

## Capítulo 10

# APLICACIONES DE LA NANOTECNOLOGÍA EN EL CAMPO DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD

**Sabino Menolasina\***

Laboratorio de Investigaciones Electroquímicas  
Facultad de Farmacia y Bioanálisis  
Mérida. Venezuela

## CONTENIDO

<b>10.1. Introducción .....</b>	<b>247</b>
<b>10.2. Nanodiagnóstico .....</b>	<b>247</b>
<i>10.2.1. Agentes y marcadores de contraste</i>	
- <i>Nanopartículas semiconductoras o puntos cuánticos</i>	
- <i>Nanopartículas metálicas, magnéticas y super-paramagnéticas</i>	
- <i>Nanopartículas orgánicas biodegradables</i>	
<i>10.2.2. Nanobiosensores</i>	
- <i>Biosensores ópticos (fotónicos y plasmónicos)</i>	
- <i>Biosensores nanomecánicos</i>	
- <i>Biosensores nano-electroquímicos</i>	
<b>10.3. Liberación controlada de fármacos (nanoterapia) .....</b>	<b>260</b>
<i>10.3.1 Nanopartículas metálicas</i>	
<i>10.3.2. Nanopartículas magnéticas</i>	
<i>10.3.4. Nanopartículas inorgánicas</i>	
<i>10.3.5. Nanopartículas orgánicas</i>	
<b>10.4. Reparación de tejidos .....</b>	<b>266</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>268</b>

---

\* [sabino@ula.ve](mailto:sabino@ula.ve)



## 10.1. Introducción

En los últimos quince años se ha incrementado considerablemente la investigación de nanomateriales (NMs), en primer lugar debido a los avances tecnológicos de que se dispone y en segundo lugar, a las propiedades fisicoquímicas que presentan los materiales en la nanoescala<sup>1,2</sup>. Con frecuencia en dicha escala, los materiales tienen diferentes propiedades físicas y químicas, únicas, con respecto a los de gran tamaño.

La nanotecnología constituye la revolución científica y tecnológica del presente siglo. Es la ciencia que se encarga del estudio, diseño, síntesis, manipulación y aplicación de materiales a escala nanométrica y de la explotación de los fenómenos y propiedades de dichos NMs<sup>3</sup>.

La medicina se presenta como un mercado potencial de la nanotecnología, con aplicaciones tan revolucionarias que podrían lograr incluso la cura del cáncer, tratar las enfermedades según las características específicas de los pacientes y lograr una mejoría más que sustancial en el modo de vida de la población.

La aplicación de la nanotecnología al campo de ciencias de la salud da origen a la nanomedicina, la cual, debido a sus importantes aplicaciones diagnósticas y terapéuticas, se perfila como la rama nanotecnológica con mayor proyección en un futuro próximo. El desarrollo de la nanomedicina tendrá implicaciones económicas muy importantes en los próximos años. Se estima que el mercado mundial de nanosistemas de liberación de fármacos, de regeneración de tejidos y de diagnóstico superará los 100 billones de euros<sup>3</sup>.

En la actualidad, la humanidad está experimentando un progresivo aumento de graves enfermedades tales como la diabetes, las enfermedades neuro-degenerativas (Alzheimer y Parkinson), el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. Para la mayoría de estas enfermedades no existen tratamientos definitivos y se requieren nuevos métodos terapéuticos y de diagnósticos más rápidos, eficaces y específicos que los actuales y que, además, reduzcan al mínimo los costos implicados. Realmente, se requiere de una auténtica revolución en algunos campos de la medicina, tales como: monitorización, diagnóstico, control de la evolución, tratamiento y prevención de las enfermedades, administración de medicamentos a las células y reparación de tejidos, entre otros. La nanomedicina se muestra como una alternativa bastante prometedora para llevar a cabo los cambios en los campos de la medicina antes descritos.

Los avances científicos más significativos dentro de la nanomedicina se encuentran agrupados en tres áreas principales: el nanodiagnóstico, la liberación controlada de fármacos (nanoterapia) y la medicina regenerativa<sup>4</sup>.

## 10.2. Nanodiagnóstico

El uso de la nanotecnología en el diagnóstico médico en los últimos años ha permitido reforzar hipótesis diagnósticas, excluir una enfermedad o reducir sus posibilidades y también pesquisar o rastrear enfermedades asintomáticas.

Entre los avances científicos más significativos dentro del área del nanodiagnóstico se tienen a los nanosistemas de diagnóstico *in vivo* e *in vitro*<sup>4</sup>. A través de estos nanosistemas se pueden detectar enfermedades o un mal funcionamiento celular en los primeros estadios,

permitiendo con ello una más rápida aplicación del tratamiento adecuado a una enfermedad específica (como los procesos de metástasis en cáncer) o reparación de tejidos u órganos dañados, incrementándose así las posibilidades de recuperación.

En los nanosistemas de diagnóstico utilizados *in vivo*, la biocompatibilidad del material utilizado es de vital importancia ya que una vez adentro del cuerpo humano su función será detectar un determinado patógeno o células cancerígenas sin que su respuesta sea afectada por las defensas del organismo invadido. Además, un factor clave a la hora de desarrollar los nanosistemas de diagnóstico utilizados *in vivo* para aplicaciones biomédicas es su estabilidad en condiciones fisiológicas. Esta estabilidad se consigue con una funcionalización apropiada de estos nanosistemas. En este campo muchas investigaciones se están realizando en cuanto al diseño de estos dispositivos.

Por otro lado, los sistemas de diagnóstico *in vitro* presentan una mayor flexibilidad de diseño, ya que se pueden aplicar a muestras muy reducidas de fluidos corporales o de tejido, a partir de los cuales se puede llevar a cabo una detección específica en tiempos relativamente cortos, con gran precisión y sensibilidad.

Entre estos nanosistemas de diagnóstico *in vivo* e *in vitro*, se tienen:

- Agentes y marcadores de contraste: nanopartículas (NPs) semiconductoras (QDs), metálicas, magnéticas, super-paramagnéticas y NPs orgánicas biodegradables.
- Nanobiosensores

A continuación se describirán estos nanosistemas y se darán algunos ejemplos de los que se están desarrollando y perfeccionando en el campo del nanodiagnóstico.

#### *10.2.1. Agentes y marcadores de contraste*

En paralelo al desarrollo de las técnicas de imagen, en la actualidad se ha venido creando una nueva generación de trazadores y agentes de contraste para incrementar la sensibilidad y dar mayor contraste en las técnicas de imagen a partir de NPs sintéticas y biológicas. Debido a las propiedades fisicoquímicas que presentan los NMs<sup>1,2</sup>, el desarrollo de nanodispositivos como agentes de contraste en la imagenología médica, tiene claras ventajas sobre los agentes tradicionales utilizados en el diagnóstico de enfermedades, tales como: mejor dispersión óptica, incremento de la biocompatibilidad, disminución en la probabilidad de desnaturalización y especialmente, su capacidad de unirse a ligandos, lo cual los convierte en dispositivos con múltiples funciones que se unen a las células diana, permitiendo simultáneamente la imagen para el diagnóstico y el transporte de medicamentos hacia sitios determinados, consiguiendo así, un tratamiento específico y eficiente.

El diseño de NPs para diagnóstico *in vivo* busca mejorar los niveles de contraste necesario para obtener una imagen, el cual se puede basar en distintos tipos de propiedades. Sin embargo, sea cual sea el tipo de NPs utilizadas, se deben tener en cuenta una serie de cuestiones generales. Dado que el objetivo suele ser el reconocimiento de una anomalía en un órgano específico, las NPs deben permanecer estables hasta llegar a su destino, reconocerlo de forma selectiva e, idealmente, eliminarse del organismo una vez realizada su función, a fin de evitar efectos secundarios.

Entre los sistemas de NPs que se han propuesto para aplicaciones de marcaje celular e identificación de zonas afectadas o tumores se encuentran, los puntos cuánticos, las NPs metálicas, magnéticas, super-paramagnéticas y las NPs poliméricas biodegradables.

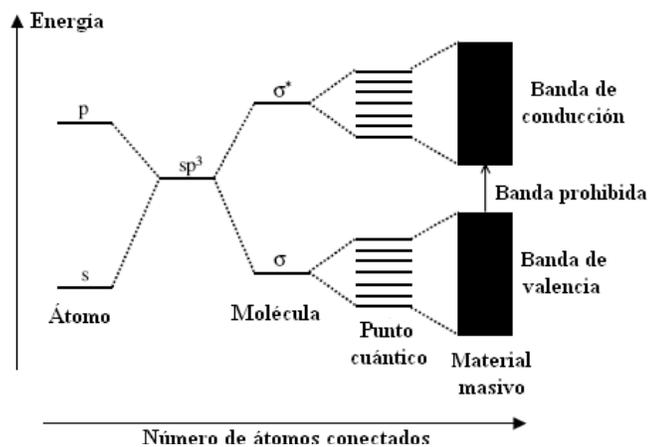
Estas NPs pueden ser funcionalizadas con cientos de marcadores de una sola vez, permitiendo una amplificación sustancial de la señal. Por otro lado, una nanopartícula puede ser marcada con diferentes ligandos, lo cual conduce a un aumento en la relación afinidad/especificidad, en el tejido diana.

Por lo tanto, los nanodispositivos como agentes de contraste pueden diseñarse para ser dirigidos a alguna diana biológica relevante para la determinación de enfermedades, consiguiendo un diagnóstico más temprano, específico y preciso.

A diferencia de otras modalidades de imágenes donde lo que se detecta es la nanopartícula en sí, las imágenes de NPs marcadas se basan en la detección de la radiación. Con ello se puede conocer de forma indirecta la posición de las NPs y la información acerca de la eficacia del acoplamiento y la biodistribución de los nanofármacos en los tumores. A continuación se hará una descripción de estas nanopartícula sintéticas:

NPs semiconductoras o QDs: cuando a un material semiconductor se le reduce su tamaño a unos pocos nanómetros, sus propiedades físico-químicas cambian debido a que su estructura electrónica cambia, de tal manera que se pierde la característica estructural de las bandas y surgen niveles electrónicos discretos (figura 10.1)<sup>5</sup>.

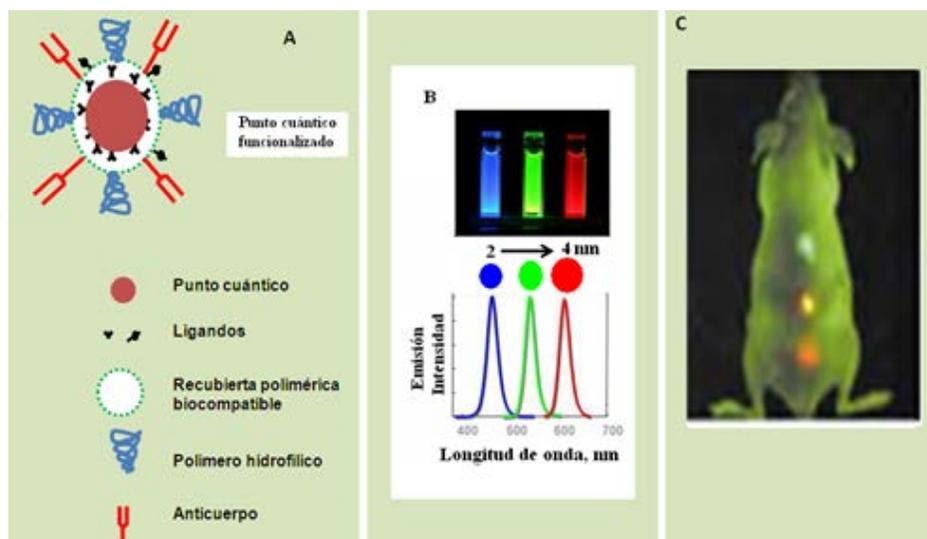
Estas NPs semiconductoras, generalmente están compuestas de elementos de los grupos II-VI y III-V, las cuales, debido a su confinamiento cuántico de cargas en un diminuto espacio muestran unas propiedades fluorescentes únicas: espectros de emisión estrechos, rendimiento cuántico alto, espectros de absorción anchos, buena estabilidad química, alta fotoestabilidad y longitudes de onda de emisión dependientes del tamaño, cuyo rango de emisión puede ampliarse hasta la región NIR (infrarrojo cercano) o IR (infrarrojo), permitiendo una mayor penetración en tejido para una mejor imagen<sup>6</sup>.



