

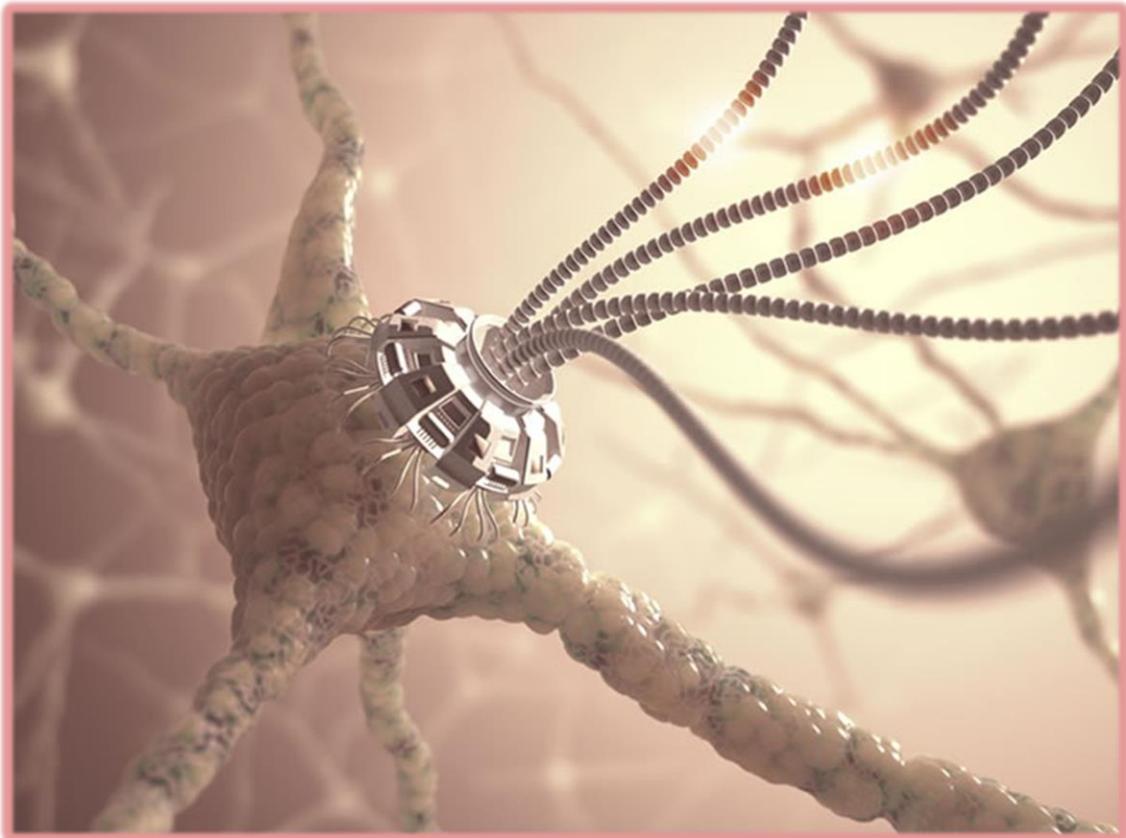


UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica.

NANOSENSORES DE APLICACIÓN EN SALUD.



Inmaculada del Rocío Perejón Rubio



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

NANOSENSORES DE APLICACIÓN EN SALUD.

Inmaculada del Rocío Perejón Rubio.

TUTORA: Josefa Álvarez Fuentes

**Departamento de Farmacia y
Tecnología Farmacéutica**

Revisión Bibliográfica

Sevilla, 8 de julio de 2020

RESUMEN

Actualmente, debido a la creciente necesidad de búsqueda de nuevos métodos diagnósticos que solventen las limitaciones de las técnicas tradicionales, ha surgido la nanomedicina como desarrollo de la nanotecnología en el área sanitaria.

La aplicación de nanosensores en salud, está emergiendo con numerosos proyectos innovadores donde emplean estos dispositivos para la realización de un diagnóstico precoz de enfermedades mediante la detección de biomarcadores. Además, permite el seguimiento y control de la evolución de las diferentes patologías, así como la mejora en la eficacia de tratamientos individualizados, reduciendo la sintomatología y las reacciones adversas, controlando posibles recidivas y mejorando la calidad de vida del paciente.

