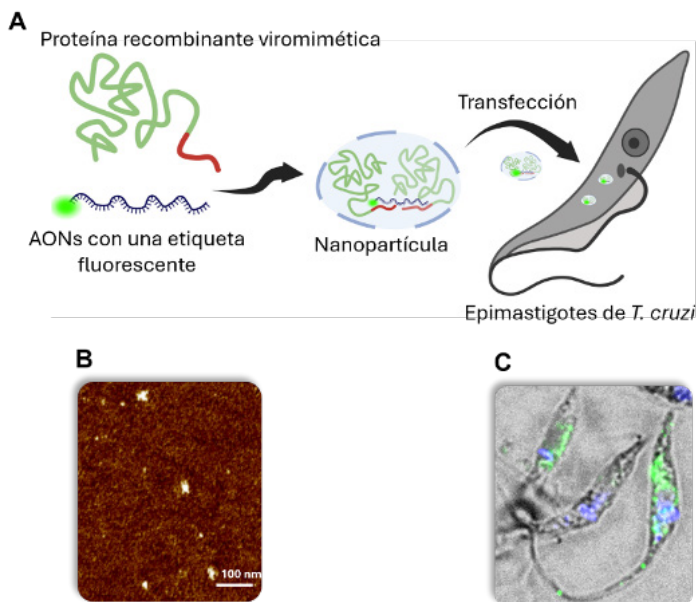
Hernández-García diseñó un conjunto de proteínas modulares con la capacidad de imitar las propiedades fundamentales estructurales de las proteínas de la cápside del virus del mosaico del tabaco, mostrando un gran potencial aplicativo (Hernández-García *et al.*, 2012 y 2014; Punter *et al.*, 2016). Estas proteínas han sido nombradas como C_4B^{K12} , $C_4S_2B^{K12}$, $C_4S_{10}B^{K12}$. En estas denominaciones, C se refiere a un bloque que proporciona estabilidad coloidal, lo cual significa que otorga solubilidad y previene la formación de agregados, y su secuencia está derivada de la colágena. En el caso de B, indica el bloque de unión compuesto por 12 lisinas (K12). Finalmente, S representa el bloque de autoensamblaje. Estas nuevas proteínas viromiméticas tienen la capacidad de interactuar con ácidos nucleicos y formar nanopartículas a través de un proceso de autoensamblado similar al de las proteínas de cápsides virales. Además, protegen a los ácidos nucleicos de la degradación en medios biológicos y provocan una respuesta inmune mínima, lo cual es ventajoso para su uso en terapias génicas, pues reduce el riesgo de efectos secundarios relacionados con la respuesta inmunitaria (Moreno-Gutiérrez *et al.*, 2021). Gracias a su diseño modular y producción recombinante, es posible modificar las nanopartículas de estas proteínas para optimizar la transfección, la internalización y el direccionamiento específico a células, abriendo grandes posibilidades para desarrollar acarreadores genéticos programables y eficientes (Moreno-Gutiérrez *et al.*, 2023).

Nuestro grupo de trabajo evaluó por primera vez el uso de una de las proteínas recombinantes viromiméticas (C_4B^{K12}) (Cárdenas-Guerra *et al.*, 2020) para transfectar AONs en *T. cruzi*. La proteína C_4B^{K12} se unió a AON dirigido al mRNA del receptor de IP_3 ($TcIP_3R$) (previamente caracterizado por Hashimoto *et al.*, 2014). Las nanopartículas formadas fueron de 10-25 nm, notablemente estables en medios biológicos, liberando hasta un 25% de los AONs. Para evaluar la internalización, se emplearon los AONs marcados con el fluoróforo ATTO488, lo cual permitió visualizar mediante microscopía de fluorescencia la entrada eficiente de las nanopartículas en los epimastigotes de *T. cruzi* (figura 2). Los ensayos de PCR en tiempo real corroboraron una disminución del 68% en la expresión del gen blanco, sin observarse efectos citotóxicos.

