

ORIGINAL

Evaluation of the biocompatibility of solid lipid nanoparticles of Myristyl Myristate in human blood cells

Evaluación de la biocompatibilidad de nanopartículas lipídicas sólidas de Miristil Miristato en células sanguíneas humanas

Fernando Mañas¹ , Ignacio Velzi² , Dardo Roma¹ , Paula Tonini¹ , Noelia Campa³  Germán Islan⁴ , Noelia Cariddi³ 

¹CONICET-INCIVET. Departamento de Clínica Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria, U.N.R.C., Río Cuarto, Argentina.

²CONICET-IITEMA. Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, U.N.R.C., Río Cuarto, Argentina.

³CONICET-INBIAS. Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, U.N.R.C., Río Cuarto, Argentina.

⁴CONICET. CINDEFI. Facultad de Ciencias Exactas, U.N.L.P., La Plata, Argentina.

Citar como: Mañas F, Velzi I, Roma D, Tonini MP, Campa N, Islan G, et al. Evaluation of the biocompatibility of solid lipid nanoparticles of Myristyl Myristate in human blood cells. Salud, Ciencia y Tecnología. 2025; 5:1814. <https://doi.org/10.56294/saludcyt20251814>

Recibido: 05-01-2025

Revisado: 22-03-2025

Aceptado: 20-06-2025

Publicado: 21-06-2025

Editor: Prof. Dr. William Castillo-González 

Autor para la correspondencia: Fernando Mañas 

ABSTRACT

Introduction: solid lipid nanoparticles (SLNs) have emerged as promising drug delivery systems, standing out for their biocompatibility and stability.

Objective: to evaluate the biocompatibility of SLNs formulated with myristyl myristate (MM) in human lymphocytes through cytotoxicity, genotoxicity, and oxidative stress assays.

Method: SLNs were synthesized using sonication and characterized in terms of size, polydispersity index, and zeta potential. Concentrations ranging from 18,75 to 300,00 µg/ml were selected for in vitro assays. Cell viability was assessed using the MTT assay, while genotoxicity was analyzed through the Comet assay. Lipid peroxidation was measured by quantifying thiobarbituric acid reactive substances (TBARs).

Results: after 24 hours of exposure, cell viability remained above 90 % at all concentrations. However, after 48 hours, viability decreased at concentrations of 150 and 300 µg/ml. No significant DNA damage or changes in lipid peroxidation levels were observed under any tested condition.

Conclusion: these findings suggest that MM-based SLNs exhibit high in vitro biocompatibility, with no relevant short-term cytotoxic or genotoxic effects. However, further studies in in vivo models and under prolonged exposure conditions are necessary to assess their safety for biomedical applications.

Keywords: Solid Lipid Nanoparticles; Biocompatibility; Myristyl Myristate; Cytotoxicity; Genotoxicity; Oxidative Stress.

RESUMEN

Introducción: las nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) han surgido como sistemas prometedores para la administración de fármacos, destacándose por su biocompatibilidad y estabilidad.

Objetivo: evaluar la biocompatibilidad de SLNs formuladas con miristil miristato (MM) en linfocitos humanos mediante ensayos de citotoxicidad, genotoxicidad y estrés oxidativo.

Método: las SLNs se sintetizaron utilizando sonicación y se caracterizaron en términos de tamaño, índice de polidispersidad y potencial zeta. Se seleccionaron concentraciones entre 18,75 y 300,00 µg/ml para los ensayos in vitro. La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo MTT, mientras que la genotoxicidad

se analizó con el ensayo Cometa. Además, se midió la peroxidación lipídica mediante la cuantificación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs).

Resultados: los resultados indicaron que, tras 24 horas de exposición, la viabilidad celular se mantuvo superior al 90 % en todas las concentraciones. Sin embargo, a 48 horas, se observó una disminución en la viabilidad en concentraciones de 150 y 300 µg/ml. No se detectó daño significativo al ADN en ninguna de las condiciones evaluadas, ni cambios en los niveles de peroxidación lipídica.

Conclusión: estos hallazgos sugieren que las SLNs de MM presentan una alta biocompatibilidad en condiciones *in vitro*, sin efectos citotóxicos ni genotóxicos relevantes a corto plazo. No obstante, estudios adicionales en modelos *in vivo* y en exposiciones prolongadas serán necesarios para evaluar su seguridad en aplicaciones biomédicas.