En esta revisión se analizan los distintos tipos de nanosensores, formados por nanomateriales de propiedades fisicoquímicas únicas, permitiendo el desarrollo de nanosondas que mediante conocimientos en nanofotónica y nanoplasmónica, permiten detectar biomarcadores en el interior celular sin alterar su composición ni su funcionamiento. Además, es posible el seguimiento de la liberación de fármacos en el lugar de acción por la acumulación de nanopartículas sensoras que emitan fluorescencia.

Es por ello, que la aplicación de biochips, nanobiosensores y laboratorios en un chip (*lab-on-a-chip*), además de agentes de contraste para el diagnóstico por imagen, como los puntos cuánticos, las nanopartículas metálicas y magnéticas, están cobrando gran importancia en el nanodiagnóstico de patologías que actualmente están incrementando su incidencia, como son el cáncer, la diabetes, las enfermedades neurodegenerativas y las cardiovasculares.

El futuro desarrollo de algunos proyectos que actualmente están siendo investigados, como lentillas para la detección de biomoléculas en las lágrimas, nanosensores que permitan “escanear” la comida antes de comerla informando de su estado o nanosensores para la detección rápida de patógenos que recientemente han provocado epidemias y pandemias, formarán parte de la vida cotidiana de las personas en los próximos años.

PALABRAS CLAVE

Nanosensor, nanotecnología, nanomedicina, nanodiagnóstico, biomarcador.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.	4
2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.	7
3. METODOLOGÍA.	7
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	9
4.1 Inicio y desarrollo de la nanotecnología, la nanomedicina y los nanosensores.	9
4.2 Ventajas del uso de nanosensores respecto a las técnicas tradicionales.	11
4.3 Clasificación de los tipos de nanosensores.	13
4.3.1 Dispositivos para el nanodiagnóstico de enfermedades.	14
4.3.1.1 Nanobiosensores	14
4.3.1.2 Lab-on-a-chip.....	20
4.3.1.3 Biochips.	22
4.3.2 Diagnóstico por imagen mediante marcadores y agentes de contraste.	24
4.3.2.1 Puntos cuánticos.....	24
4.3.2.2 Nanopartículas magnéticas.....	25
4.3.2.3 Nanopartículas metálicas.....	26
4.4 Aplicación de los nanosensores en el área sanitaria.	28
4.4.1 Nanosensores en trastornos neurodegenerativos.	28
4.4.2 Nanosensores en diabetes.	29
4.4.3 Nanosensores en enfermedades cardiovasculares.	31
4.4.4 Nanosensores en cáncer.	32
4.5 Futuros proyectos para los nanosensores.	34
5. CONCLUSIONES.	36
6. BIBLIOGRAFÍA.	37

1. INTRODUCCIÓN.

Desde sus inicios, la humanidad ha mostrado una profunda preocupación e interés por el tema de la salud y la enfermedad. Hoy en día se están realizando grandes esfuerzos para que la sociedad actual se encamine hacia estilos de vida más saludables que permitan una mayor prevención de patologías que recientemente han incrementado su incidencia. Asimismo, la necesidad de realizar diagnósticos de manera precoz y que estén al alcance de todos, como la continua búsqueda de terapias y tratamientos más rápidos, seguros y eficaces, han llevado, fundamentalmente, en poco más de la última década a la investigación sobre la aplicación de la nanotecnología al campo de la medicina y la salud (Lechuga, 2011).

Las técnicas y métodos convencionales para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de enfermedades como los “patrones de oro”, son ampliamente utilizados en clínica por mostrar una mayor fiabilidad de sus resultados en comparación con otras pruebas empleadas para el mismo fin. A pesar de todo, estos métodos presentan algunas limitaciones que pueden afectar a su valor predictivo, situándolos en el punto de mira para su optimización mediante el empleo de la nanotecnología (Dudani et al., 2018; Lechuga, 2011).

La detección y/o cuantificación de biomarcadores por parte de las técnicas diagnósticas tradicionales, aportan información sobre la posible existencia de estados patológicos, así como el seguimiento y control de la evolución de enfermedades, pudiéndose optimizar y elegir un tratamiento adecuado a partir de las conclusiones obtenidas de su estudio (Méndez y Muñoz, 2012; Hall et al., 2010).

Los biomarcadores son biomoléculas de distinta naturaleza (péptidos, proteínas, metabolitos o ácidos nucleicos) utilizados como indicadores de la presencia de una determinada patología cuando se encuentran en concentraciones superiores a lo establecido o incluso algunos, solo con su presencia. Además, permiten determinar en qué etapa de la enfermedad se encuentra el paciente, así como su gravedad y la posibilidad de recurrencias en el futuro (Kwong et al., 2013).