La capacidad de formar nanopartículas que sean estables bioquímicamente y que entreguen el material genético eficazmente y sin causar citotoxicidad al parásito hace de estas proteínas viromiméticas una opción prometedora para futuras investigaciones relacionadas con las funciones de los genes o

de blancos terapéuticos en *T. cruzi*. Además, debido a su diseño modular y producción recombinante, estas proteínas representan una plataforma flexible permitiendo su modificación sencilla con la capacidad de conferirle características que permitan una mayor eficiencia de transfección a blancos específicos como *T. cruzi*.

Figura 2. Nanopartículas viromiméticas para la entrega de AONs en *T. cruzi*.



A) Esquema representativo de la transfección en epimastigotes mediada por las nanopartículas. B) Imagen de la nanopartícula observada mediante microscopía de forma atómica; barra de escala, 100 nm. C) Imagen de la nanopartícula dentro del parásito mediante microscopía de fluorescencia. En la composición, el campo claro aparece en gris, el núcleo y cinetoplasto, en azul, y la nanopartícula con AONs fluorescente, en verde.

Fuente: Elaboración de los autores.

Conclusión y perspectivas

El control de la enfermedad de Chagas continúa limitado por desafíos tanto clínicos como experimentales, yendo desde la falta de tratamientos eficaces en etapas crónicas hasta las barreras metodológicas para el estudio genético de *T. cruzi*. En este escenario, las NPVM no solo representan una innovación en el ámbito de la nanotecnología, sino ofrecen, también, nuevas herramientas para abordar interrogantes biológicos aún no resueltos en este parásito. Su diseño modular, inspirado en mecanismos virales, permite explorar rutas alternativas de entrega de material genético que antes eran inaccesibles, abriendo posibilidades en modelos donde la transfección convencional resulta ineficien-

te o inviable. Más allá de sus aplicaciones actuales, las NPVM se proyectan como una plataforma adaptable, capaz de integrarse a nuevas estrategias de diagnóstico, terapéuticas o de investigación básica en contextos de parásitos complejos. En consecuencia, su incorporación en el estudio de *T. cruzi* no solo aporta soluciones técnicas, sino que redefine los marcos posibles para investigar y enfrentar enfermedades desatendidas desde una perspectiva multidisciplinaria e innovadora.

Contribución de autorías:

Cárdenas-Guerra R. E. y Hernández-García A.: Concepción y diseño del artículo.
Cárdenas-Guerra R. E., Moreno-Gutiérrez D. S. y Hernández-García A.: Revisión y edición final del texto.

Referencias

- Alonso-Valenteen, F., S. Pacheco, D. Srinivas, A. Rentsendorj, D. Chu, J. Lubow, J. Sims, T. Miao, S. Mikhael, J. Y. Hwang, R. Abrol y L. K. Medina Kauwe. (2019). HER3-targeted protein chimera forms endosomolytic capsomeres and self-assembles into stealth nucleocapsids for systemic tumor homing of RNA interference *in vivo*. *Nucleic Acids Res*, 47(21): 11020-11043. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz900>.
- Araya, J. E., A. Cornejo, P. R. Orrego, E. M. Cordero, M. Cortéz, H. Olivares, I. Neira, H. Sagua, J. F. da Silveira, N. Yoshida y J. González. (2008). Calcineurin B of the human protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* is involved in cell invasion. *Microbes Infect*, 10(8): 892-900. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2008.05.003>.
- Arias, J. L., J. D. Unciti-Broceta, J. Maceira, T. del Castillo, J. Hernández-Quero, S. Magez, M. Soriano y J. A. García-Salcedo. (2015). Nanobody conjugated PLGA nanoparticles for active targeting of African trypanosomiasis. *J Control Release*, 197: 190-8. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.11.002>.
- Arroyo-Olarte, Rubén D., Ignacio Martínez, Eduardo Luján, Fela Mendlovic, Tzvetanka Dinkova y Bertha Espinoza. (2020). Differential gene expression of virulence factors modulates infectivity of TcI *Trypanosoma cruzi* strains. *Parasitology Research*, 119(11): 3803-3815. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06891-1>.
- Bale, Jacob B., Shane Gonen, Yuxi Liu, William Sheffler, Daniel Ellis, Chantz Thomas, Duilio Cascio, Todd O. Yeates, Tamir Gonen, Neil P. King y David Baker. (2016). Accurate design of megadalton-scale two-component icosahedral protein complexes. *Science*, 353(6297): 389-394. <https://doi.org/doi:10.1126/science.aaf8818>.
- Bhattacharyya, T., N. Murphy y M. A. Miles. (2024). Diversity of Chagas disease diagnostic antigens: successes and limitations. *PLoS Negl Trop Dis*, 18(10): e0012512. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012512>.
- Butterfield, G. L., M. J. Lajoie, H. H. Gustafson, D. L. Sellers, U. Nattermann, D. Ellis, J. B. Bale, S. Ke, G. H. Lenz, A. Yehdego, R. Ravichandran, S. H. Pun, N. P. King y D. Baker. (2017). Evolution of a designed protein assembly encapsulating its