**Fig. 10.1:** Niveles electrónicos de energía dependen del número total de átomos ligados. Figura adaptada de Alivisatos<sup>5</sup>.

Por ejemplo, el hecho de que las NPs semiconductoras, también llamadas puntos cuánticos, presenten espectros de absorción anchos, permite la excitación al mismo tiempo de QDs cuya emisión se encuentran a diferentes longitudes de onda. Gracias a que estas bandas son muy estrechas, es posible resolverlas y relacionar cada longitud de emisión con un analito<sup>6</sup>. Ambas propiedades son de gran valor para lograr llevar a cabo ensayos multianalito, empleando distintos QDs de diferentes tamaños como indicadores de distintos analitos en una muestra dada. Hoy en día, los ensayos multianalitos están cobrando mucha relevancia, ya que la determinación simultánea de diferentes marcadores en muestras biológicas permite un diagnóstico más preciso y más rápido. Además se reduce el volumen de muestra necesario (en muestras biológicas muchas veces se dispone de cantidades muy pequeñas), así como el tiempo de análisis. Sin embargo, a pesar de las excepcionales propiedades fluorescentes que presentan, estas NPs necesitan ser funcionalizadas con algún tipo de polímero o proteína que las haga biocompatibles y por tanto aptas para su uso *in vivo* (figura 10.2)<sup>4</sup>.

Los QDs han demostrado su utilidad en el diagnóstico molecular de cáncer en estadios tempranos de la enfermedad, debido a su capacidad para localizar específicamente células diana individuales asociadas a diferentes tipos de cáncer<sup>7</sup>. Pueden ser usados en un amplio rango de aplicaciones biológicas, pues una de sus grandes propiedades es su capacidad para ser modificados con un extenso número de moléculas para la optimización de sus funciones y sus aplicaciones particulares, así estas NPs pueden ser utilizadas para el marcaje y localización de proteínas y otras biomoléculas así como de células de interés. Sin embargo, los QDs al ser partículas compuestas por metales pesados, la mayoría de ellos tóxicos, pueden provocar cierto daño si se usan *in vivo*; además, otra de las aparentes limitaciones de los QDs utilizados *in vivo* es la auto fluorescencia de algunos tejidos como el intestino y la piel, o la no penetración de luz a algunos órganos. Dichas limitaciones están siendo resueltas



**Fig. 10.2:** A) Esquema de la funcionalización de un punto cuántico. B) Soluciones de puntos cuánticos de distintos tamaños, con color de fluorescencia característico por cada tamaño. C) Imagen de un experimento en el que se ha inyectado puntos cuánticos y donde se muestra cómo se acumulan en células de órganos dañados. Figura adaptada de Lechuga *et al.*<sup>4</sup>.

por diversos investigadores, quienes han construido QDs que fluorescen en el infrarrojo cercano (700-1000 nm), lo cual hace a estas nanoestructuras atractivas para la obtención de imágenes *in vivo*.

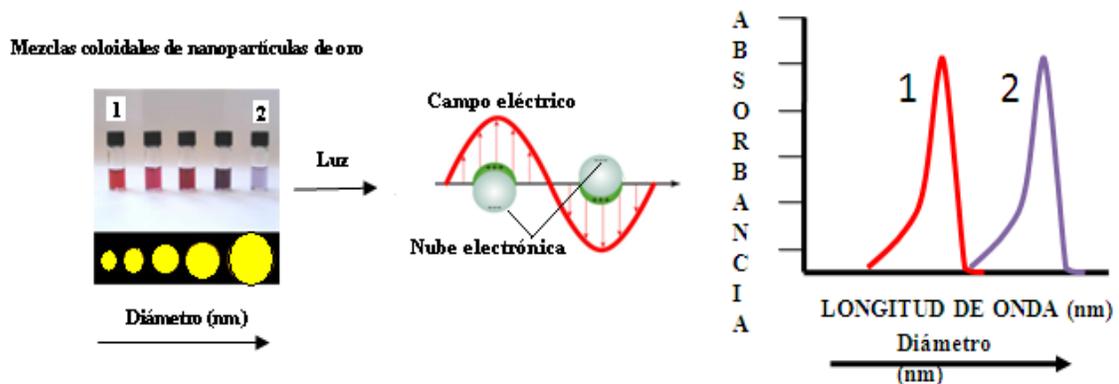
Existe una gran variedad de publicaciones relacionadas con el uso de los QDs como agente de contraste para incrementar la sensibilidad y dar mayor contraste en las técnicas de imagen<sup>6-9</sup>. En la actualidad, algunos agentes de contraste basados en QDs se encuentran disponibles de forma comercial. No obstante, debido a su composición y algunos reportes de toxicidad, el uso potencial de los QDs en seres humanos es aún limitado.

NPs metálicas, magnéticas y super-paramagnéticas: estas NPs muestran una serie de propiedades ópticas y electrónicas inesperadas, resultado del confinamiento de los electrones en un número finito de estados energéticos cuánticos disponibles.

Por ejemplo, las NPs metálicas presentan propiedades ópticas no lineales muy importantes que dependen fundamentalmente del tamaño, la forma y la distribución espacial de las NPs en la muestra<sup>10-12</sup>. Tienen la particularidad de generar bandas de resonancia conocidas como plasmones de superficie localizados cuando interactúan con una señal óptica. Cuando la luz incide sobre las NPs de metales nobles, la zona del espectro cuya frecuencia favorezca la vibración colectiva de electrones inducirá una resonancia en la absorción de la luz. A esta vibración se la conoce como plasmón y al fenómeno de la resonancia con la luz, resonancia localizada de plasmón superficial (efecto LSPR, figura 10.3). La longitud de onda o color a la que se obtiene dicha resonancia se le conoce como banda de absorción o resonancia plasmónica y depende tanto del tamaño como de la forma de las NPs metálicas.

Las NPs metálicas pueden utilizarse como biomarcadores en técnicas de imagen de alta sensibilidad para biomedicina, como por ejemplo las que se necesitan para la detección precoz de tumores cancerígenos.

Aunque pueda parecer extraño, la utilización con fines médicos de metales como el oro no es nueva, sino que se remonta a la antigüedad, existiendo constatación de la utilización de oro coloidal en China en el año 2500 a.C. El descubrimiento por Robert Koch del efecto bacteriostático del cianuro de oro frente al bacilo de la tuberculosis, marca el comienzo de su uso en la medicina moderna siendo introducido en la terapia de la tuberculosis en 1920.



**Fig. 10.3:** Fenómeno de resonancia plasmón (oscilación colectiva de los electrones en la banda de conducción) que experimentan las NPs metálicas y su respuesta característica en la región UV-vis (máximo de absorción).

Actualmente, en la investigación médica a nivel molecular se están utilizando una variedad de NPs para el diagnóstico, entre las que se tienen a las NPs de oro<sup>2,13</sup> y a las NPs magnéticas<sup>14</sup>.

NPs de oro con diámetros  $\leq 13$  nm pueden ser conjugadas con cadenas simples de ADN o anticuerpos, y ser utilizadas como agentes de contraste debido a la capacidad de estas partículas para dispersar la luz visible. Estas NPs funcionalizadas pueden ser detectadas por medio de tomografía foto-acústica.

El uso biomédico de nanoestructuras metálicas (nanocorazas), principalmente de oro, ha sido identificado como un nuevo paradigma de tratamiento contra el cáncer y el diagnóstico. Tienen la ventaja de ser inertes, fáciles de sintetizar y no son tóxicas, aunque las cualidades más revolucionarias que poseen son de tipo óptico, es decir, aumentan la absorción y dispersión de la luz, lo que es de gran utilidad en estudios de imagen para detectar cáncer y en terapias a base de calor. Por ejemplo, se pueden sintetizar NPs de oro que sean muy eficientes absorbiendo o reflejando luz en el infrarrojo cercano (700-900 nm), donde los tejidos son más transparentes, de forma que es posible diseñar métodos de marcaje celular, en una forma similar a lo que se ha descrito para los puntos cuánticos. Uno de los métodos utilizados se denomina tomografía de coherencia óptica (*Optical Coherence Tomography*, OCT), que permite obtener mapas tridimensionales de los tejidos y detectar las zonas en las que se han acumulado las NPs.

Las NPs magnéticas (NPMs) son de gran utilidad en la actualidad, debido a su uso potencial como agentes de contraste en Imagen por Resonancia Magnética (IRM)<sup>14-16</sup>. Esta técnica se basa en la resonancia magnética de los protones en tejidos del cuerpo (membranas, lípidos, proteínas, etc.) y es actualmente uno de los métodos más potentes de diagnosis. Las NPMs tienen un tamaño de 10 a 50 nm y están constituidas por elementos magnéticos, tales como hierro, níquel y cobalto y sus compuestos químicos. Estas NPMs pueden ser conjugadas con anticuerpos o nucleótidos y son visualizadas por medio de resonancia magnética o con tomografía computarizada (figura 10.4).

Las NPMs están siendo utilizadas para mejorar la resonancia magnética y la tomografía axial computarizada (TAC) en las imágenes del cáncer<sup>17</sup>. Las partículas de óxido de hierro super-paramagnéticas tienen una adecuada susceptibilidad y son de rápida absorción hepática tras su administración intravenosa, lo que los hace útiles para la caracterización de los tumores hepáticos. También se han usado como ayuda diagnóstica, para caracterizar el estado de los ganglios linfáticos en pacientes con cáncer de mama, pulmón, próstata, cuello uterino y médula ósea<sup>18</sup>.