A pesar de que los biomarcadores son ampliamente utilizados, suelen encontrarse algunas limitaciones para su detección, conllevando a la posibilidad de aparición de falsos negativos. Esto es debido a la necesidad del empleo de un equipo tecnológico que tenga la suficiente sensibilidad y precisión para su detección, ya que pueden encontrarse en bajas concentraciones en el organismo al presentar un tiempo de vida media bajo (Kwong et al., 2013).

Hasta ahora, no existe un biomarcador universal que confirme el diagnóstico, pero que sí puede hacer sospechar de su existencia. Por ejemplo, en el caso del cáncer de próstata, el antígeno

prostático específico (PSA) permite la detección de anomalías en la próstata, no obstante, puede ser frecuente la aparición de falsos positivos por la alteración de la concentración de la biomolécula según algunos parámetros como pueden ser la edad, el índice de masa corporal o la presencia de hiperplasia benigna de próstata en el paciente (Lee et al., 2016; Dudani et al., 2018).

Además, en muchas ocasiones es frecuente la destrucción de células para medir intracelularmente la concentración de determinados biomarcadores, como puede ser en el caso del diagnóstico de cáncer o de Alzheimer. Este hecho hace replantearse la necesidad de realizar mediciones en el suero fisiológico con el objetivo de que las técnicas sean lo menos invasivas posible, ofreciendo la posibilidad de comprobar detenidamente aquellos acontecimientos moleculares que provoca el desarrollo de la patología (Liang et al., 2017; Bai et al., 2018; Xu et al., 2019).

Por lo tanto, el diagnóstico mediante biomarcadores no es un método de gran especificidad, así que el estudio de varios biomarcadores a la vez o el uso de nanosensores puede ser un avance de gran importancia hacia métodos más eficaces (Méndez y Muñoz, 2012).

En el caso del diagnóstico y control de enfermedades como el cáncer, la biopsia es una técnica muy utilizada porque aporta gran fiabilidad en sus resultados y que, además, permite hacer un seguimiento de las terapias y cuantificar la concentración de fármacos y otros metabolitos en un tejido específico (Del Bonis-O'Donnell et al., 2019). Sin embargo, presenta algunos inconvenientes a tener en cuenta. Este método, al ser muy invasivo, se usa cuando no existe otra opción, ya que consiste en extraer una porción del tejido posiblemente afectado para analizarlo, pudiendo acarrear algunos efectos adversos como dolor, sangrado, sepsis y sobrediagnóstico (conllevando a un tratamiento innecesario), y requiriendo su realización con una determinada periodicidad para ver los diferentes estados por los que pasa la enfermedad (Xu et al., 2019; Dudani et al., 2018).

Algunas de las pruebas usadas frecuentemente para la detección de patógenos en fluidos orgánicos, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), necesitan un tratamiento previo de las muestras o el empleo de enzimas de alto coste, lo cual hace que sean complejas de realizar y presenten un rendimiento limitado, por lo que no es posible realizarlo *in situ* en las consultas (Hall et al., 2010; Banerjee et al., 2017).

Además, otros aspectos a mejorar de los métodos diagnósticos tradicionales son la necesidad de una alta concentración de reactivos, sumado a la baja sensibilidad y selectividad de algunas pruebas y al requerimiento de personal cualificado para la realización e interpretación correcta de la prueba (Lee et al., 2016; Irani-Nezhad et al., 2019).

Por otro lado, la utilización de técnicas que requieren el uso de material delicado, como anticuerpos en la inmunoturbidimetría, trae algunos problemas referentes a la estabilidad y conservación del material sensible, ya que un inadecuado almacenamiento o manipulación puede conducir a una rápida degradación del material, presentando limitaciones a la hora del empleo en lugares con pocos recursos y poco personal cualificado (Budhathoki-Uprety et al., 2019). Por ejemplo, para el diagnóstico de *Mycobacterium tuberculosis*, el empleo de cultivos microbianos puede acarrear la necesidad de un equipo para su adecuada inoculación y crecimiento, además de la rapidez, que en ocasiones es fundamental para la supervivencia del paciente. Es por ello que el diseño de dispositivos portátiles, de bajo costo, rápidos y que puedan emplearse en el lugar de atención al paciente es uno de los objetivos de la aplicación de nanosensores en salud (Huang et al., 2018; Bakhori et al., 2018).