- own RNA genome. *Nature*, 552(7685): 415-420. <https://doi.org/10.1038/nature25157>.
- Cárdenas-Guerra, R. E., Martínez, I. y Espinoza, B. (2022). Papel de la enzima nitroreductasa tipo I de *Trypanosoma cruzi* en el metabolismo de fármacos anti-chagásicos. *Revista Mexicana de Industria y Salud*, 2(15): 36-42. ISSN: 2594-1445.
- Cárdenas-Guerra, R. E., D. S. Moreno-Gutiérrez, O. J. Vargas-Dorantes, B. Espinoza y A. Hernández-García. (2020). Delivery of antisense DNA into pathogenic parasite *Trypanosoma cruzi* using virus-like protein-based nanoparticles. *Nucleic Acid Ther*, 30(6): 392-401. <https://doi.org/10.1089/nat.2020.0870>.
- CDC -DPDx- American Trypanosomiasis. <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>.
- DaRocha, W. D., K. Otsu, S. M. Teixeira y J. E. Donelson. (2004). Tests of cytoplasmic RNA interference (RNAi) and construction of a tetracycline-inducible T7 promoter system in *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*, 133(2): 175-86. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2003.10.005>.
- De Freitas Oliveira, J. W., M. F. A. da Silva, I. Z. Damasceno, H. A. O. Rocha, A. A. da Silva Júnior y M. S. Silva. (2022). *In vitro* validation of antiparasitic activity of PLA-nanoparticles of sodium diethyldithiocarbamate against *Trypanosoma cruzi*. *Pharmaceutics*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030497>.
- De Sousa, A. S., D. Vermeij, A. N. Ramos, Jr. y A. O. Luquetti. (2024). Chagas disease. *Lancet*, 403(10422): 203-218. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(23\)01787-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(23)01787-7).
- Dirección General de Epidemiología. (2022). Tripanosomiasis. SUIVE/DGE / Secretaría de Salud / Estados Unidos Mexicanos 2022. https://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/incidencia_enfermedad.html.
- DNDi. (2024). *Symptoms, transmission, and current treatments for Chagas disease* | DNDi <https://dndi.org/diseases/chagas/facts/>.
- Dumonteil, E., H. Desale, W. Tu, N. Hernández-Cuevas, M. Shroyer, K. Goff, P. A. Marx y C. Herrera. (2023). Intra-host *Trypanosoma cruzi* strain dynamics shape disease progression: the missing link in Chagas disease pathogenesis. *Microbiol Spectr*, 11(5): e0423622. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04236-22>.
- Edwardson, T. G. W. y D. Hilvert. (2019). Virus-inspired function in engineered protein cages. *J Am Chem Soc*, 141(24): 9432-9443. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b03705>.
- Francisco, A. F., S. Jayawardhana, F. Olmo, M. D. Lewis, S. R. Wilkinson, M. C. Taylor y J. M. Kelly. (2020). Challenges in Chagas disease drug development. *Molecules*, 25(12). <https://doi.org/10.3390/molecules25122799>.
- Gabaldón-Figueira, J. C., N. Martínez-Peinado, E. Escabia, A. Ros-Lucas, E. Chatelain, I. Scandale, J. Gascon, M. J. Pinazo y J. Alonso-Padilla. (2023). State-of-the-art in the drug discovery pathway for Chagas disease: a framework for drug development and target validation. *Res Rep Trop Med*, 14: 1-19. <https://doi.org/10.2147/rrtm.S415273>.
- Gao, X., J. Ding, Q. Long y C. Zhan. (2021). Virus-mimetic systems for cancer diagnosis and therapy. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 13(3): e1692. <https://doi.org/10.1002/wnan.1692>.