Palabras clave: Nanopartículas Lipídicas Sólidas; Biocompatibilidad; Miristil Miristato; Citotoxicidad; Genotoxicidad; Estrés Oxidativo.

INTRODUCCIÓN

La nanomedicina es un campo emergente que combina la nanotecnología con la medicina para transformar la atención médica. Su desarrollo ha permitido avances significativos en la investigación biomédica, optimizando la administración dirigida de medicamentos y contribuyendo al progreso de la medicina regenerativa. Además, ofrece nuevas estrategias para el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades.⁽¹⁾

Las nanopartículas (NP) son sistemas innovadores, con un tamaño que varía entre 1 y 100 nm, diseñados para la administración de fármacos y agentes de diagnóstico. Sus propiedades únicas pueden modificar significativamente el destino de los fármacos en el organismo, ya que actúan como vehículos especializados que prolongan su circulación y favorecen su acumulación en órganos específicos.⁽²⁾ Existen diversos tipos de NP, entre ellas, nanopartículas lipídicas, micelas poliméricas, polimerosomas, dendrímeros y liposomas. Además, su capacidad para transportar múltiples fármacos las convierte en candidatas óptimas para la terapia combinada, una estrategia clave para enfrentar la resistencia a los fármacos.⁽³⁾

Las nanopartículas lipídicas (LNP) representan un tipo de nanotransportador basado en lípidos utilizado para la administración de fármacos o ácidos nucleicos con propiedades hidrófobas o hidrófilas. Su versatilidad las hace aplicables en diversos campos, incluyendo la terapia contra el cáncer y las infecciones bacterianas, la bioimagen, el diagnóstico, la cosmética y la agricultura.⁽⁴⁾

Entre las variantes de las LNP, las nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) destacan por ser sistemas coloidales compuestos de lípidos sólidos a temperatura ambiente y corporal. Estas nanopartículas están formadas por lípidos biodegradables como fase dispersa y un surfactante que actúa como emulsionante, lo que les confiere estabilidad y versatilidad para diversas aplicaciones biomédicas.^(4,5)

Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) presentan diversas ventajas, incluyendo la liberación controlada de fármacos, mayor estabilidad del principio activo, alta eficiencia de carga, capacidad para incorporar compuestos lipofílicos e hidrofílicos, biocompatibilidad y viabilidad para producción a gran escala.^(6,7) Debido a estas propiedades, las SLNs han sido investigadas en múltiples aplicaciones terapéuticas, como el tratamiento del cáncer, el uso de antimicrobianos y el abordaje de enfermedades del sistema nervioso central, entre otras.⁽⁸⁾

Para avanzar hacia su uso clínico, es fundamental evaluar la toxicidad y biocompatibilidad de las SLNs mediante estudios *in vitro*. Sin embargo, la información disponible sobre su perfil toxicológico sigue siendo limitada.⁽⁹⁾ La biocompatibilidad de estas nanopartículas puede analizarse a través de ensayos de citotoxicidad, genotoxicidad y estrés oxidativo en modelos celulares.⁽⁵⁾ Se ha propuesto que sus posibles efectos tóxicos podrían estar relacionados con la disrupción de membranas, alteraciones en el potencial de membrana, oxidación de proteínas, interferencia en la transmisión de energía, formación de especies reactivas de oxígeno y la liberación de componentes tóxicos.⁽¹⁰⁾

Por ello, en el presente estudio se evaluará la biocompatibilidad de diferentes concentraciones de nanopartículas lipídicas sólidas de miristil miristato (SLN de MM) en células humanas, utilizando ensayos de citotoxicidad, genotoxicidad y estrés oxidativo.

MÉTODO

Elaboración de las nanopartículas lipídicas

Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) fueron preparadas utilizando miristato de miristilo (Crodamol™ MM), donado por Croda (Argentina). Se fundieron 400 mg de lípido (2,00 % p/v) en un baño de agua a 60-70 °C. Luego de 10 minutos, se añadió a la fase lipídica una solución acuosa caliente (20 ml) que contenía 3,00 % (p/v) de Pluronic® F68. Inmediatamente, la mezcla se sometió a sonicación durante 30 minutos (50 % de

amplitud), utilizando un procesador ultrasónico (130 W, Cole-Parmer, EE. UU.) equipado con una punta de titanio de 6 mm. Finalmente, la dispersión se enfrió a temperatura ambiente y se almacenó a 4 °C.