Según el Instituto Nacional de Estadística (INE), la esperanza de vida ha ido en aumento a lo largo de los años, lo que ha conllevado a su vez a la aparición de una población envejecida, en la que va a ser frecuente la cronicación de enfermedades y el incremento de pacientes pluripatológicos. Por ello, se hace necesaria la investigación de nuevos dispositivos que aporten información de manera específica y efectiva para conseguir la prevención, el diagnóstico y el seguimiento de enfermedades, así como la mejora en la calidad de vida del paciente. Este incremento es la consecuencia, entre otras, de la aparición de nuevas técnicas diagnósticas que permiten la detección temprana de enfermedades, aumentando la probabilidad de supervivencia, así como el desarrollo de terapias personalizadas que permiten la administración, entrega y liberación de medicamentos específicamente en el lugar de acción (Lechuga, 2011; Vélez-Reséndiz y Vélez-Arvízu, 2018; <https://www.ine.es/index.htm>).

El desarrollo de nanosensores mediante nanomateriales con propiedades únicas permite solventar muchos de los problemas de las pruebas tradicionales y abren una amplia variedad de opciones que mejoran no solo la selectividad y sensibilidad de las pruebas, sino también la comodidad para el paciente y su aceptación (Lechuga, 2011). Además, su empleo como métodos que van a complementar a las técnicas tradicionales y mejorar sus limitaciones está consiguiendo optimizar el diagnóstico de enfermedades (Contreras-Baeza et al., 2019).

2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN.

Esta revisión bibliográfica presenta como objetivo principal describir los distintos tipos de nanosensores que pueden emplearse en salud para conseguir la prevención, el diagnóstico precoz y el tratamiento de distintas enfermedades y patologías, con motivo del continuo avance científico-tecnológico en el ámbito sanitario.

Para conseguir este objetivo principal se han establecido una serie de objetivos secundarios:

- I) Destacar los beneficios del empleo de la nanotecnología para el desarrollo de nanosensores que solventen las limitaciones de las técnicas actuales para el diagnóstico de enfermedades.
- II) Describir el funcionamiento de los distintos tipos de nanosensores.
- III) Conocer sus aplicaciones actuales y las posibles aplicaciones futuras.

3. METODOLOGÍA.

Durante la redacción de esta memoria se ha realizado una búsqueda exhaustiva en diferentes bases de datos de carácter científico para la elaboración de una revisión bibliográfica. Entre las bases de datos consultadas se encuentran, *PubMed* y *Dialnet*, además, se ha utilizado *Google Académico* para la realización de búsquedas generales a fin de completar información y para obtener una visión general del tema tratado en la revisión.

También se han consultado páginas web oficiales como son:

- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).
- Instituto Nacional de Estadística (INE).
- Instituto Nacional del Cáncer (NCI).
- Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España (MICINN).
- Organización Mundial de la Salud (OMS).
- Royal Society of Chemistry (RSC).
- Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM).

Para la obtención de los artículos en las bases de datos anteriormente señaladas, se han utilizado palabras claves que pueden considerarse representativas del tema correspondiente a esta revisión. Puesto que esta memoria se va a centrar en los nanosensores de aplicación en salud,

las palabras claves empleadas para la búsqueda fueron: “*nanosensor*”, “*nanotecnología*”, “*nanodispositivos*” y “*nanomedicina*”.

Una fuente importante de artículos utilizados ha derivado de la necesidad de contrastar información y de aportar más conocimiento sobre algunos de los puntos tratados en el presente trabajo, a partir de la bibliografía de los artículos obtenidos con la estrategia de búsqueda inicial, lo cual ha derivado en un número de 22 nuevos artículos que han sido estudiados para ampliar conocimientos sobre distintos aspectos.

A continuación, se muestra el resultado de la búsqueda realizada en marzo de 2020 en las diferentes fuentes utilizadas en la presente memoria:

- **Pubmed**: al introducir la palabra “*nanosensor*” aparecen 1267 artículos, de los cuales al aplicar los filtros de “*free full text*”, “*humans*” y “*5 years*”, conduce a un total de 42 artículos. En esta búsqueda se han considerado 5 años para obtener información más actualizada, reciente y reducida.
- **Dialnet**: se realizó la búsqueda “*nanosensor*”, apareciendo 36 documentos entre los cuales había tesis y artículos científicos. Aplicando los criterios de exclusión, el total de artículos resaltados para su estudio fueron 7.
- **Google Académico**: esta plataforma se utilizó para hacer búsquedas generales de artículos para completar la información que se había recopilado de las dos bases de datos anteriores. Se realizaron varias estrategias de búsqueda, entre ellas “*nanosensor*” y “*salud*”, “*nanotecnología*”, “*nanomedicina*” y “*nanodispositivos*”.