- Gupta, A., J. L. Andresen, R. S. Manan y R. Langer. (2021). Nucleic acid delivery for therapeutic applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 178: 113834. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113834>.
- Hashimoto, M., M. Doi, N. Kurebayashi, K. Furukawa, H. Hirawake-Mogi, Y. Ohmiya, T. Sakurai, T. Mita, K. Mikoshiba y T. Nara. (2016). Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor determines intracellular Ca(2+) concentration in *Trypanosoma cruzi* throughout its life cycle. *FEBS Open Bio*, 6(12): 1178-1185. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12126>.
- Hashimoto, M., T. Nara, H. Hirawake, J. Morales, M. Enomoto y K. Mikoshiba. (2014). Antisense oligonucleotides targeting parasite inositol 1,4,5-trisphosphate receptor inhibits mammalian host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *Sci Rep*, 4: 4231. <https://doi.org/10.1038/srep04231>.
- Hernández-García, A., D. J. Kraft, A. F. Janssen, P. H. Bomans, N. A. Sommerdijk, D. M. Thies-Weesie, M. E. Favretto, R. Brock, F. A. de Wolf, M. W. Werten, P. van der Schoot, M. C. Stuart y R. de Vries. (2014). Design and self-assembly of simple coat proteins for artificial viruses. *Nat Nanotechnol*, 9(9): 698-702. <https://doi.org/10.1038/nnano.2014.169>.
- Hernández-García, A., M. W. Werten, M. C. Stuart, F. A. de Wolf y R. de Vries. (2012). Coating of single DNA molecules by genetically engineered protein diblock copolymers. *Small*, 8(22): 3491-501. <https://doi.org/10.1002/sml.201200939>.
- Kanekiyo, M., C. J. Wei, H. M. Yassine, P. M. McTamney, J. C. Boyington, J. R. Whittle, S. S. Rao, W. P. Kong, L. Wang y G. J. Nabel. (2013). Self-assembling influenza nanoparticle vaccines elicit broadly neutralizing H1N1 antibodies. *Nature*, 499(7456): 102-6. <https://doi.org/10.1038/nature12202>.
- Kole, R., A. R. Krainer y S. Altman. (2012). RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. *Nat Rev Drug Discov*, 11(2): 125-40. <https://doi.org/10.1038/nrd3625>.
- Li, Yang, Jinyan Lin, Peiyuan Wang, Qiang Luo, Huirong Lin, Yun Zhang, Zhenqing Hou, Jingfeng Liu y Xiaolong Liu. (2019). Tumor microenvironment responsive shape-reversal self-targeting virus-inspired nanodrug for imaging-guided near-infrared-II photothermal chemotherapy. *ACS Nano*, 13(11): 12912-12928. <https://doi.org/10.1021/acsnano.9b05425>.
- Málaga, S. y N. Yoshida. (2001). Targeted reduction in expression of *Trypanosoma cruzi* surface glycoprotein gp90 increases parasite infectivity. *Infect Immun*, 69(1): 353-9. <https://doi.org/10.1128/iai.69.1.353-359.2001>.
- Matsuura, Kazunori, Kenta Watanabe, Tsubasa Matsuzaki, Kazuo Sakurai y Nobuo Kimizuka. (2010). Self-assembled synthetic viral capsids from a 24-mer viral peptide fragment. *Angew Chem Int Ed*, 49(50): 9662-9665. <https://doi.org/10.1002/anie.201004606>.
- Mengarda, A. C., B. Iles, J. P. F. Longo y J. de Moraes. (2023). Recent approaches in nano-carrier-based therapies for neglected tropical diseases. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 15(2): e1852. <https://doi.org/10.1002/wnan.1852>.
- Modrow, S., D. Falke, U. Truyen y H. Schätzl. (2013). Viruses: definition, structure, classification. En *Molecular virology*, 17-30. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20718-1_2.