Caracterización de las nanopartículas lipídicas

El diámetro medio y la distribución del tamaño de las nanopartículas se determinaron mediante espectroscopia de correlación de fotones (PCS) utilizando un Nano ZS Zetasizer (Malvern Instruments Corp, Reino Unido) a 25 °C. El potencial zeta se midió mediante anemometría Doppler láser con el mismo equipo, empleando longitudes de trayectoria de 10 nm. También se calculó el índice de polidispersidad (PDI). La estabilidad física del sistema se evaluó monitorizando cambios en el tamaño medio y el potencial zeta durante el almacenamiento a 4 °C en oscuridad por un período máximo de tres meses.

Selección de las concentraciones de SLNs de MM

Las concentraciones utilizadas se seleccionaron con base en la literatura disponible. Se establecieron cinco concentraciones seriadas (18,75; 37,50; 75,00; 150,00 y 300,00 µg/ml), con las cuales se realizaron ensayos *in vitro*. La selección se fundamentó en estudios previos^(11,12,13) y en la revisión de Doktorovova.⁽¹⁴⁾

Obtención de muestras de sangre humana

Se recolectaron muestras de sangre (10 ml) de tres individuos clínicamente sanos (25-35 años) mediante venopunción con jeringa estéril heparinizada, previo consentimiento informado. Los participantes declararon no padecer enfermedades infecciosas ni estar bajo tratamiento médico y/o farmacológico en los tres meses previos a la toma de muestra. Se separó 1 ml de sangre para la cuantificación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs), mientras que el volumen restante se utilizó para el aislamiento de linfocitos, sobre los cuales se realizaron ensayos de citotoxicidad y genotoxicidad.

Obtención y exposición de linfocitos a las SLNs de MM

Los linfocitos se aislaron mediante separación por gradiente de densidad utilizando Ficoll tipo F-P (Sigma Co.). Posteriormente, las células se cultivaron en placas de 96 pocillos con medio RPMI-1 640 suplementado con 10 % de suero fetal bovino (SFB) y antibióticos. Las células fueron expuestas a las distintas concentraciones de SLNs (0,00; 18,75; 37,50; 75,00; 150,00; 300,00 µg/ml) durante 24 y 48 horas en una incubadora a 37° C con 5 % de CO₂ y humedad controlada.

Evaluación de citotoxicidad mediante ensayo de MTT

La citotoxicidad de las SLNs de MM se evaluó mediante el ensayo de MTT. Tras la exposición de los linfocitos a las distintas concentraciones durante 24 y 48 horas, se centrifugaron a 2 500 rpm, se descartó el sobrenadante y se resuspendieron en 100 µl de RPMI-1 640 fresco. Se añadieron 10 µl de una solución de MTT (1 mg/ml) y las células se incubaron protegidas de la luz a 37° C con 5 % de CO₂ durante 4 horas. Luego, se agregaron 50 µl de dimetilsulfóxido (DMSO) para disolver los cristales de formazán, y la absorbancia se midió a 560 nm mediante espectrofotometría.

Ensayo Cometa (Electroforesis alcalina en células individuales)

El ensayo Cometa se realizó en linfocitos expuestos a SLNs de MM con una viabilidad superior al 85 %. Se siguió el método descrito por Singh et al.⁽¹⁵⁾ Los linfocitos de cada tratamiento se mezclaron con 75 µl de agarosa de bajo punto de fusión (0,75 % en agua destilada a 37 °C) y se depositaron en portaobjetos previamente recubiertos con una capa de agarosa de punto de fusión normal (0,75 %). Posteriormente, se añadió otra capa de agarosa de bajo punto de fusión y se cubrieron con cubreobjetos.

Tras la solidificación, los portaobjetos se sumergieron en solución de lisis fría (NaCl 2,5 M, EDTA 100 mM, Tris 10 mM pH 10, Tritón X-100 al 1 % y DMSO al 10 %) a 4° C durante al menos 1 hora. Luego, se transfirieron a una cubeta de electroforesis con solución alcalina (NaOH 300 mM, EDTA 1 mM, pH 13) y se incubaron en oscuridad a 4° C durante 20 minutos para el desenrollamiento del ADN. La electroforesis se realizó a 30 V y 250 mA durante 25 minutos. Finalmente, las muestras se tiñeron con 50 µl de bromuro de etidio (20 µg/ml) y se capturaron imágenes de al menos 100 células por tratamiento, analizadas con el software CometScore™.

Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs)

La cuantificación de TBARs se realizó según el método descrito por Buege & Aust⁽¹⁶⁾, modificado por Marcincak et al.⁽¹⁷⁾ Se analizaron muestras de 1 ml de sangre de los tres donantes, expuestas a diferentes concentraciones de SLNs de MM durante 4 horas a 37° C en incubadora. El malondialdehído (MDA) se utilizó como referencia, obteniéndose por hidrólisis del 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP). La lectura se realizó a 535 nm en un espectrofotómetro (Metrolab 1600 DR).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron mediante Modelos Lineales Generalizados. Para comparar los tratamientos, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples LSD de Fisher. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando RStudio, versión 1.1.463.

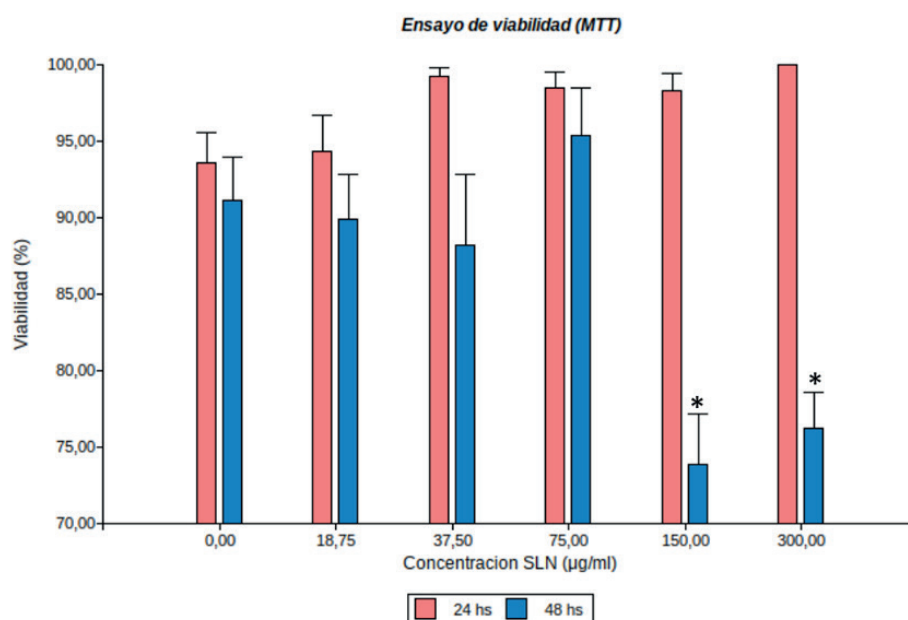
RESULTADOS

Caracterización y estabilidad de las SLNs de MM

Las nanopartículas lipídicas sólidas de miristil miristato (SLNs de MM) presentaron un diámetro medio de 118 nm, con un índice de polidispersión (PDI) inferior a 0,2 y un potencial zeta de -4,0 mV, indicando una distribución homogénea de tamaño y una estabilidad coloidal adecuada. Durante el almacenamiento a 4° C por un período de tres meses, no se detectaron cambios significativos en sus características físicas, lo que sugiere una buena estabilidad del sistema.

Evaluación de la viabilidad celular

La exposición de linfocitos humanos a diferentes concentraciones de SLNs de MM (0,00; 18,75; 37,50; 75,00; 150,00; 300,00 µg/ml) durante 24 horas mostró una supervivencia celular superior al 90 % en todas las condiciones evaluadas. Sin embargo, tras 48 horas de exposición, se observó una disminución en la viabilidad celular en las concentraciones más altas (150,00 y 300,00 µg/ml), con valores inferiores al 85 % (figura 1).



Nota: Las barras rojas corresponden a las 24 horas de exposición de los linfocitos a las distintas concentraciones de SLNs de MM y el color azul a las 48 horas de exposición de los linfocitos a las distintas concentraciones de SLNs de MM. $*=p \leq 0,05$

Figura 1. Viabilidad expresada en porcentaje (%) de linfocitos humanos expuestos a distintas concentraciones de SLNs de MM (µg/ml)

Dado que las células expuestas durante 24 horas presentaron los niveles más altos de viabilidad, se decidió realizar el ensayo Cometa exclusivamente en estas condiciones experimentales.