Criterios de exclusión de artículos:

- Año de publicación anterior a 2015, en el caso de las bases de datos de Pubmed y Dialnet.
- Artículos que no traten de la aplicación de nanotecnología y nanosensores en salud.
- Artículos sin accesibilidad gratuita a texto completo.
- Idioma distinto al inglés, español o portugués.

Aquellos artículos que presentaron algunos de los puntos anteriores entre sus características, no han sido seleccionados ni estudiados para la realización de este trabajo. A partir de aquí, se procedió a la lectura y comparación de los artículos para recopilar toda la información necesaria para elaborar esta revisión.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Inicio y desarrollo de la nanotecnología, la nanomedicina y los nanosensores.

La nanotecnología es una rama científico-tecnológica que comienza a surgir en los años 80 y cuyo prefijo nano- proviene del griego “nanos”, que significa “enano” (Dreaden et al., 2012; Gómez, 2019). Esta ciencia emplea materiales y partículas de tamaño nanométrico, entre 1 y 100 nm, es decir, la billonésima parte del metro. A esta escala, el comportamiento de estos nanomateriales es diferente a los de mayor tamaño (Figura 1), ya que presentan propiedades físicas y químicas únicas y diferentes a las de escala métrica (ópticas, eléctricas y estructurales), permitiendo interacciones a nivel molecular (Lechuga, 2011; Méndez y Muñoz, 2012).

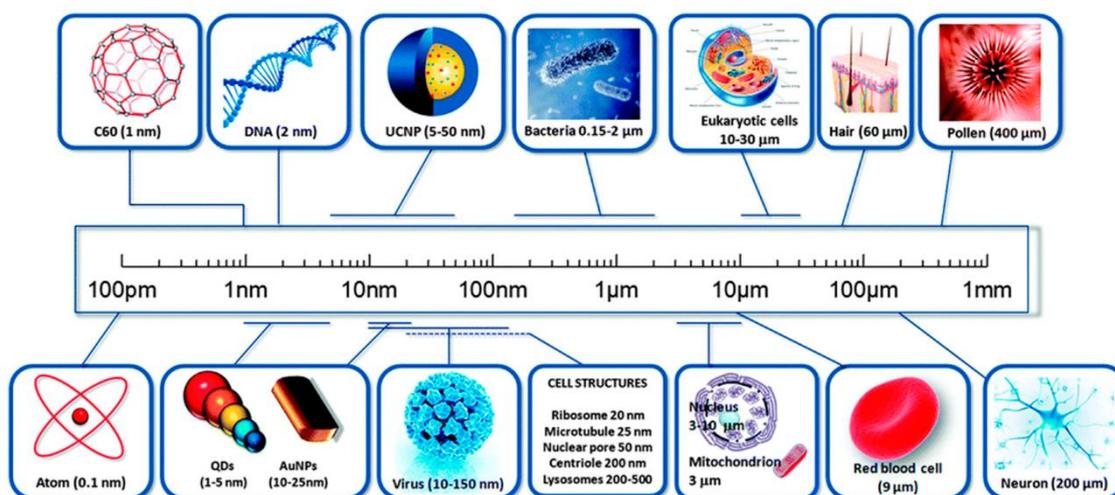


Figura 1. Escala comparativa de tamaños entre materiales de distinta naturaleza (Bayda et al., 2020).

Desde sus inicios, esta ciencia multidisciplinar ha ido cobrando importancia en distintos sectores, ofreciendo grandes avances gracias a las características tan particulares de los nanomateriales, de manera que se han podido desarrollar materiales más duros, resistentes, flexibles, baratos y que supongan un menor deterioro medioambiental. Algunos de los sectores en los que ya están introduciendo la nanotecnología son la agricultura, el deporte, la electrónica, la comunicación y la medicina (Lechuga, 2011; Gómez, 2019).