El interés de las NPMs deriva fundamentalmente de las propiedades físicas de su núcleo magnético, de su alta relación superficie/tamaño y de la capacidad que poseen para unir moléculas de interés biológico a su superficie. Además, su pequeño tamaño posibilita su interacción con estructuras celulares, ofreciendo una herramienta de trabajo útil para manipular diferentes funciones e interaccionar con estructuras sub-celulares y moleculares. Todas estas propiedades y características, hacen que las NPs magnéticas

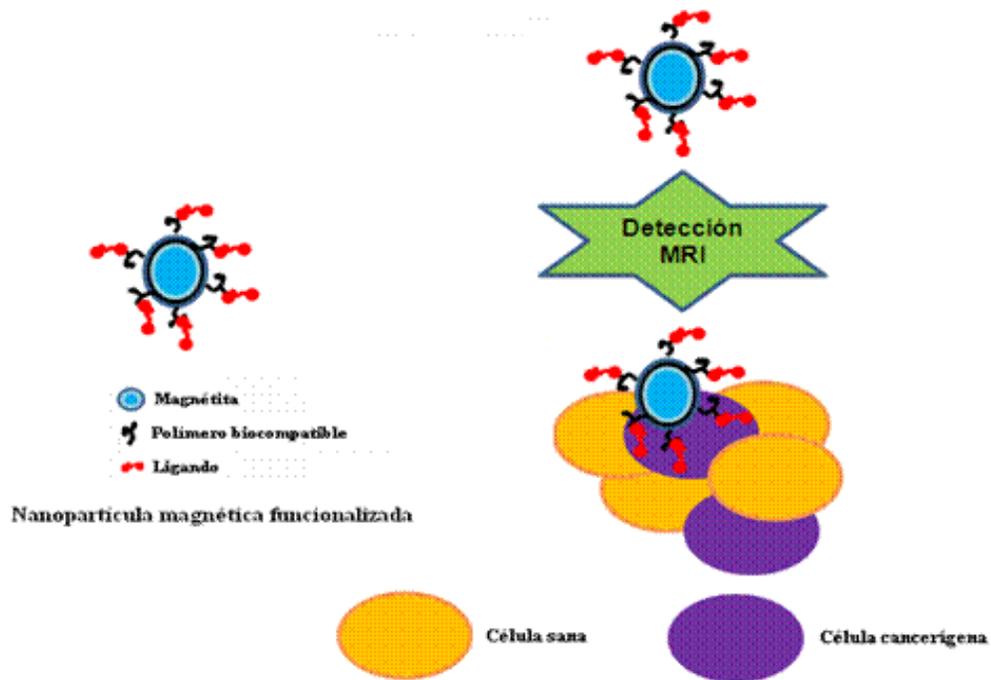


Fig. 10.4: Nanopartícula magnética funcionalizada. Figura adaptada de Liangrong *et al.*<sup>19</sup>.

puedan ser utilizadas como agentes de contraste en imágenes de resonancia magnética (RM) para detectar alteraciones de tejidos y órganos.

Las NPMs podrían sustituir a los marcadores actuales de metales pesados, reduciendo la toxicidad asociada a su empleo. Por ejemplo, el gran interés en la síntesis de NPMs de óxido de hierro viene dado por su alta biocompatibilidad y fácil biodegradación en el organismo. Después de ser metabolizadas, los iones de hierro de estas partículas son añadidos a los depósitos de hierro del organismo y eventualmente son incorporados por los eritrocitos como parte de la hemoglobina. Estas NPMs podrían ser funcionalizadas con anticuerpos tumor-específicos y fluoróforos, a fin de identificar, durante el período intra-operatorio, los tumores, los ganglios linfáticos metastásicos y las micro-metástasis, por ejemplo, del cáncer colorectal mediante el uso de equipos de laparoscopia<sup>19</sup>.

**NPs orgánicas biodegradables:** una de las modalidades imaginológicas con mayor aceptación y uso en el ámbito médico es el ultrasonido (US), ya que presenta diversas ventajas sobre otras como los rayos X, la resonancia magnética nuclear y la tomografía computarizada. Algunas de estas ventajas son: su bajo costo (tanto en equipo como en precio del estudio), no es invasivo, es en tiempo real y no usa radiación ionizante. Sin embargo, la principal desventaja del diagnóstico mediante US es la dificultad de diferenciar entre el tejido anormal y el saludable debido a las propiedades acústicas similares, por lo que, las señales recibidas producen imágenes que tienen bajo contraste. Los agentes de contraste para ultrasonido hasta ahora disponibles en el mercado, no permiten la detección eficiente de tumores en diversos órganos, la miniaturización de este tipo de sistemas a escala nanométrica podría resolver este problema. En la actualidad se está realizando investigación conducente al desarrollo de agentes de contraste para US (ACUS) los cuales están diseñados

con el objetivo de aumentar la diferencia de señales entre el tejido de interés y sus alrededores. Estos ACUS actualmente se componen de micropartículas de 3 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro “llenas” de aire u otros gases, estos sistemas reciben el nombre genérico de microburbujas. La miniaturización de estos sistemas podría mejorar la capacidad para detectar tumores en una gran variedad de órganos, como hígado, riñón, páncreas, entre otros<sup>20</sup>. Por otra parte, el tener partículas relativamente pequeñas disminuye en mucho la posibilidad de presentar efectos adversos tales como la trombosis y lisis celular, entre otros<sup>21</sup>.

Las técnicas usadas para la elaboración de NPs huecas a partir de polímeros preformados pueden ser una alternativa para la elaboración de ACUS de tamaño nanométrico, estas técnicas son utilizadas principalmente en la actualidad para el desarrollo de sistemas portadores de fármacos.

Con base en todo lo expuesto anteriormente se puede concluir que el diseño de NPs semiconductoras (QDs), metálicas, magnéticas, super-paramagnéticas y NPs poliméricas biodegradables es bastante complicado. No es suficiente con obtener un material de alta luminiscencia y estabilidad, la nanopartícula también debe llegar a su destino de forma selectiva e, idealmente, debe eliminarse del organismo una vez realizada su función para evitar efectos secundarios. Uno de los problemas a resolver es la captación de las NPs por los macrófagos antes de alcanzar la zona afectada. Para ello es necesario recubrir las NPs con materiales que actúen como una capa de invisibilidad, p.ej., con polímeros biodegradables. Una vez resuelto este problema, es preciso indicarles cómo localizar el tumor, y para ello hay que recubrir su superficie con biomoléculas (bioreceptores como anticuerpos monoclonales) con afinidad selectiva hacia un compuesto específico de la zona a reconocer (por ejemplo, la célula cancerosa).

### *10.2.2. Nanobiosensores*

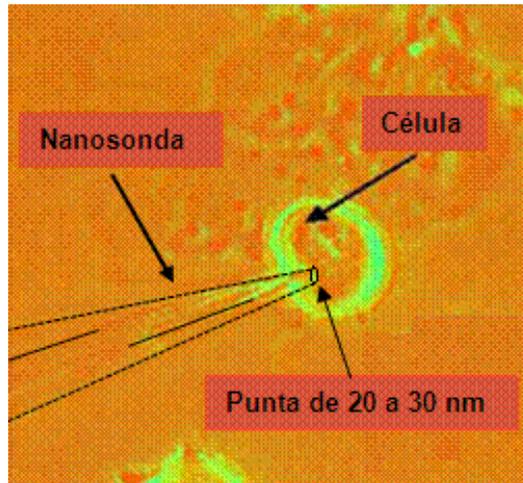
En el área de los nanodispositivos de diagnóstico, lo más desarrollado hasta el momento son los nano-biosensores. Los nano-biosensores se basan en nuevas propiedades que son características de los materiales que los componen en la escala nanométrica y que permiten optimizar la detección. La característica fundamental que los hace atractivos es la posibilidad de realizar el análisis de la sustancia a determinar en tiempo real, en cualquier lugar y de forma directa sin necesidad de un marcador, a diferencia de otros análisis biológicos o clínicos que lo requieren, ya sea fluorescente o radioactivo. Además, debido a su tamaño y disímiles formas de detección, los nano-biosensores tienen una sensibilidad mucho mayor que la de los dispositivos convencionales.

Los estudios que se realizan en los laboratorios de análisis clínico requieren de un personal especializado, además de que generalmente resultan laboriosos. Los nano-biosensores se presentan como una posibilidad para resolver estos y otros problemas del laboratorio actual al permitir hacer mediciones continuas, con alta sensibilidad y precisión.

Los nano-biosensores están constituidos por un elemento de reconocimiento biológico (ácido nucleico, enzima, anticuerpo, receptor, tejido, célula) y un transductor. Dependiendo del transductor presente en el nano-biosensor, que sea capaz de medir la reacción de reconocimiento biomolecular y traducirla en una señal cuantificable, estos pueden clasificarse en:

**Biosensores ópticos:** se basan en propiedades ópticas tales como modulación del campo evanescente y resonancia de plasmón.

- *Biosensores fotónicos* (biosensores de onda evanescente). Se basan en la transmisión de la luz dentro de un circuito óptico; esta transmisión tiene lugar a lo largo de la guía óptica mediante múltiples reflexiones internas. A cada reflexión, una componente de la luz, denominada onda evanescente, se propaga en el medio que envuelve a la guía (figura 10.5). Con esta técnica óptica basada en la modulación del campo evanescente se abre la posibilidad con el uso de fibras ópticas biofuncionalizas con receptores específicos de identificar cambios patológicos dentro de células individuales e incrementar el conocimiento sobre las funciones celulares *in vivo*, como la división celular, la apoptosis, el funcionamiento de las nanomáquinas biológicas<sup>22</sup>, entre otros. Estos biosensores permiten además, evaluar concentraciones de proteína en el nivel picomolar ( $10^{-12}$ ) o variaciones de una única base en el ADN, en tan solo unos minutos. Requieren volúmenes de muestra del orden de los microlitros y, en ocasiones, las muestras a analizar (orina o suero) no necesitan un tratamiento previo.



**Fig. 10.5:** Esquema de un biosensor fotónico. La fibra óptica del nanosensor es muy afilada y no daña la pared celular pero permite el registro de su actividad a través de la interacción del campo evanescente de la luz que circula por la fibra previamente biofuncionalizada. Figura adaptada de Lechuga *et al.*<sup>4</sup>.

- *Biosensores nanoplasmónicos* o biosensores de resonancia de plasmón superficial (RPS). Se basan en el fenómeno óptico de resonancia de plasmón superficial, el cual permite la detección de cambios de índice de refracción en las proximidades de la superficie de separación entre un metal y un dieléctrico (figura 10.6).

El biosensor registra la variación de la reflectividad de una capa nanometálica en contacto con un medio biológico. Al excitar la interfase del metal y el dieléctrico en condiciones de reflexión interna total, se obtiene una resonancia plasmónica para un cierto ángulo de incidencia de la luz, resonancia que se manifiesta en una absorción de la luz y, por tanto, un mínimo agudo en la intensidad de la luz reflejada<sup>23</sup>. La característica más interesante de este efecto es que el ángulo de resonancia al que se genera la onda plasmónica es muy sensible a cualquier variación que tenga lugar en la

superficie metálica, como puede ser una inmuno-reacción o cualquier otro tipo de interacción biomolecular. La interacción se detecta entonces como una variación del ángulo de resonancia<sup>23</sup>. Los biosensores de RPS son de los sistemas utilizados con más frecuencia en la monitorización de interacciones biomoleculares<sup>24,25</sup>. Su versatilidad permite que puedan ser aplicados al estudio de todo tipo de uniones, desde las más conocidas antígeno-anticuerpo o ligando-receptor<sup>24</sup>, hasta hibridaciones de ADN<sup>26,27</sup>. Además, proporcionan ventajas no sólo sobre los métodos convencionales de análisis, sino también sobre otro tipo de biosensores, al no requerir marcajes para detectar la interacción. A estas características se añade la posibilidad de la medida de forma directa y en tiempo real, lo cual permite evaluar la cinética de la interacción (constantes de afinidad, asociación y disociación)<sup>28</sup>.