Cuantificación de Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARs)

Los resultados del ensayo de cuantificación de TBARs se presentan en la Figura 2. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las distintas concentraciones evaluadas, lo que sugiere que la exposición a SLNs de MM no indujo cambios relevantes en los niveles de peroxidación lipídica en los linfocitos tratados.

Evaluación del daño al ADN mediante el ensayo Cometa

La figura 3 muestra los resultados del ensayo Cometa para la cuantificación de daño al ADN en linfocitos humanos expuestos a diferentes concentraciones de SLNs de MM. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de Tail Moment, lo que indica que la exposición a estas nanopartículas no generó un aumento detectable en el daño genotóxico bajo las condiciones experimentales empleadas.

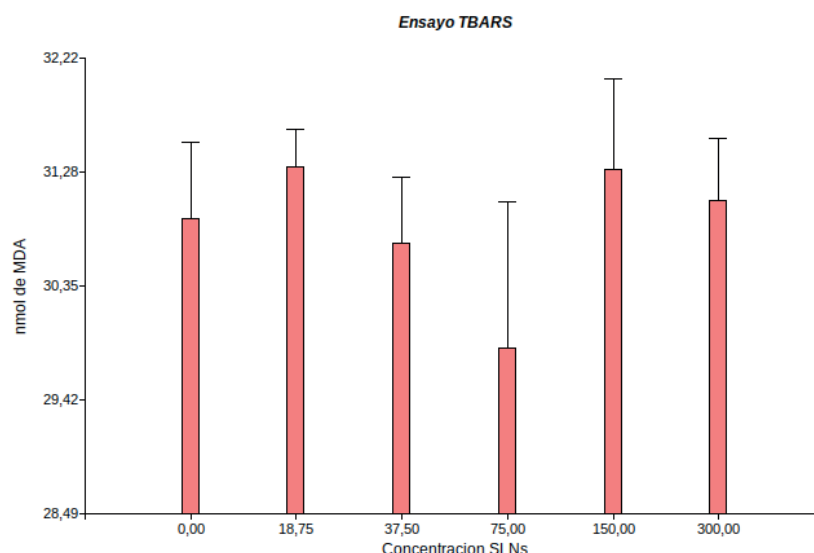


Figura 2. Nanomoles de MDA en células sanguíneas expuestas a distintas concentraciones de SLNs de MM (µg/ml) durante 4 horas

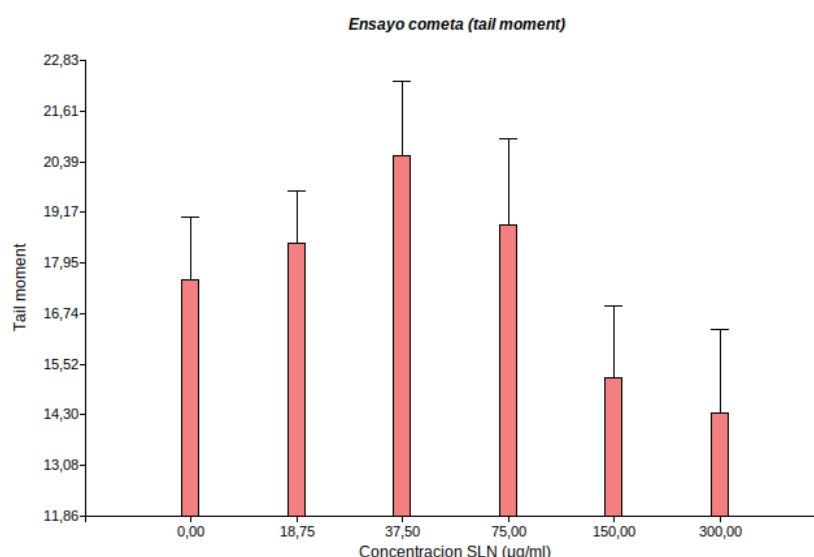


Figura 3. Tail moment en linfocitos expuestos a distintas concentraciones de SLNs de MM (µg/ml)

DISCUSIÓN

Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) han ganado gran interés en la industria farmacéutica como sistemas de administración de fármacos, ofreciendo ventajas sobre otros nanovehículos como emulsiones, liposomas y polímeros.⁽¹⁸⁾ En este estudio, se evaluó la biocompatibilidad de un sistema específico de SLNs de MM en linfocitos humanos mediante ensayos *in vitro*.