Desde el punto de vista sanitario, esta ciencia ha contribuido a la fabricación de nanodispositivos para ser empleados en la detección y cuantificación de biomarcadores, permitiendo el diagnóstico y seguimiento de enfermedades (Lechuga, 2011).

La nanomedicina nace tras la aplicación de los conocimientos nanotecnológicos al área sanitaria, de manera que ha permitido desarrollar técnicas y dispositivos que se presentan como nuevos

métodos para el diagnóstico, prevención y tratamiento de patologías con la máxima antelación posible. Estos dispositivos, además de presentar un pequeño tamaño, tienen la capacidad de realizar funciones de las técnicas de laboratorio tradicionales con la diferencia de que se realizan a menor escala y son más rápidos, específicos y eficaces, requiriendo menos tiempo y personal cualificado para dar un diagnóstico. Además, uno de los objetivos de la nanomedicina es la aplicación de terapias individualizadas de manera específica para cada paciente, de modo que se entregaría el fármaco en el lugar adecuado reduciendo así posibles efectos adversos (Lechuga, 2011).

A su vez, la nanomedicina está involucrada en algunas áreas de la salud como son el nanodiagnóstico, la nanoterapia y la nanomedicina regenerativa:

- **Nanodiagnóstico:** permite la detección específica de patologías cuando aún se encuentran en fases poco avanzadas, de manera que se puede actuar con rapidez ofreciendo un tratamiento adecuado, permitiendo así una mayor probabilidad de éxito terapéutico. Para este nanodiagnóstico se emplean nanodispositivos que están siendo cada vez más utilizados, como herramientas útiles que facilitan la obtención de resultados, superando así las imitaciones de los métodos tradicionales (Lechuga, 2011).
- **Nanoterapia:** consiste en el empleo de nanoestructuras como nanocápsulas, dendrímeros o liposomas, entre otros, que almacenen en su interior el fármaco que va a ser destinado para el tratamiento de una enfermedad de manera más efectiva. Para ello, estos sistemas van a autodirigirse hacia el lugar afectado para liberar el contenido, pudiendo atravesar membranas celulares, y una vez liberado puede ejercer su acción conservando sus propiedades y reduciendo los efectos adversos y la dosis requerida (Lechuga, 2011).
- **Nanomedicina regenerativa:** se encarga de reparar o sustituir órganos y tejidos enfermos a partir del empleo de nanomateriales para la formación de tejidos y la optimización de las condiciones necesarias para la regeneración celular (Lechuga, 2011).

Con la aparición de nuevas técnicas diagnósticas se consigue la detección temprana de enfermedades, aumentando la probabilidad de supervivencia, así como el desarrollo de terapias personalizadas que permiten la administración, entrega y liberación de medicamentos específicamente en el lugar de acción (Lechuga, 2011; Vélez-Reséndiz y Vélez-Arvizu, 2018).

Así, el desarrollo de nanosensores que sean implantables en el paciente, y el empleo de nuevas herramientas para diagnóstico, tratamiento y control de enfermedades como material

inteligente para cirugía, son logros que están permitiendo avanzar y mejorar en el conocimiento de la enfermedad y los tratamientos (Gómez, 2019).

El término nanosensor puede albergar varias definiciones en función de su composición, funcionamiento y empleo. Por ejemplo, en el caso del cáncer, el Instituto Nacional del Cáncer (NIH) define nanosensor como un dispositivo en el que usando rayos X se pueden mostrar imágenes del estado de los vasos sanguíneos, que son de gran relevancia para la detección de angiogénesis necesaria para la alimentación de células tumorales (<https://www.nih.gov/>).

De manera general, un nanosensor es un dispositivo de tamaño reducido que utiliza métodos nanotecnológicos para la detección precoz de enfermedades, además de obtener información de procesos moleculares y estados biológicos normales y patológicos (Gómez, 2019). Están compuestos por un receptor que actúa como elemento de reconocimiento, interactuando específicamente con la biomolécula de interés, que indica la presencia de alguna alteración biológica. Tras la interacción se va a producir un cambio físico o químico (de conformación o de color) que va a ser detectado por un transductor, el cual va a procesar y transformar ese registro en una señal cuantificable que permita dar un resultado de manera rápida y fiable (Méndez y Muñoz, 2012).