Estos sensores permiten detectar de forma directa concentraciones en el rango nanomolar, sin necesidad de marcadores fluorescentes. Actualmente, debido a que las NPs metálicas, como las NPs de oro, son resistentes a la oxidación, no son tóxicas y, además, debido a su pequeño tamaño, la oscilación de los electrones con la luz incidente está muy localizada en ciertas zonas de las NPs (resonancia de plasmón superficial localizada, RPSL), este fenómeno está siendo utilizado, para el desarrollo de biosensores RPSL. En estos biosensores la adsorción de biomoléculas sobre las NPs de oro provoca cambios de color que se pueden emplear para la detección<sup>29</sup>. A pesar de que los límites de detección podrían ser similares a los obtenidos con los biosensores de RPS, el sistema experimental es mucho más sencillo con los biosensores RPSL, ya que se mide transmisión en lugar de reflexión y, además, se puede facilitar la miniaturización.

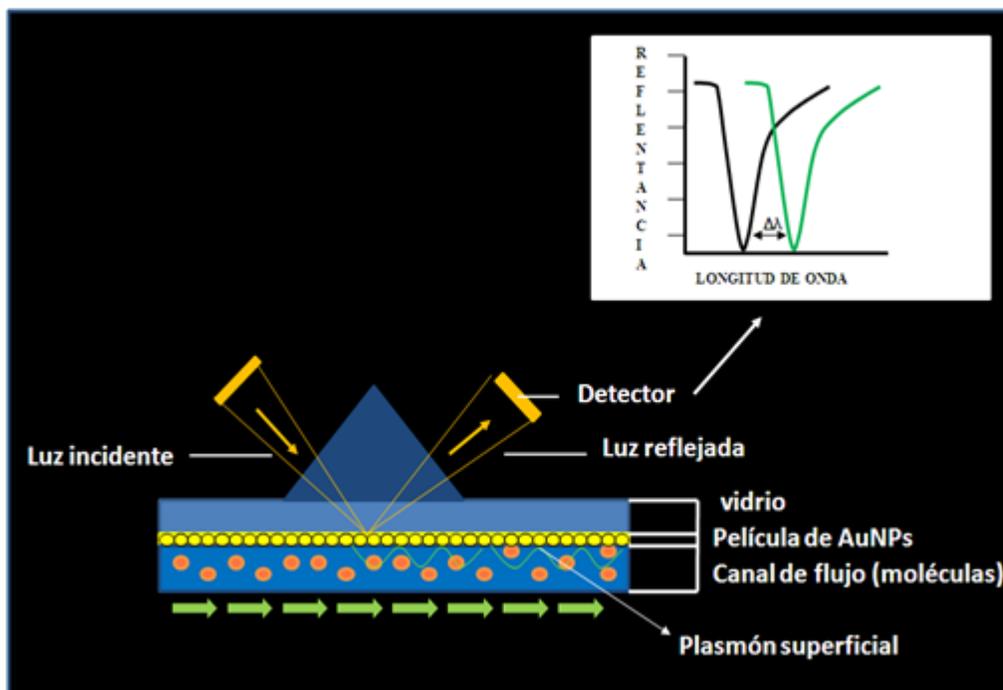


Fig. 10.6: Esquema del funcionamiento de un biosensor de RPSy su respuesta.

En ambos casos, los dispositivos permiten portabilidad y requieren una cantidad de muestra relativamente baja (de micro a nanolitros) para hacer el análisis. Ya se ha demostrado su utilidad en la detección de proteínas en el nivel nanomolar en muestras de pacientes (orina, suero) sin necesidad de pretratamientos y sin necesidad de marcadores fluorescentes.

Existen otros métodos de detección que hacen uso del fenómeno de RPSL de una forma diferente. Por ejemplo, se han desarrollado detectores de ADN basados en los cambios de color que se producen debido a la agregación de NPs de oro marcadas con cadenas de ADN complementarias a la que se intenta reconocer.

En la actualidad se están desarrollando plataformas denominadas *lab-on-a-chip*, formadas por *nanochips* equipados con NPs de oro, capaces de diagnosticar con una sola gota de sangre y en cuestión de minutos un cáncer en etapas precoces<sup>30</sup>. Estos dispositivos son capaces de detectar marcadores de proteínas de cáncer en la sangre utilizando los últimos avances en plasmónica, microfluidos, nanofabricación y química de superficies. El dispositivo *lab-on-a-chip* alberga varios sensores distribuidos en una red de microcanales de fluidos. Las NPs de oro implantadas en la superficie del chip se programan químicamente con un antígeno, de tal manera que son capaces de atraer a los marcadores de proteínas que circulan en la sangre. Cuando se inyecta una gota de sangre en el chip, la sangre circula a través de los microcanales y si los marcadores de cáncer están presentes en la misma, al pasar por los microcanales, éstos se adhieren a las NPs, provocando cambios en lo que se conoce como la "resonancia plasmónica". El dispositivo analiza estos cambios proporcionando una evaluación directa del riesgo para el paciente de desarrollar un cáncer.

Por otro lado, debido al tamaño de las NPs metálicas, como las de oro y plata, la oscilación de los electrones en ellas está muy localizada en ciertas zonas de las NPs, dando lugar a campos eléctricos superficiales muy elevados. Esto permite diseñar otros métodos de detección que hacen uso del fenómeno de resonancia plasmónica de una forma diferente<sup>29</sup>. Una técnica que está adquiriendo una gran repercusión es la dispersión Raman aumentada en superficies (*Surface Enhanced Raman Scattering, SERS*). En esta técnica, el campo eléctrico generado al excitar la resonancia plasmónica provoca un aumento de la señal de dispersión Raman de moléculas adsorbidas a su superficie en muchos órdenes de magnitud. De esta forma se obtiene un aumento espectacular de la sensibilidad, que permite detectar cantidades extremadamente pequeñas de una gran variedad de sustancias, llegando incluso a la detección de una única molécula<sup>29</sup>.

**Biosensores nanomecánicos:** surgen hacia 1994 como una nueva familia de sensores; su sistema físico de transducción consiste en una micropalanca de silicio fija en uno de sus extremos<sup>31</sup>. Tienen su origen en el microscopio de fuerza atómica (AFM)<sup>32</sup> y gracias al desarrollo de esta tecnología se comenzaron a utilizar de forma rutinaria los transductores micromecánicos.

En el año 2000, los biosensores nanomecánicos fueron considerados como una alternativa prometedora para aplicaciones de interés biotecnológico<sup>33</sup>. Este tipo de biosensores podía discriminar desajustes de una sola base en la secuencia de ADN, así como interacciones antígeno-anticuerpo sin necesidad de usar marcadores<sup>33</sup>. Poco después surgieron otros

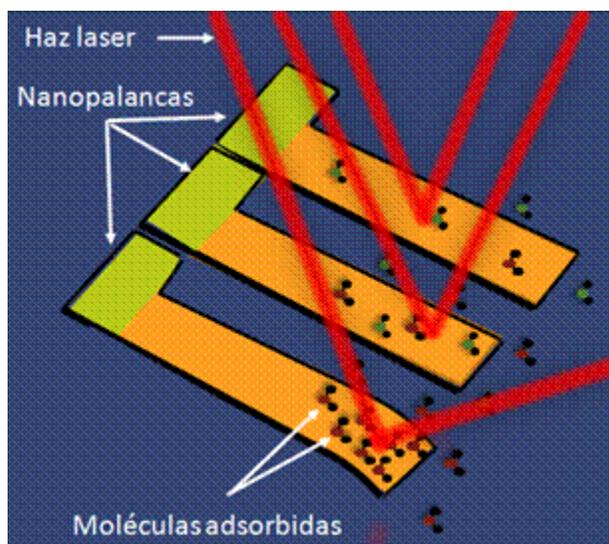
trabajos de detección de ADN por hibridación<sup>34,35</sup>, detección de proteínas implicadas en el desarrollo del cáncer<sup>36</sup> y otras enfermedades<sup>37</sup>.

Este importante desarrollo se ha visto motivado y sostenido a su vez, por el extenso desarrollo de la tecnología microelectrónica actual, lo que permite abordar los costes y la fabricación e integración de estos dispositivos.

El principio de funcionamiento de los biosensores con transductor nanomecánico se basa en la modificación de la superficie del transductor generando una alteración de su respuesta mecánica. Podríamos decir que un biosensor nanomecánico es una palanca de tamaño nanométrico que entra en resonancia vibracional cuando en ella se deposita un material determinado. Cuando una pequeña masa de un material se deposita sobre la nanopalanca, se produce un cambio en la vibración de la misma, el cual es dependiente de la masa y de la rigidez del material adsorbido. Este cambio vibracional se detecta ópticamente enfocando un haz láser sobre la nanopalanca, la señal de luz que se refleja en ese elemento vibrante es la que aporta la información sobre las características de la vibración y por tanto, de la masa adsorbida y de su rigidez (figura 10.7).

Para realizar la medida biosensora debe llevarse a cabo una inmovilización selectiva de las moléculas receptoras sólo en uno de los dos lados de la micropalanca para poder generar tensión superficial. Para ello es necesario el recubrimiento específico sólo de uno de los lados con un material que permita el enlace de la biomolécula en éste sin mostrar afinidad por el otro. El oro resulta un material excelente debido a que es relativamente inerte, al tiempo que permite llevar a cabo una sencilla química de inmovilización mediante el uso de la técnica de monocapas auto-ensambladas y además favorece la reflexión del haz láser hacia el fotodetector.

Mientras más pequeña sea la nanopalanca mayor será la sensibilidad. Por ejemplo, utilizando nanohilos de silicio, se puede aumentar considerablemente la sensibilidad de tal forma que se puede detectar la masa y los cambios en la rigidez de un solo virus. Este tipo



**Fig. 10.7:** Esquema del funcionamiento de un biosensor nanomecánico.

de biosensor pudiera ser utilizado en el estudio de las propiedades mecánicas de células. Por ejemplo se sabe que las células cancerosas tienen una rigidez distinta. En especial, las células de cánceres metastásicos son más elásticas que las células sanas. Este hecho está relacionado con la capacidad de estas células de invadir zonas distantes en el organismo, ya que tienen que atravesar canales muy estrechos, como por ejemplo finos capilares.

La gran ventaja de estos sensores frente a las técnicas que se utilizan hoy en día es su alta sensibilidad. Permiten el análisis de cantidades de sustancias inferiores al femtomol ( $10^{-15}$ ). Hay ciertas enfermedades, como por ejemplo ciertos tipos de cáncer, en los que si no se dispone de sensibilidad suficiente se obtienen demasiados falsos negativos al hacer el diagnóstico.

Biosensores nano-electroquímicos: se basan en un transductor capaz de medir la reacción de reconocimiento biomolecular y traducirla en una señal eléctrica cuantificable. Se diferencian cuatro tipos de nano-biosensores electroquímicos: conductimétricos, potenciométricos, amperométricos e impedimétricos, según detecten los cambios en la conductividad, en el potencial, en la corriente generada o en la impedancia, respectivamente.