La viabilidad celular es uno de los ensayos más utilizados para determinar la biocompatibilidad de las SLNs.⁽¹⁴⁾ En nuestro estudio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la viabilidad celular tras 24 horas de exposición a distintas concentraciones de SLNs de MM (18,75-300,00 µg/ml), en comparación con el grupo control. Sin embargo, tras 48 horas, las concentraciones más altas (150 y 300 µg/ml) mostraron una disminución de la viabilidad por debajo del 85 %, lo que sugiere un posible efecto dependiente del tiempo y la dosis.

Estos resultados son consistentes con los reportados por Ridolfi et al.⁽¹⁹⁾, quienes evaluaron la citotoxicidad de SLNs de MM en líneas celulares 3T3 y HaCaT, observando una viabilidad entre 70 % y 100 % después de 24 horas de exposición, con una notable reducción a concentraciones de 500 µg/ml.

Dado que la viabilidad celular fue superior al 85 % a las 24 horas, el ensayo Cometa se realizó exclusivamente en estas condiciones experimentales. Los resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de daño al ADN en ninguna de las concentraciones evaluadas.

Estos resultados coinciden también con los reportados por Doktorovova et al.⁽¹⁴⁾, quienes evaluaron la genotoxicidad de diferentes formulaciones de nanopartículas lipídicas sólidas catiónicas (cSLN) en células HepG2 y Caco-2 mediante el ensayo Cometa. Los autores observaron que, en concentraciones inferiores a 1 mg/ml, las cSLN no inducían un aumento significativo en el daño al ADN. Sin embargo, a concentraciones citotóxicas, se evidenció un incremento de genotoxicidad, lo que sugiere que la fragmentación del ADN podría estar relacionada con procesos de muerte celular más que con un daño genotóxico directo.

Los hallazgos obtenidos en este estudio son también coherentes con revisiones recientes sobre la genotoxicidad de nanomateriales. Fessard y Nesslany⁽²⁰⁾, señalaron que múltiples estudios utilizando el ensayo Cometa no han detectado daño genético significativo en células expuestas a nanopartículas en concentraciones no citotóxicas. Asimismo, Valdiglesias et al.⁽²¹⁾ destacaron que la toxicidad de las nanopartículas depende de su composición y del tipo de recubrimiento, siendo las formulaciones biocompatibles, como las SLNs menos propensas a inducir daño al ADN.

El ensayo de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones evaluadas, sugiriendo que las SLNs de MM no inducen un aumento en la peroxidación lipídica en linfocitos humanos. Sin embargo, diversos estudios han señalado que las nanopartículas lipídicas podrían modular el estado oxidativo celular.

Por ejemplo, Kyadarkunte et al.⁽²²⁾, reportaron que células HaCaT expuestas a idebenona-SLN presentaron casi un 100 % de viabilidad en concentraciones de 1-10 μ M, aunque esta se redujo al 80 % cuando las células fueron tratadas con SLNs no cargadas. Se ha reportado que las SLNs catiónicas pueden inducir estrés oxidativo severo en células HepG2, un efecto atribuido a la presencia de CTAB, un surfactante catiónico con capacidad para generar daño oxidativo.⁽²³⁾ Para reducir este efecto, se ha propuesto el uso de surfactantes aniónicos o la inclusión de antioxidantes en la formulación, lo que podría prevenir la acumulación intracelular de ROS y sus efectos perjudiciales sobre macromoléculas celulares como ADN, proteínas y lípidos de membrana.

Las nanopartículas pueden generar diferentes efectos biológicos dependiendo de su capacidad para liberar iones, su actividad catalítica y su potencial redox, mecanismos que han sido relacionados con su posible toxicidad.⁽²⁴⁾ Se ha demostrado que las nanopartículas de plata, por ejemplo, pueden inducir toxicidad de manera dependiente del tamaño debido a la liberación de iones Ag⁺, los cuales pueden causar daño celular y estrés oxidativo, afectando funciones mitocondriales y promoviendo inflamación. Estrategias como la funcionalización de la superficie con recubrimientos lipídicos han demostrado reducir la liberación de iones metálicos y, con ello, mitigar su toxicidad.⁽²⁵⁾

Los resultados obtenidos sugieren que la formulación de SLNs de MM presenta una alta biocompatibilidad con linfocitos humanos. Esta característica se debe tanto a la naturaleza de los lípidos empleados como al uso de surfactantes no iónicos (TWEEN 80), que minimizan la toxicidad celular. Sin embargo, es importante considerar que la biocompatibilidad de las SLNs puede variar en función de su composición lipídica y tipo de surfactante, lo que resalta la necesidad de estudios específicos para cada formulación. Dado el creciente desarrollo de nanomedicinas, es crucial diseñar formulaciones seguras para su aplicación clínica, asegurando que sus componentes sean biológicamente no tóxicos y minimicen el impacto ambiental.