En el caso de que el elemento de reconocimiento sea de naturaleza biológica, por ejemplo, anticuerpos, células, proteínas, enzimas o ácidos nucleicos, se habla de nanobiosensores, capaces de mostrar un diagnóstico tras interacciones antígeno-anticuerpo, entre ácidos nucleicos y entre reacciones enzimáticas (Lechuga, 2011; Méndez y Muñoz, 2012).

Con el uso de los nanosensores es posible detectar los primeros cambios patológicos de manera cualitativa y cuantitativa a tiempo real y con una mayor sensibilidad. Gracias a la investigación y aplicación de estos dispositivos se están comenzando a utilizar en las consultas como medidas de urgencia e incluso desde la comodidad de los hogares (Lechuga, 2011).

4.2 Ventajas del uso de nanosensores respecto a las técnicas tradicionales.

Como ya se ha comentado, la nanotecnología da respuesta a muchas de las limitaciones presentes en las pruebas diagnósticas empleadas en la actualidad, ofreciendo la posibilidad de emplear nuevos tratamientos que hasta entonces no existían. Con la llegada de los nanosensores se han abierto nuevos caminos hacia métodos diagnósticos donde la detección de enfermedades se realiza de manera más específica y eficaz, permitiendo incluso fabricarlos a bajo coste y con obtención de resultados más rápidos (Lechuga, 2011).

Una de las expectativas antes del empleo de los nanosensores era el poder llevar a cabo diagnósticos en lugares del mundo donde no existen muchos recursos económicos ni profesionales cualificados para llevarlos a cabo. Ahora gracias a su portabilidad, a la necesidad de menor cantidad de reactivos y a la facilidad de interpretar sus resultados, es posible que cualquier persona, cualificada o no, sea capaz de utilizarlo y obtener la información necesaria tras su uso e interpretarla de forma sencilla (Méndez y Muñoz, 2012).

Algunos tipos de nanosensores son capaces de entregar fármacos y determinar el lugar de liberación y su efectividad. Para ello, estos dispositivos pueden atravesar las membranas celulares y acumularse en el lugar de acción, desde donde van a mostrar imágenes, mediante fluorescencia, de la localización de tumores y de la liberación controlada de fármacos. Para la señalización de estos lugares afectados se emplea la técnica de marcaje celular, de manera que identificando específicamente algunas biomoléculas de la superficie celular puede realizarse un análisis cualitativo y cuantitativo en función del grado de señal que refleje (Lechuga, 2011).

Respecto al paciente, el empleo de estos nanodispositivos tiene mayor aceptación por su cómoda utilización, y no solo por su pequeño tamaño, sino porque también resulta ser una técnica poco o nada invasiva, la cual necesita poca cantidad de muestra para analizar y algunas de ellas no necesitan tratamiento previo. Además, puede ser utilizado incluso desde sus hogares sin tener que desplazarse hasta los centros de salud, y donde el mismo nanosensor puede recopilar la información en tiempo real y guardarla en el historial clínico de la persona (Lechuga, 2011).

Algunos de los inconvenientes de la detección de biomarcadores también han podido solventarse, de modo que es posible detectar varias biomoléculas a la vez, pudiéndose obtener más información y con elevada sensibilidad. Existe la posibilidad incluso de que los nanosensores puedan detectar muy bajas concentraciones de los biomarcadores en algunos fluidos donde incluso su concentración es menor (Chen et al., 2016; Huang et al., 2018).

En el caso de algunas enfermedades como el cáncer, la detección precoz en sus fases menos avanzadas es fundamental para evitar la progresión descontrolada de la patología. En este sentido, existe la posibilidad de obtener el fenotipo celular que permita un tratamiento adecuado, reduciendo la posibilidad que derive en fallo terapéutico y metástasis, así como la mejora en la calidad de vida del paciente y aumentar la probabilidad de supervivencia, evitando recurrencias en el futuro (Budhathoki-Uprety et al., 2019; Geng et al., 2019).

4.3 Clasificación de los tipos de nanosensores.

Debido a la continua innovación y a la gran diversidad que presentan los nanosensores, es difícil la realización de una única división por categorías que recoja todos los tipos que existen. En la actualidad se han desarrollado varias clasificaciones en función de las diversas características que presentan los nanosensores, así como otras se centran en la composición, funcionamiento o su uso.

En la Figura 2 aparece el esquema en el que se recoge de manera general la clasificación de los tipos de nanosensores para el nanodiagnóstico y seguimiento de enfermedades.