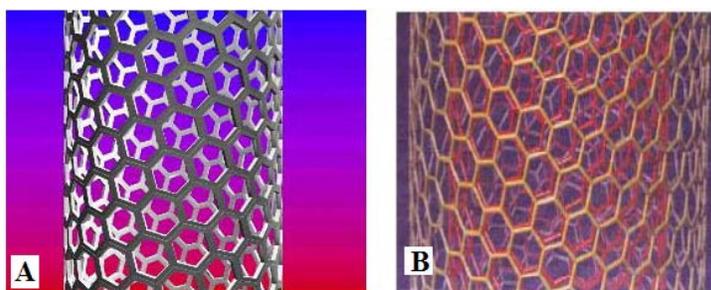
En las últimas dos décadas, los biosensores electroquímicos han cobrado notable importancia dentro del campo de Ciencias de la Salud, gracias a las ventajas que presentan.

De acuerdo al elemento de reconocimiento biológico presente en el biosensor electroquímico, estos se pueden clasificar a su vez en: enzimáticos, inmunosensores y genosensores.

El uso de estos dispositivos electroquímicos permite obtener señales sensibles, de sencilla interpretación y en tiempo real. Ofrece la posibilidad de trabajar con volúmenes pequeños y sin la necesidad de realizar un pretratamiento de la muestra, y de ser integrados a *kits* portátiles que permiten realizar medidas *in situ*. Estos dispositivos son robustos, de fácil manejo y mantenimiento y presentan tiempos de respuesta muy cortos. Combinan el bajo costo de instrumentación con la versatilidad en el desarrollo de nuevas superficies electrónicas destinadas a la detección y/o cuantificación de distintas sustancias químicas y biológicas en muestras de interés médico, farmacéutico y del bioanalítico.

Por lo general los nano-biosensores electroquímicos desarrollados emplean NPs de carbono, metálicas, magnéticas o nanoestructuras híbridas, sobre las cuales se adsorbe el elemento de reconocimiento biológico<sup>38-40</sup>.

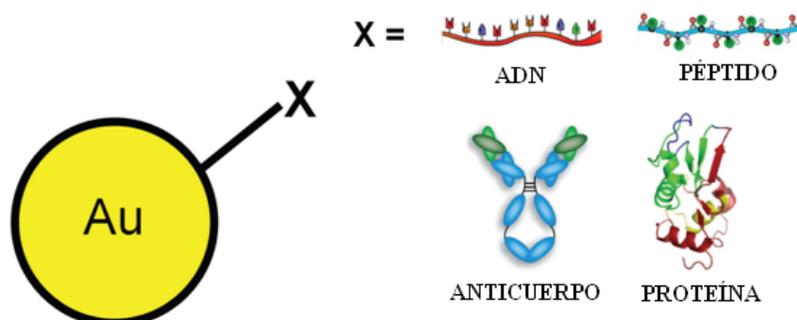
La evidencia de la existencia de NMs de carbón (nanotubos de carbón, CNTs) se cree que apareció en 1952 en la revista *Journal of Physical Chemistry of Russia*<sup>41</sup> aunque el descubrimiento oficial no fue hasta 1991 por el japonés Iijima<sup>42</sup>. Desde entonces los CNTs han despertado gran interés en diversos ámbitos de investigación, en particular en el campo de ciencias de la salud<sup>43</sup> (figura 10.8). Por ejemplo, los nano-biosensores electroquímicos basados en CNTs de carbón tienen una buena capacidad de detección de ADN. Los nanotubos permiten no sólo desarrollar una química específica de inmovilización de secuencias sino que además actúan como elementos amplificadores de la reacción de hibridación al permitir un mejor transporte de carga de la reacción desencadenada por el mediador electroquímico. Además, al presentar una mayor superficie específica espe-



**Fig. 10.8:** Nanotubos de carbón: A) De pared simple; B) De múltiples paredes. Figura adaptada de Ajayan *et al.*<sup>43</sup>.

cífica aumentar de forma notable el número de moléculas de ADN que se pueden emplear<sup>44</sup>.

Por otra parte en el desarrollo de nano-biosensores electroquímicos de interés médico, farmacológico y del bioanálisis es ventajosa la inmovilización de NPs de metales nobles, así como de NPs magnéticas sobre las superficies electródicas ya que por ejemplo, los anticuerpos, antígenos y enzimas, retienen su actividad en presencia de las NPs<sup>45</sup> (figura 10.9).



**Fig. 10.9:** Esquema de una nanopartícula de oro funcionalizada.

Las NPs metálicas actúan como medio de conducción electrónico entre el grupo prostético de las enzimas y la superficie del electrodo, facilitando la transferencia electrónica, con lo cual se consiguen elevados niveles de estabilidad y sensibilidad. Además, las NPs proporcionan una mayor área activa, lo que conlleva una mayor densidad de moléculas biológicas inmovilizadas, generando una mayor sensibilidad. Las NPs pueden ser funcionalizadas antes o después de su adsorción sobre las superficies electródicas permitiendo el desarrollo de una variedad de nanosensores electroquímicos<sup>45-47</sup>.

### 10.3. Liberación controlada de fármacos (nanoterapia)

Hasta el presente, la mayor desventaja de los tratamientos que implican transporte de drogas o radioisótopos, es la inadecuada distribución de los medicamentos en el cuerpo. Las drogas terapéuticas se administran en forma intravenosa y por lo tanto se distribuyen en el torrente sanguíneo, con el consecuente efecto no deseado de que atacan todo tipo de células, incluidas las sanas. Por ejemplo, los efectos secundarios de la administración de anti-inflamatorios en pacientes con artritis crónica conllevan a la suspensión de su

uso; sin embargo, si su aplicación pudiera localizarse sólo en la parte afectada, entonces podría aplicarse una droga potente y efectiva de forma continua.

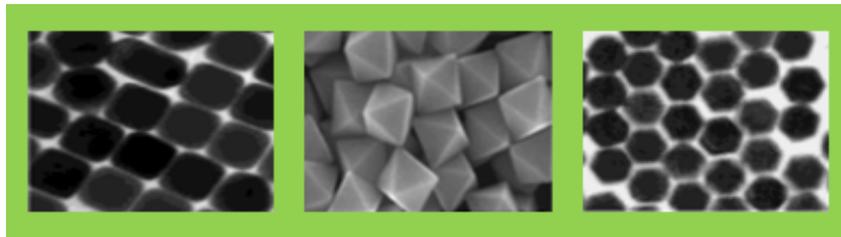
La nanoterapia pretende dirigir nanosistemas activos que contengan elementos de reconocimiento para actuar o transportar y liberar medicamentos exclusivamente en las células o zonas afectadas, a fin de conseguir un tratamiento más efectivo, minimizando los efectos secundarios.

La lucha por combatir una enfermedad comienza una vez efectuado el diagnóstico. Los medicamentos tienen un papel sobresaliente en esta lucha, si bien conseguir nuevos fármacos eficaces para la lucha contra las enfermedades es una tarea muy difícil, hay muchos obstáculos que salvar, y la nanotecnología ofrece alternativas altamente novedosas como los sistemas de liberación de fármacos dirigidos de forma selectiva a su sitio de acción. Por otra parte, estos sistemas pueden proteger al propio fármaco frente a la degradación antes de llegar a su destino. De esta manera las dosis de administración pueden ser menores pero más efectivas, minimizando los efectos secundarios. Para aquellas sustancias poco solubles, o que no pueden ser administradas por vías convencionales, estos sistemas de liberación les otorgan una posibilidad para conseguir que sean realmente efectivas.

Entre los NMs que ofrecen las propiedades adecuadas para la síntesis de nanosistemas activos de liberación controlada, se encuentran las NPs metálicas, magnéticas, las NPs inorgánicas y las NPs orgánicas.

NPs metálicas: entre las NPs metálicas, las de oro son las candidatas en el desarrollo de nanosistemas activos de liberación controlada, debido a sus propiedades químicas y biológicas. La figura 10.10 muestra una variedad de NPs de oro sintetizadas con diferentes geometrías<sup>48</sup>.

Las moléculas de los compuestos con actividad farmacológica pueden unirse de forma covalente a las nanopartícula de oro o se puede incorporar mediante adsorción física. El tamaño junto a otros factores como la carga o funcionalización externa influyen en la internalización celular de las partículas de oro y su biodistribución. Por ejemplo, las NPs de 20 a 50 nm de diámetro se internalizan de un modo más eficiente que el resto. Por otro lado, en estudios de biodistribución *in vivo* de NPs entre 10 y 100 nm, las NPs más pequeñas alcanzaron el interior del tumor con mayor facilidad<sup>49</sup>. La irradiación de NPs de oro, genera un aumento en su temperatura, lesionando los tejidos colindantes. Esto hace posible emplearlas en terapia fotodinámica contra el cáncer. Además, se puede emplear como un estímulo externo para la liberación controlada de fármacos<sup>50</sup>.



**Fig. 10.10:** NPs de oro con geometría variada, obtenidas bajo diferentes condiciones de síntesis. Figura adaptada de Dykman *et al.*<sup>48</sup>.



La funcionalización de estas NPMs es primordial para conseguir la especificidad deseada. Para ello, estas NPs deben ser modificadas con polímeros de tal manera que formen parte de su envoltura externa, sobre las cuales se adsorban diferentes moléculas biológicas que aporten especificidad para reconocer dianas orgánicas concretas.

Debido a las características antes mencionadas de las NPMs, en la actualidad estas son consideradas como vehículo ideal para el transporte de drogas terapéuticas o de radioisótopos, como separadores magnéticos de células marcadas y para el catabolismo de tumores vía hipertermia. El hecho de que puedan fabricarse con un tamaño homogéneo que va desde unos pocos nanómetros hasta decenas, las coloca en una dimensión comparable a una entidad biológica como una célula (10-100  $\mu\text{m}$ ), un virus (20-450 nm), una proteína (5-50 nm) o un gen (2 nm de ancho por 10-100 nm de largo).

Existe un amplio consenso de que al menos para algunos tipos de cáncer, el uso de NPs magnéticas e hipertermia, en algunos casos en combinación con las técnicas clásicas de quimioterapia y radioterapia, pueden ofrecer ventajas respecto a los tratamientos actuales, que son muy agresivos y con muchos efectos secundarios. Los ensayos clínicos en pacientes con esta tecnología ya están en marcha y se esperan resultados concretos en este campo. Otra aproximación en investigación en la actualidad es la del uso de NPs magnéticas que transportan agentes quimioterapéuticos y que se vehiculizan a órganos diana mediante técnicas magnéticas.

NPs inorgánicas: entre las NPs inorgánicas que se están estudiando para el desarrollo de nanosistemas activos de liberación controlada de fármacos, se encuentran los materiales de sílice mesoporosos. Estos materiales se caracterizan por ser buenos vehículos para fármacos y biomoléculas. Su área superficial elevada (900  $\text{m}^2/\text{g}$ ) posibilita la adsorción de moléculas en superficie. Además, al tener un gran tamaño de poro (0,9  $\text{cm}^3/\text{g}$ ) la cantidad de fármaco almacenada es elevada. La posibilidad de modificar su tamaño entre 2-10 nm se puede emplear para controlar la carga y liberación del fármaco. Por último, se puede modificar la superficie de estos materiales con diferentes grupos mediante condensación en la propia síntesis del material o bien post-síntesis, mejorando el control sobre la carga y liberación del fármaco<sup>56</sup>.

Entre los métodos de que dispone para obtener una liberación controlada de fármacos a partir de estos materiales, se tiene la obturación de los canales, empleando otras NPs de un tamaño similar al poro, por ejemplo: moléculas y macromoléculas orgánicas<sup>57</sup>.