CONCLUSIONES

A partir del análisis de los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que las nanopartículas lipídicas sólidas de miristil miristato (SLNs de MM) presentan alta biocompatibilidad con células eucariotas en un modelo *in vitro*, al menos en exposiciones de hasta 24 horas. Estos hallazgos sugieren que, en las condiciones evaluadas, las SLNs de MM no representan un riesgo significativo para su aplicación biomédica. Las principales evidencias que respaldan esta conclusión son:

Viabilidad celular: no se observó una reducción significativa en la viabilidad de linfocitos humanos tras 24 horas de exposición a concentraciones de 18,75; 37,50; 75,00; 150,00 y 300,00 μ g/ml en comparación con el grupo control (0,00 μ g/ml). A 48 horas, las concentraciones de 150,00 y 300,00 μ g/ml mostraron una disminución en la viabilidad celular por debajo del 85 %, un efecto similar al reportado en estudios previos con nanopartículas no cargadas y surfactantes no catiónicos.

Genotoxicidad: no se detectó daño genético significativo en linfocitos humanos expuestos a concentraciones de 18,75; 37,50; 75,00; 150,00 y 300,00 μ g/ml durante 24 horas, según los resultados del ensayo Cometa. Aunque García et al. concluyen que las SLNs tienen un riesgo genotóxico bajo, la mayoría de los estudios previos no utilizaron electroforesis alcalina fluorescente (ensayo Cometa), una técnica altamente sensible para la cuantificación del daño genético.

Estos resultados refuerzan la viabilidad de las SLNs de MM como potenciales sistemas de administración de fármacos. No obstante, futuros estudios son necesarios para evaluar su seguridad en exposiciones prolongadas y en modelos *in vivo*, considerando factores como la acumulación, metabolización y eliminación de las nanopartículas en organismos completos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Park G, Annaev M, Zhang KK, Lee H. Consideration of nanomedicine, its past and future, and its application possibilities. *J Med Imaging*. 2023;6(1):27-34. <https://doi.org/10.31916/sjmi2023-01-04>
2. Meng X, Zhu G, Yang YG, Sun T. Targeted delivery strategies: The interactions and applications of nanoparticles in liver diseases. *Biomed Pharmacother*. 2024;175:116702. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116702>
3. Singh R, Long FR, Kakkar A. Nano-bio interactions and drug delivery using soft nanoparticles: A new paradigm in pharmaceutical cargo release. *RSC Pharmaceutics*. 2024;2(1):44-58. <https://doi.org/10.1039/d4pm00170b>
4. Shahzad A, Teng Z, Yameen M, Liu W, Cui K, Liu X, et al. Innovative lipid nanoparticles: A cutting-edge approach for potential renal cell carcinoma therapeutics. *Biomed Pharmacother*. 2024;180:117465. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.117465>
5. Viegas C, Patrício AB, Prata JM, Nadhman A, Chintamaneni PK, Fonte P. Solid lipid nanoparticles vs. nanostructured lipid carriers: A comparative review. *Pharmaceutics*. 2023;15(6). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061593>
6. Zhao B, Gu S, Du Y, Shen M, Liu X, Shen Y. Solid lipid nanoparticles as carriers for oral delivery of hydroxysafflor yellow A. *Int J Pharm*. 2018;535(1-2). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.10.040>
7. Musielak E, Feliczak-Guzik A, Nowak I. Optimization of the conditions of solid lipid nanoparticles (SLN) synthesis. *Molecules*. 2022;27(7). <https://doi.org/10.3390/molecules27072202>
8. Scioli Montoto S, Muraca G, Ruiz ME. Solid lipid nanoparticles for drug delivery: Pharmacological and biopharmaceutical aspects. *Front Mol Biosci*. 2020;7. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.587997>
9. Dhiman N, Awasthi R, Sharma B, Kharkwal H, Kulkarni GT. Lipid nanoparticles as carriers for bioactive delivery. *Front Chem*. 2021;9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.580118>
10. Bailon-Moscoso N, Romero-Benavides JC. Genotoxicidad de los nanomateriales, grandes discrepancias y desafíos. *Rev Toxicol*. 2016;33(1)
11. Barbosa MC, Aiassa D, Mañas F. Evaluación de daño al ADN en leucocitos de sangre periférica humana expuestos al herbicida glifosato. *Rev Int Contam Ambient*. 2017;33(3):403-10. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.03.04>
12. Le Roux G, Moche H, Nieto A, Benoit JP, Nessler F, Lagarce F. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid nanocapsules. *Toxicol In Vitro*. 2017;41:189-99. <https://doi.org/10.1016/J.TIV.2017.03.007>
13. Radhakrishnan R, Kulhari H, Pooja D, Gudem S, Bhargava S, Shukla R, Sistla R. Encapsulation of biophenolic phytochemical EGCG within lipid nanoparticles enhances its stability and cytotoxicity against cancer. *Chem Phys Lipids*. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2016.05.006>
14. Doktorovova S, Silva AM, Gaivão I, Souto EB, Teixeira JP, Martins-Lopes P. Comet assay reveals no genotoxicity risk of cationic solid lipid nanoparticles. *J Appl Toxicol*. 2014;34(4):395-403. <https://doi.org/10.1002/JAT.2961>
15. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*. 1988;175(1):184-91. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3345800>
16. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52(C):302-10. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6)
17. Marcincak S, Sokol J, Turek P, Rozanska H, Dicakova Z, Mate D, et al. Comparative evaluation of analytical techniques to quantify malondialdehyde in broiler meat. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 2003;47(2):491-6.