- Moreno-Gutiérrez, D. S., X. Del Toro-Ríos, N. J. Martínez-Sulvaran, M. B. Pérez-Altamirano y A. Hernández-García. (2023). Programming the cellular uptake of protein-based viromimetic nanoparticles for enhanced delivery. *Biomacromolecules*, 24(4): 1563-1573. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.2c01295>.
- Moreno-Gutiérrez, D. S., J. Zepeda-Cervantes, L. Vaca y A. Hernández-García. (2021). An artificial virus-like triblock protein shows low *in vivo* humoral immune response and high stability. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 129: 112348. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112348>.
- Muraca, G., M. E. Ruiz, R. C. Gambaro, S. Scioli-Montoto, M. L. Sbaraglini, G. Padula, J. S. Cisneros, C. Y. Chain, V. A. Álvarez, C. Huck-Iriart, G. R. Castro, M. B. Piñero, M. I. Marchetto, C. Alba Soto, G. A. Islan y A. Talevi. (2023). Nanostructured lipid carriers containing benzimidazole: physicochemical, biopharmaceutical and cellular *in vitro* studies. *Beilstein J Nanotechnol*, 14: 804-818. <https://doi.org/10.3762/bjnano.14.66>.
- Ni, R., J. Zhou, N. Hossain y Y. Chau. (2016). Virus-inspired nucleic acid delivery system: linking virus and viral mimicry. *Adv Drug Deliv Rev*, 106(Pt A): 3-26. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.07.005>.
- Ni, Y., J. Wang, M. Wang, L. Liu, H. Nie, Q. Wang, J. Sun, T. Yue, M. Q. Zhu y J. Wang. (2022). COVID-19-inspired “artificial virus” to combat drug-resistant bacteria by membrane-intercalation- photothermal-photodynamic multistage effects. *Chem Eng J*, 446: 137322. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137322>.
- Niu, Y., M. Yu, S. B. Hartono, J. Yang, H. Xu, H. Zhang, J. Zhang, J. Zou, A. Dexter, W. Gu y C. Yu. (2013). Nanoparticles mimicking viral surface topography for enhanced cellular delivery. *Adv Mater*, 25(43): 6233-7. <https://doi.org/10.1002/adma.201302737>.
- Okura, M., J. Fang, M. L. Salto, R. S. Singer, R. Docampo y S. N. Moreno. (2005). A lipid-modified phosphoinositide-specific phospholipase C (TcPI-PLC) is involved in differentiation of trypomastigotes to amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *J Biol Chem*, 280(16): 16235-43. <https://doi.org/10.1074/jbc.M414535200>.
- Olmo, F., F. C. Costa, G. S. Mann, M. C. Taylor y J. M. Kelly. (2018). Optimising genetic transformation of *Trypanosoma cruzi* using hydroxyurea-induced cell-cycle synchronisation. *Mol Biochem Parasitol*, 226: 34-36. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2018.07.002>.
- OPS. (2024). Enfermedad de Chagas - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud (paho.org). <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>.
- Orrego, P. R., H. Olivares, E. M. Cordero, A. Bressan, M. Cortez, H. Sagua, I. Neira, J. González, J. F. da Silveira, N. Yoshida y J. E. Araya. (2014). A cytoplasmic new catalytic subunit of calcineurin in *Trypanosoma cruzi* and its molecular and functional characterization. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(1): e2676. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002676>.
- Padmanabhan, P. K., R. B. Polidoro, N. S. Barteneva, R. T. Gazzinelli y B. A. Burleigh. (2014). Transient transfection and expression of foreign and endogenous genes in the intracellular stages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol*, 198(2): 100-3. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2015.02.001>.