Mediante la aplicación de determinados estímulos los canales se destapan y su contenido difunde al exterior. Otro método empleado en la incorporación de fármacos a materiales de sílice consiste en la unión covalente de la molécula al material funcionalizado con grupos reactivos<sup>58</sup>. La unión covalente hace que el fármaco se libere únicamente mediante la aplicación de determinados estímulos o la acción de enzimas. De esta forma se evita la liberación del fármaco en entornos diferentes a su diana terapéutica<sup>58</sup>.

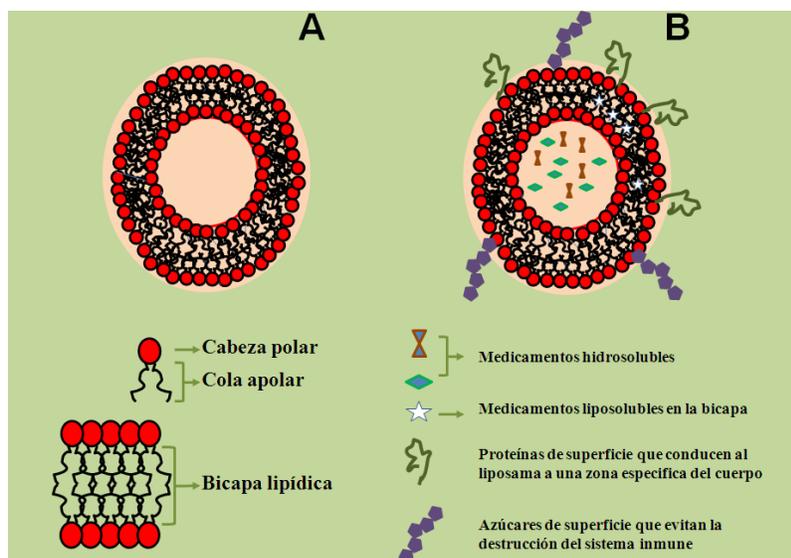
Las NPs de sílice son susceptibles a endocitosis por parte de gran variedad de líneas celulares cancerígenas. También se han empleado en la difusión de fármacos, genes, proteínas, neurotransmisores y otras moléculas biológicas. Existen un gran número de publicaciones en las que se emplean NMs basados en sílice<sup>58-61</sup>.

La toxicidad de las NPs de sílice depende del tamaño de partícula, de manera que para una misma cantidad de sílice incorporada, las NPs de mayor tamaño (400 nm) presentan una toxicidad menor que las NPs más pequeñas (20 nm)<sup>62</sup>. Esto se debe a que, para una misma cantidad de sílice, las partículas de mayor tamaño disponen de un menor área superficial con la que interactuar con los tejidos. Su toxicidad se debe a tres mecanismos: i) producción de especies reactivas de oxígeno por los defectos de superficie e impurezas, ii) desnaturalización de proteínas y iii) alteración de la membrana celular. Estos efectos citotóxicos podrían mitigarse con la modificación de la superficie de las NPs<sup>63</sup>.

La acumulación hepática de las NPs de sílice es una de las grandes barreras actuales para su uso en la práctica clínica. Aunque los macrófagos pueden fagocitar y metabolizar gran cantidad de agentes exógenos, las NPs de sílice pueden resistir debido a su estabilidad química. El estudio histológico de las muestras hepáticas evidenciaron varios cambios patológicos, infiltración linfocitaria en la zona portal y hepatocitos necrosados en la triada portal. Si bien las NPs de sílice no son endocitadas por hepatocitos *in vivo*, la necrosis hepática puede deberse a la respuesta inflamatoria y a las citoquinas liberadas por los macrófagos activados<sup>64</sup>. En este caso, la magnitud de la toxicidad generada por las NPs puede deberse a la elevada cantidad suministrada por vía intravenosa (10 mg/kg).

NPs orgánicas: el suministro local de fármacos consiste en utilizar anticuerpos como transportadores de fármacos anti-cancerígenos y que se dirigen a lugares diana donde se encuentran los antígenos que los reconocen. En este caso el anticuerpo y el agente quimioterapéutico pueden estar integrados en alguna plataforma de transporte como liposomas o dendrímeros. En la actualidad se hace investigación conducente a la síntesis y aplicación de estas NPs orgánicas como vehículos de fármacos.

Los liposomas son vesículas formadas por una bicapa fosfolipídica. Los fosfolípidos que forman la doble capa tienen dos áreas diferenciadas: en primer lugar la “cabeza polar” y en segundo la “cola apolar”. Las colas hidrófobas se agrupan formando una vesícula, quedando las zonas polares hacia el interior y exterior de la estructura (figura 10.12A)<sup>65</sup>.



**Fig. 10.12:** A) Estructura de un liposoma; B) Representación de un liposoma funcionalizado.

Los liposomas pueden transportar la carga terapéutica en el interior de la vesícula, evitando que el contenido pueda ser degradado (figura 10.12B)<sup>65</sup>. Cuando son administrados vía intravenosa son rápidamente eliminados de la circulación sanguínea por el sistema retículo endotelial (SRE). Esta característica se ha empleado para el tratamiento de infecciones localizadas en el SRE como por ejemplo *Leishmaniasis* o para encapsular inmuno-moduladores<sup>66</sup>. Para conseguir un mayor tiempo de aclaramiento plasmático, los liposomas se pueden recubrir de polímeros hidrofílicos como polietilenglicol (PEG)<sup>67</sup>. La cubierta es hidrófila, uniforme y flexible evitando la agregación e interacción con proteínas. Así, el liposoma permanece más tiempo en el torrente sanguíneo y se acumula por efecto de la permeabilidad capilar y de la retención tisular aumentada en el tumor. Empleando este tipo de liposomas se puede aumentar diez veces la concentración del fármaco, comparado con la administración del fármaco tradicional<sup>68</sup>. No obstante, la cubierta no inhibe por completo la captación por parte del SRE y la acumulación en tejidos como hígado o bazo. A pesar de los inconvenientes mencionados, existen varias formas comerciales como Caelyx<sup>®</sup> y Doxil<sup>®</sup> que se aplican en el tratamiento de cáncer de ovario, mieloma múltiple y sarcoma de Kaposi asociado a síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)<sup>69</sup>.

Los dendrímeros son macromoléculas ramificadas. Se trata de estructuras tridimensionales ramificadas que pueden diseñarse a escala nanométrica con extraordinaria precisión. Los dendrímeros cuentan con varios extremos libres, en los que se pueden acoplar y transportar moléculas de agentes terapéuticos (figura 10.13). Los dendrímeros presentan excelentes propiedades, tales como, versatilidad estructural, multivalencia y baja polidispersión<sup>70</sup>. En estos soportes se han empleado en la difusión de fármacos y agentes de contraste<sup>71</sup>. Las sustancias pueden incorporarse mediante interacciones hidrofóbicas, electrostáticas o tipo puente de hidrógeno. Aunque también se pueden incluir mediante la formación de un enlace covalente sensible a diferentes estímulos<sup>72</sup>. Los dendrímeros se pueden distribuir mediante difusión pasiva o por el contrario añadir una molécula directora como ácido fólico, biotina o anticuerpos monoclonales. La mayoría de los dendrímeros con aplicaciones biológicas están formados por polímeros biocompatibles como PEG, ácido poliláctico (PLLA), policaprolactona (PCL) y polilisina (PLL). Por el contrario los dendrímeros catiónicos basados en poli(amidoamina) (PAMAM) y poli(propilenoimina) (PPI) han demostrado una elevada toxicidad en cultivos celulares y en modelos *in vivo*, dificultando la aplicación clínica de este tipo de dendrímeros.

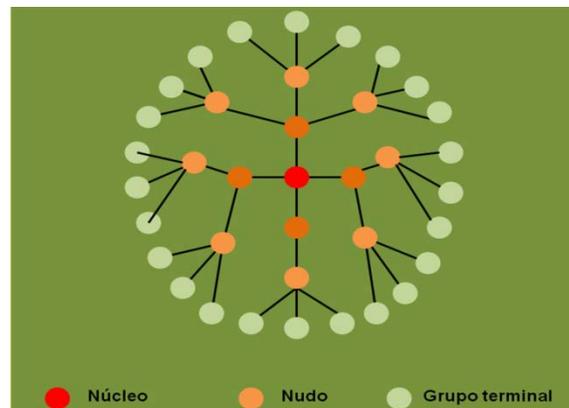


Fig. 10.13: Estructura de un dendrímero.

Existen aplicaciones comerciales de estos materiales. En primer lugar en un gel microbiciida basado en un dendrímero de polilisina denominado VivaGel<sup>®</sup>. Por otro lado el dendrímero catiónico SuperFect<sup>®</sup> se emplea para la transfección de varias líneas celulares<sup>73</sup>.