18. Stahl MA, Lüdtke FL, Grimaldi R, Gigante ML, Ribeiro APB. Characterization and stability of solid lipid nanoparticles produced from different fully hydrogenated oils. Food Res Int. 2024;176:113821. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2023.113821>
19. Ridolfi DM, Marcato PD, Machado D, Silva RA, Justo GZ, Durán N. In vitro cytotoxicity assays of solid lipid nanoparticles in epithelial and dermal cells. J Phys Conf Ser. 2011;304:11-5. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/304/1/012032>
20. Fessard V, Nesslany F. From basic research to new tools and challenges for the genotoxicity testing of nanomaterials. Nanomaterials. 2020;10(10):1-3. <https://doi.org/10.3390/nano10102073>
21. Valdiglesias V. Cytotoxicity and genotoxicity of nanomaterials. Nanomaterials. 2022;12(4). <https://doi.org/10.3390/nano12040634>
22. Kyadarkunte AY, Patole MS, Pokharkar VB. Cellular interactions and photoprotective effects of idebenone-loaded nanostructured lipid carriers stabilized using PEG-free surfactant. Int J Pharm. 2015;479(1):77-87. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.11.020>
23. Xue HY, Liu S, Wong HL. Nanotoxicity: A key obstacle to clinical translation of siRNA-based nanomedicine. Nanomedicine. 2014;9(2):295-312. <https://doi.org/10.2217/nnm.13.204>
24. Sufian MM, Khattak JZK, Yousaf S, Rana MS. Safety issues associated with the use of nanoparticles in human body. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2017;19:67-72. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.05.012>
25. Cunningham B, Engstrom AE, Harper BJ, Harper SL, Mackiewicz MR. Silver nanoparticles stable to oxidation and silver ion release show size-dependent toxicity in vivo. Nanomaterials. 2021;11(6). <https://doi.org/10.3390/nano11061516>

FINANCIACIÓN

Este estudio fue financiado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Agradecemos el apoyo de Croda (Argentina) por la donación de miristato de miristilo (Crodamol™ MM).

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

Conceptualización: Fernando Mañas, Ignacio Velzi, María Paula Tonini, Germán Islan.

Adquisición de fondos: Fernando Mañas, Noelia Cariddi.

Investigación: Ignacio Velzi, María Paula Tonini.

Metodología: Ignacio Velzi, Dardo Roma, Noelia Campa.

Administración del proyecto: Fernando Mañas, Noelia Cariddi.

Recursos: Germán Islan.

Redacción - borrador original: Ignacio Velzi.

Redacción - revisión y edición: Fernando Mañas.