- Pérez-Molina, J. A. e I. Molina. (2018). Chagas disease. *Lancet*, 391(10115): 82-94. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)31612-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)31612-4).
- Perrault, S. D. y W. M. Shih. (2014). Virus-inspired membrane encapsulation of DNA nanostructures to achieve *in vivo* stability. *ACS Nano*, 8(5): 5132-40. <https://doi.org/10.1021/nn5011914>.
- Punter, M. T., A. Hernández-García, D. J. Kraft, R. de Vries y P. van der Schoot. (2016). Self-assembly dynamics of linear virus-like particles: theory and experiment. *J Phys Chem B*, 120(26): 6286-97. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b02680>.
- Quijia Quezada, C., C. S. Azevedo, S. Charneau, J. M. Santana, M. Chorilli, M. B. Carneiro e I. M. D. Bastos. (2019). Advances in nanocarriers as drug delivery systems in Chagas disease. *Int J Nanomedicine*, 14: 6407-6424. <https://doi.org/10.2147/ijn.S206109>.
- Romero, E. L. y M. J. Morilla. (2010). Nanotechnological approaches against Chagas disease. *Adv Drug Deliv Rev*, 62(4-5): 576-88. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.11.025>.
- San Francisco, Juan, Iván Barria, Bessy Gutiérrez, Iván Neira, Christian Muñoz, Hernán Sagua, Jorge E. Araya, Juan Carlos Andrade, Aníbal Zailberger, Alejandro Catalán, Francisco Remonsellez, José Luis Vega y Jorge González. (2017). Decreased cruzipain and gp85/trans-sialidase family protein expression contributes to loss of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote virulence. *Microbes Infect*, 19(1): 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.08.003>.
- Terasaka, N., Y. Azuma y D. Hilvert. (2018). Laboratory evolution of virus-like nucleocapsids from nonviral protein cages. *Proc Natl Acad Sci USA*, 115(21): 5432-5437. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800527115>.
- Walls, A. C., B. Fiala, A. Schäfer, S. Wrenn, M. N. Pham, M. Murphy, L. V. Tse, L. Shehata, M. A. O'Connor, C. Chen, M. J. Navarro, M. C. Miranda, D. Pettie, R. Ravichandran, J. C. Kraft, C. Ogohara, A. Palser, S. Chalk, E. C. Lee, K. Guerriero, E. Kepl, C. M. Chow, C. Sydeman, E. A. Hodge, B. Brown, J. T. Fuller, K. H. Dinnon, 3rd, L. E. Gralinski, S. R. Leist, K. L. Gully, T. B. Lewis, M. Guttman, H. Y. Chu, K. K. Lee, D. H. Fuller, R. S. Baric, P. Kellam, L. Carter, M. Pepper, T. P. Sheahan, D. Veasler y N. P. King. (2020). Elicitation of potent neutralizing antibody responses by designed protein nanoparticle vaccines for SARS-CoV-2. *Cell*, 183(5): 1367-1382.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.043>.
- WHO. (2024). Enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana). [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
- Yang, Y., Y. Hong, G. H. Nam, J. H. Chung, E. Koh e I. S. Kim. (2017). Virus-mimetic fusogenic exosomes for direct delivery of integral membrane proteins to target cell membranes. *Adv Mater*, 29(13). <https://doi.org/10.1002/adma.201605604>.
- Zhang, P., Y. Chen, Y. Zeng, C. Shen, R. Li, Z. Guo, S. Li, Q. Zheng, C. Chu, Z. Wang, Z. Zheng, R. Tian, S. Ge, X. Zhang, N. S. Xia, G. Liu y X. Chen. (2015). Virus-mimetic nanovesicles as a versatile antigen-delivery system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112(45): E6129-38. <https://doi.org/10.1073/pnas.1505799112>.

- Zhao, Xiu, Yiyang Wang, Wenxiao Jiang, Qiongwei Wang, Jun Li, Zhiyang Wen, Airon Li, Kaixiang Zhang, Zhenzhong Zhang, Jinjin Shi y Junjie Liu. (2022). Herpesvirus-mimicking DNzyme-loaded nanoparticles as a mitochondrial DNA stress inducer to activate innate immunity for tumor therapy. *Adv Mater*, 34(37): 2204585. <https://doi.org/10.1002/adma.202204585>.
- Zhuang, R., M. Chen, Y. Zhou, W. Cheng, T. Zhang, Y. Ni, C. Guo, J. Tu y L. Jiang. (2021). Virus-mimicking liposomal system based on dendritic lipopeptides for efficient prevention ischemia/reperfusion injury in the mouse liver. *ACS Macro Lett*, 10(2): 215-222. <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.0c00743>.
- Zingales, B., M. A. Miles, D. A. Campbell, M. Tibayrenc, A. M. Macedo, M. M. Teixeira, A. G. Schijman, M. S. Llewellyn, E. Lages-Silva, C. R. Machado, S. G. Andrade y N. R. Sturm. (2012). The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infect Genet Evol*, 12(2): 240-53. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.009>.