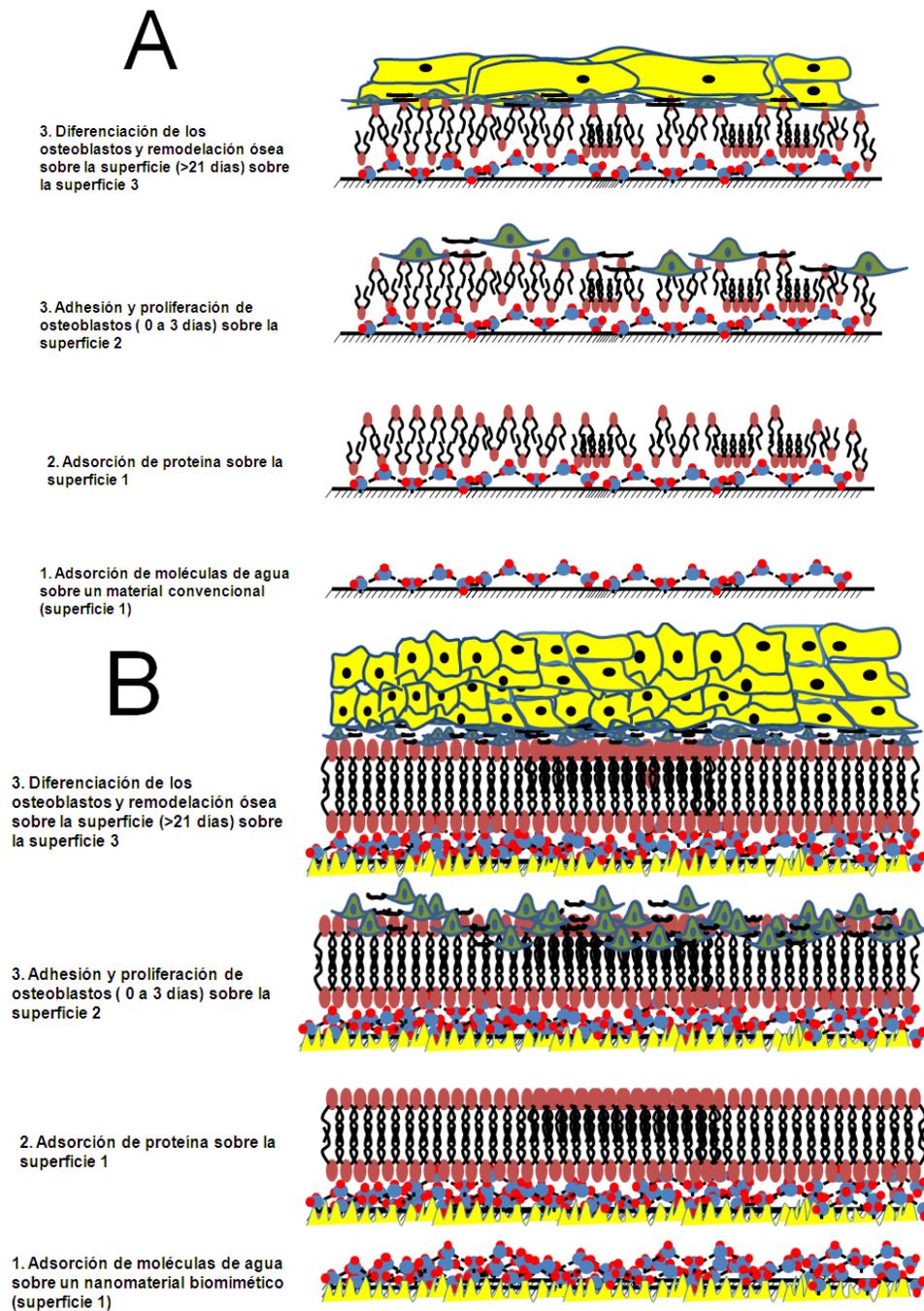
#### 10.4. Reparación de tejidos

Se ha demostrado que las células forman tejidos adhiriéndose a otras células y a la matriz extracelular a través de estructuras nanométricas. Actualmente se están desarrollando en el campo de los polímeros, mallas de nanofibras con características bioquímicas específicas, que permiten que se adhieran a una variedad de células biológicas. Estas mallas (tejidos) de nanofibras presentan una morfología y química similar a la matriz extracelular del tejido natural (amplio rango de distribución de diámetro de poros, alta porosidad, propiedades mecánicas efectivas y propiedades bioquímicas específicas). Debido a estas propiedades, sus aplicaciones en el campo de las Ciencias de la Salud son muy importantes. Se podrían utilizar como membranas multifuncionales y como elementos estructurales biomédicos (reconstrucción de tejidos, recubrimientos para heridas, órganos artificiales, reparación vascular, entre otros)<sup>74,75</sup>.

Las mallas de nanofibras que se sintetizan, como sustitutos para los órganos y los tejidos, deben imitar las propiedades del entorno extracelular natural, de tal forma de asegurar que las células puedan regular todas sus funciones esenciales como migración, adhesión, proliferación o diferenciación. Para tener éxito en el desarrollo de estos NMs como sustitutos de órganos y tejidos dañados, en primer lugar, estos no deben ser tóxicos y en segundo lugar, deben poseer propiedades físicas óptimas para el tipo de células que se quieren hacer crecer. Entre estas propiedades físicas fundamentales se encuentran, la elasticidad y la dureza. Por ejemplo, las neuronas crecen en medios muy blandos, y conductores de la electricidad, sin embargo, las células que forman los huesos necesitan un entorno más rígido y que facilite la mineralización. Como ejemplo, en la figura 10.14 se muestra un esquema de la forma en que los NMs pueden superar a los materiales convencionales en la regeneración de tejido óseo.

Actualmente se investiga en la síntesis de compuestos de biopolímeros no tóxicos y nanoestructuras como nanotubos o NPs que ayuden a mejorar las propiedades necesarias para un tejido, por ejemplo conductividad eléctrica o dureza. Igualmente, en el desarrollo de nanoestructuras que puedan en un futuro ayudar a regenerar tejido nervioso, por ejemplo en pacientes que tengan la columna vertebral dañada.

La idea es diseñar estructuras adecuadas para favorecer el crecimiento de tejidos en las zonas dañadas al dirigir la proliferación y diferenciación celular, así como la producción y organización de la matriz extracelular. La principal dificultad radica en encontrar materiales adecuados que permitan la fabricación de estructuras que mantengan activo el órgano afectado mientras se regenera la zona dañada. Entre los materiales que se están utilizando se destacan los CNTs, las NPs de hidroxiapatita o zirconio, las nanofibras de polímeros biodegradables, nanocompuestos y otros<sup>77</sup>. También se pueden utilizar superficies estructuradas en la escala nanométrica, que pueden actuar como incubadoras de líneas celulares que favorecen el proceso de diferenciación celular<sup>77</sup>.



**Fig. 10.14:** Ventajas de un nanomaterial biomimético (B) con respecto a un material convencional (A) en la regeneración de tejido óseo. La superficie bioactiva de los nano-biomateriales imita la del hueso natural para promover una mayor adsorción de proteínas y estimular la formación del nuevo hueso de forma más eficiente que los materiales convencionales. Figura adaptada de Zhang *et al.*<sup>74</sup>.

La nanotecnología ha diseñado biomateriales inteligentes que incorporan en su seno moléculas de señalización que, una vez insertadas en el paciente, son liberadas de forma gradual y activan la regeneración tisular<sup>79,80</sup>.

Debido al alto coste en células y para evitar las molestas biopsias a los pacientes, se piensa que la nueva generación de terapias de ingeniería tisular estará basada en un tratamiento *in situ* del tejido o del defecto del órgano. La ingeniería de tejidos sin células, implanta el material con los elementos de señalización biológica naturales que inducen al tejido a regenerarse<sup>81</sup>.

Esta nueva generación de terapias dependerá del potencial regenerativo de las células madre, la migración, los factores de diferenciación, su liberación controlada y materiales biomiméticos. Los revestimientos biomiméticos pueden ser muy útiles para activar los soportes mediante distintas moléculas permitiendo la migración de las células madre, la adhesión y la diferenciación en tejidos y órganos. En este aspecto la nanotecnología hace que los soportes tengan características específicas nanoestructuradas que permitan el control sobre las interacciones con entidades biológicas, como las proteínas o las células. Más allá, la nanotecnología puede conseguir nuevos soportes, nuevos revestimientos biomiméticos con mejores características de adherencia celular, crecimiento y factores diferenciadores.

## Referencias

1. K Kokubo. Water soluble single-nano carbon particles: fullerene and its derivatives. En: The delivery of nanoparticles. AA Hashim (Ed.). InTech. Pág. 317–332 (2012). ISBN 978-953-51-0615-9.
2. V Biju. Chemical modifications and bioconjugate reactions of nanomaterials for sensing, imaging, drug delivery and therapy. **Chem. Soc. Rev.**, **43**, 744–764 (2014).
3. [http://ec.europa.eu/nanotechnology/index\\_en.html](http://ec.europa.eu/nanotechnology/index_en.html).
4. LM Lechuga, AC Martínez. Nanobiotecnología: Avances diagnósticos y terapéuticos. **Revista de Investigación en Gestión de la Ciencia y la Tecnología. NANOCIENCIA Y NANOTECNOLOGÍA II**, **35**, 12 páginas (2006).
5. AP Alivisatos. Semiconductor Cluster, Nanocrystal, and Quantum Dots. **Science**, **271**, 933-937 (1996).
6. E Petryayeva, WR Algar. Multiplexed homogeneous assays of proteolytic activity using a smartphone and quantum dots. **Anal. Chem.**, **86**, 3195-3202 (2014).
7. G Saravanakumar, K Kim, JH Park, K Rhee, IC Kwon. Current status of nanoparticle-based imaging agents for early diagnosis of cancer and atherosclerosis. **J. Biomed. Nanotechnol.**, **5(1)**, 20-35 (2009).
8. R Bakalova, Z Zhelev, D Kokuryo, L Spasov, I Aoki, T Saga. Chemical nature and structure of organic coating of quantum dots is crucial for their application in imaging diagnostics. **Int. J. Nanomedicine**, **6**, 1719-1732 (2011).
9. HS Choi, W Liu, P Misra, E Tanaka, JP Zimmer, B IttyIpe, MG Bawendi, JV Frangioni. Renal clearance of quantum dots. **Nat. Biotechnol.**, **25(10)**, 1165-1170 (2007).
10. JA Blackman. Metallic Nanoparticles. En: Handbook of Metal Physics, Vol. 5; P Misra (Ed.); Elsevier: Amsterdam, The Netherlands (2009).
11. M Dekker. Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology. New York (2004).
12. G Cao. Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, properties and applications. Imperial College Press, London (2004).
13. Y Li, H Schluesener, S Xu. Gold nanoparticle-based biosensors. **Gold Bull.**, **43**, 29–41 (2010).

14. S Mornet, S Vasseur, F Grasset, P Veverka, G Goglio, A Demourgues, J Portier, E Pollert, E Duguet. Magnetic nanoparticle design for medical applications. **Prog. Solid State Chem.**, **34**, 237–247 (2006).
15. D Patel, JY Moon, Y Chang, TJ Kim, GH Lee. Poly(d,l-lactide-co-glycolide) coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, characterization and in vivo study as MRI contrast agent. **Colloids and Surfaces A**, **313-314**, 91–94 (2008).
16. LWE Starmans, D Burdinski, NPM Haex, RPM Moonen, GJ Strijkers, K Nicolay, H Grüll. Iron oxide nanoparticle-micelles (Ion-micelles) for sensitive (molecular) magnetic particle imaging and magnetic resonance imaging. **PLoS ONE**, **8**, e57335 (2013).
17. AG Cuenca, H Jiang, SN Hochwald, M Delano, WG Cance, SR Grobmyer. Emerging implications of nanotechnology on cancer diagnostics and therapeutics. **Cancer**, **107(3)**, 459-466 (2006).
18. D Brambilla, B Le Droumaguet, J Nicolas, SH Hashemi, LP Wu, SM Moghimi, P Couvreur, K Andrieux. Nanotechnologies for Alzheimer's disease: diagnosis, therapy, and safety issues. **Nanomedicine**, **7(5)**, 521-540 (2011).
19. Y Liangrong, Liu Huizhou. Stimuli-responsive magnetic particles and their applications in biomedical field. **Powder Technol.**, **240**, 54-65 (2012).
20. B Goldberg. Contrast agents. **Ultrasound Med. Biol.**, **26**, S33-S34 (2000).
21. J Hwang. Vascular effects induced by combined 1-MHz ultrasound and micro-bubble contrast agent treatments *in vivo*. **Ultrasound Med. Biol.**, **31**, 553-564 (2005).
22. National Cancer Institute. An strategic initiative to transform clinical oncology and basis research through the directed application of nanotechnology. NCI, NIH, USA (2004)
23. X Guo. Surface plasmon resonance based biosensor technique: a review. **J. Biophotonics**, **5**, 483–501 (2012).
24. RL Rich, DG Myszka. Survey of the year 2006 commercial optical biosensor literature. **J. Mol. Recognit**, **20(5)**, 300-366 (2007).
25. J Homola. Surface Plasmon Resonance Sensors for Detection of Chemical and Biological Species. **Chem. Rev.**, **108(2)**, 462–493 (2008).
26. T Jianga, M Minunni, P Wilson, J Zhanga, APF Turner, M Mascinib. Detection of TP53 mutation using a portable surface plasmon resonance DNA-based biosensor. **Biosensors and Bioelectronics**, **20(10)**, 1939-1945 (2005).
27. R Gambari, G Feriotto. Surface plasmon resonance for detection of genetically modified organisms in the food supply. **J. AOAC International**, **89(3)**, 893-897 (2006).
28. DG Myszka. Kinetic analysis of macromolecular interactions using surface plasmon resonance biosensors. **Current Opinion in Biotechnology**, **8**, 50-57 (1997).
29. L Liz-Mazan. Nanobiosensores: Aplicaciones en la frontera entre las nanociencias y la biomedicina. **Rev. CIC Network**, **13**, 24-27(2013).
30. SS Acimovic, MA Ortega, V Sanz, J Berthelot, JL Garcia-Cordero. LSPR chip for parallel, rapid, and sensitive detection of cancer markers in serum. **Nano Letters**, **14(5)**, 2636-2641 (2014).
31. LG Carrascosa, M Moreno, M Álvarez, LM Lechuga. Nanomechanical biosensors: a new sensing tool. **Trends in Analytical Chemistry**, **25**, 196-206 (2006).
32. G Binnig, CF Quate, C Gerber. Atomic Force Microscope. **Phys. Rev. Letters**, **56(9)**, 930-933 (1986).
33. JI Fritz, MK Baller, HP Lang, H Rothuizen, P Vettiger, E Meyer, H Güntherodt, C Gerber, J K Gimzewski. Translating biomolecular interactions into nanomechanics. **Science**, **288(5464)**, 316-318 (2000).

34. R McKendry, J Zhang, Y Arntz, T Strunz, M Hegner, HP Lang, MK Baller. Multiple label-free biodetection and quantitative DNA-binding on a nanomechanical cantilever array. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **99(15)**, 9783-9788 (2002).
35. KM Hansen, HF Ji, G Wu, R Datar, R Cote, A Majumdar. Cantilever-based optical deflection assay for discrimination of DNA single-nucleotide mismatches. **Anal. Chem.**, **73(7)**, 1567-1571 (2001).
36. G Wu, RH Datar, KM Hansen, T Thundat, RJ Cote, A Majumdar. Bioassay of prostate-specific antigen (PSA) using microcantilevers. **Nature Biotechnology**, **19**, 856-860 (2001).
37. Y Arntz, JD Seelig, HP Lang, J Zhang, P Hunziker, JP Ramseyer, E Meyer, M Hegner, Ch Gerber. Label-free protein assay based on a nanomechanical cantilever array. **Nanotechnology**, **14(1)**, 86-90 (2003).
38. W Putzbach, N Ronkainen. Immobilization techniques in the fabrication of nanomaterial-based electrochemical biosensors: a review. **Sensors**, **13**, 4811-4840(2013).
39. AMerkoçi, MAldavert, S Alegret, S Marín. New materials for electrochemical sensing V: Nanoparticles for DNA labeling. **Trends in Analytical Chemistry**, **24(4)**, 341-349 (2005).
40. H Pingang, X Ying, F Yuzhi. Application of carbon nanotubes in electrochemical DNA biosensor. **Microchim. Acta**, **152**, 175-186 (2006).
41. M Monthioux, VL Kuznetsov. Who should be given the credit for the discovery of carbon nanotubes? **Carbon**, **44**, 1621-1625 (2006).
42. J Iijima. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, **354**, 56-58 (1991).
43. PM Ajayan, OZ Zhou. Applications of Carbon Nanotubes. En: Carbon Nanotubes. Serie Topics in Applied Physics, Vol. 80, pág. 391-425 (2001).
44. A Battigelli, C Ménard-Moyon, T Da Ros, M Prato, A Bianco. Endowing carbon nanotubes with biological and biomedical properties by chemical modifications. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, **65**, 1899-1920 (2013).
45. S Cosnier, A Le Goff, M Holzinger. Enzymatic fuel cells: from design to implantation in mammals. En: Implantable Bioelectronics. E Katz (Ed.). Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim, 347-362 (2014).
46. M Pumera, MT Castaneda, MI Pividori, R Eritja, A Merkoci, S Alegret. Magnetically triggered direct electrochemical detection of DNA hybridization using Au67 quantum dot as electrical tracer. **Langmuir**, **21**, 9625-9629 (2005).
47. JH Min, MK Woo, HY Yoon, JW Jang, JH Wu, CS Lim. Isolation of DNA using magnetic nanoparticles coated with di-mercaptosuccinic acid. **Anal. Biochem.**, **447**, 114-118 (2014).
48. LA Dykman, NG Khlebtsov. Gold Nanoparticles in Biology and Medicine: Recent Advances and Prospects. **Acta Naturae**, **3(2)**, 34-55 (2011).
49. B Duncan, C Kim, VM Rotello. Gold nanoparticle platforms as drug and biomacromolecule delivery systems. **Control. Release**, **148**, 122-127 (2010).
50. P Botella, I Ortega, M Quesada, RF Madrigal, C Muniesa, A Fimia, E Fernández, A Corma. Multifunctional hybrid materials for combined photo and chemotherapy of cancer. **Dalton Trans.**, **41**, 9286-9296 (2012).
51. NKhlebtsov, L Dykman. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of *in vitro* and *in vivo* studies. **Chem. Soc. Rev.**, **40**, 1647-1671 (2011).
52. II Slowing, JL Vivero-Escoto, CW Wu, VSY Lin. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, **60**, 1278-1288 (2008).
53. R Narain, M Gonzales, AS Hoffman, PS Stayton, KM Krishnan. Synthesis of monodisperse biotinylated p(NIPAAm)-coated iron oxidemagnetic nanoparticles and their bioconjugation to streptavidin. **Langmuir**, **23**, 6299-6304 (2007).

54. YW Jun, JS Choi, J Cheon. Heterostructured magnetic nanoparticles: their versatility and high performance capabilities. **Chem. Commun.**, **12**, 1203-1214 (2007).
55. W Wu, Q He, C Jiang. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies. **Nanoscale Research Letters**, **3**, 397-415 (2008).
56. S Mornet, S Vasseur, F Grasset, P Veverka, G Goglio, A Demourgues, J Portier, E Pollert, E Duguet. Magnetic nanoparticle design for medical applications. **Prog. Solid State Chem.**, **34**, 237-247 (2006).
57. II Slowing, JL Vivero-Escoto, BG Trewyn, VSY Lin. Mesoporous silica nanoparticles: structural design and applications. **J. Mat. Chem.**, **20(37)**, 7924-7937 (2010).
58. R Mortera, J Vivero-Escoto, II Slowing, E Garrone, B Onida, VSY Lin. Cell-induced intracellular controlled release of membrane impermeable cysteine from a mesoporous silica nanoparticle-based drug delivery system. **Chem. Commun.**, **45**, 3219-3221 (2009).
59. P Horcajada, C Serre, M Vallet-Regi, M Sebban, F Taulelle, G Férey. Metal-organic frameworks as efficient materials for drug delivery. **Angew. Chem. Int. Ed**, **45(36)**, 5974-5978 (2006).
60. P Horcajada, A Rámila, J Pérez-Pariente, M Vallet-Regí. Influence of pore size of MCM-41 matrices on drug delivery rate. **Micropor. Mesopor. Mater.**, **68**, 105-109 (2004).
61. E Ruiz-Hernández, A Baeza, M Vallet-Regí. Smart drug delivery through dna/magnetic nanoparticle gates. **ACS Nano**, **5(2)**, 1259-1266 (2011).
62. LCJ Thomassen, A Aerts, V Rabolli, D Lison, L Gonzales, M Kirsch-Volders, D Napierski, PH Hoet, CEA Kirschhock, JA Martens. Synthesis and characterization of stable monodisperse silica nanoparticle sols for in vitro cytotoxicity testing. **Langmuir**, **26**, 328-335 (2010).
63. P Botella, I Abasolo, Y Fernández, C Muniesa, S Miranda, M Quesada, J Ruiz, SJ Schwartz, A Corma. Surface-modified silica nanoparticles for tumor-targeted delivery of camptothecin and its biological evaluation. **J. Control. Release**, **156**, 246-257 (2011).
64. RM Rutledge, L Esser, J Ma, D Xia. Toward understanding the mechanism of action of the yeast multidrug resistance transporter Pdr5p: a molecular modeling study. **J. Struct. Biol.**, **173**, 333-344 (2011).
65. A Corma, U Díaz, M Arrica, E Fernández, I Ortega. Organic-Inorganic Nanospheres with Responsive Molecular Gates for Drug Storage and Release. **Angew. Chem.**, **121**, 6365-6368 (2009).
66. ML Immordino, F Dosio, L Cattel. Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. **Int. J. Nanomedicine**, **1**, 297-315 (2006).
67. Z Drulis-Kawa, A Dorotkiewicz-Jach. Liposomes as delivery systems for antibiotics. **Int. J. Pharm.**, **387(1-2)**, 187-198 (2010).
68. DK Chang, PC Li, RM Lu, WN Jane, HC Wu. Peptide-Mediated Liposomal Doxorubicin Enhances Drug Delivery Efficiency and Therapeutic Efficacy in Animal Models. **PLoS One**, **8(12)**, e83239 (2013).
69. O Lyass, A Hubert, AA Gabizon. Phase I study of doxil-cisplatin combination chemotherapy in patients with advanced malignancies. **Clin. Cancer Res.**, **7**, 3040-3046 (2001).
70. S Svenson, DA Tomalia. Dendrimers in biomedical applications-reflections on the field. **Adv. Drug Del. Rev.**, **57**, 2106-2129 (2005).
71. M Shamis, HN Lode, D Shabat. Bioactivation of Self-Immolative Dendritic Prodrugs by Catalytic Antibody 38C2. **J. Am. Chem. Soc.**, **126**, 1726-1731 (2004).
72. A Sagi, R Weinstain, N Karton, D Shabat. Self-immolative polymers. **J. Am. Chem. Soc.**, **130**, 5434-5435 (2008).
73. GM Soliman, A Sharma, D Maysinger, A Kakkar. Dendrimers and miktoarm polymers based multivalent nanocarriers for efficient and targeted drug delivery. **Chem. Commun.**, **47**, 9572-9587 (2011).

- 
74. L Zhang, TJ Webster. Nanotechnology and nanomaterial: Promises for improved tissue regeneration. **Nano Today**, **4**, 66-80 (2009).
  75. A Martino, M Sittinger, MV Risbud. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. **Biomaterials**, **26**, 5983-5990 (2005).
  76. S Shanbhag, S Wang, NA Kotov. Cell distribution profiles in three dimensional scaffolds with inverted-colloidal-crystal geometry: modelling and experimental investigations. **Small**, **1**, 1208-1214 (2005).
  77. H Hong, Y Zhang, J Sun, W Cai. Molecular imaging and therapy of cancer with radio labeled nanoparticles. **Nano Today**, **4(5)**, 399-413 (2009).
  78. D Clavijo Grimaldi, GA García Morán, O Mejía Mejía, A Ruiz, A García Cardona, C Casadiego Torrado. La frontera entre la biología molecular y la nanotecnología: impacto en la medicina. **Iatreia**, **20(3)**, 297-307 (2007).
  79. YM Kanga, KH Kimb, YJ Seolb, SH Rhee. Evaluations of osteogenic and osteoconductive properties of a non-woven silica gel fabric made by the electrospinning method. **Acta Biomaterialia**, **5(1)**, 462-469 (2009).
  80. A Larena Pellejero. Aplicaciones de nuevos nanomateriales en cirugía ortopédica y traumatología. **Patología del Aparato Locomotor**, **5(2)**, 116-124(2007).
  81. SW Tsai, RL Liu, FY Hsu, ChCh Chen. A study of the influence of polysaccharides on collagen self-assembly: nanostructure and kinetics. **Biopolymers**, **83(4)**, 381-388 (2006).