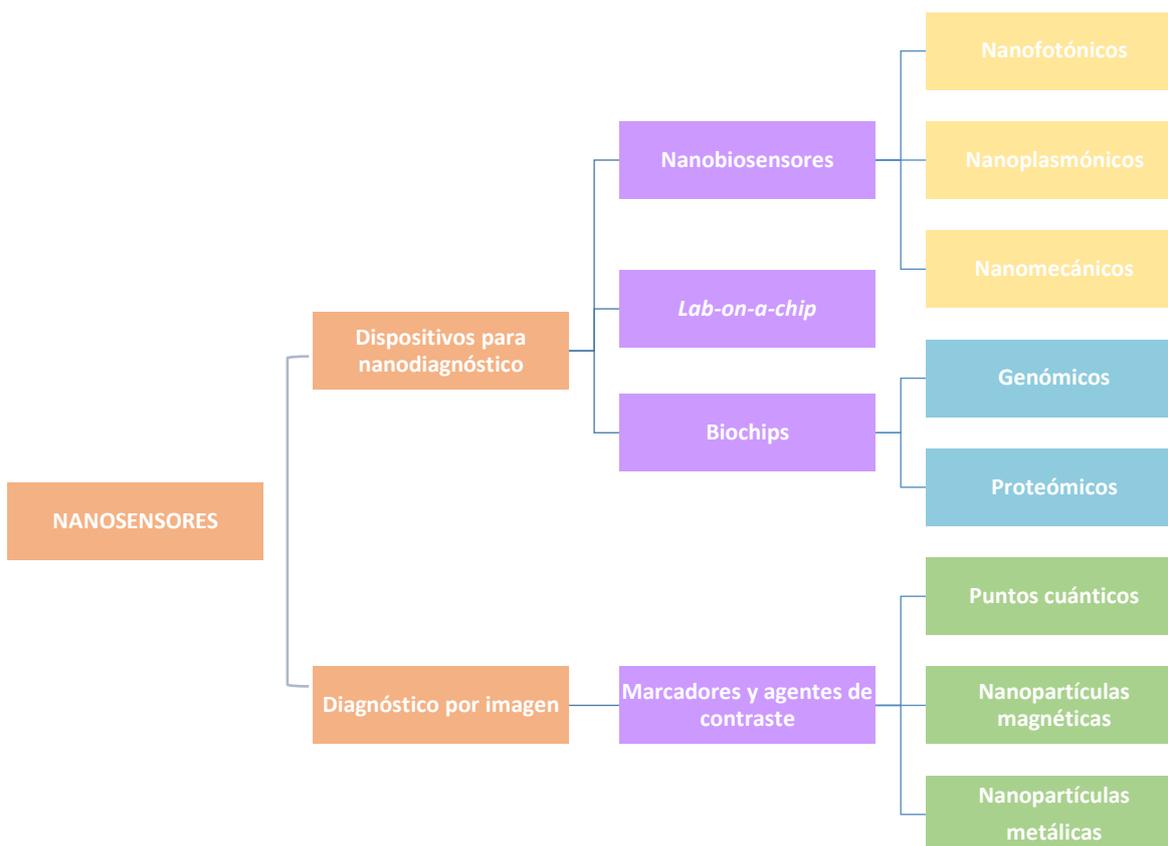


Figura 2. Esquema jerárquico de la clasificación de los distintos tipos de nanosensores.

En la realización de pruebas en las que se utilicen nanosensores para el diagnóstico precoz, seguimiento y tratamiento de enfermedades, se pueden diferenciar dos sectores fundamentales. Uno de ellos es el diagnóstico por imagen, el cual mediante partículas sensoras (puntos cuánticos, nanopartículas magnéticas y nanopartículas metálicas), permite el marcaje de células afectadas y su acumulación en ellas, obteniéndose imágenes del lugar afectado. Y el otro sector es el que emplea dispositivos como los nanobiosensores, biochips y *lab-on-a-chip*, los cuales realizan pruebas bioquímicas para establecer un diagnóstico (Lechuga, 2011).

4.3.1 Dispositivos para el nanodiagnóstico de enfermedades.

En el diseño de este tipo de nanodispositivos se tiene en cuenta donde van a tener que actuar, si a nivel interno o externo del organismo, de modo que las características de unos y otros contemplan distintas necesidades para que consigan los objetivos propuestos:

- **Nanodispositivos de utilización *in vivo*.** Este tipo de dispositivos tienen que ser introducidos en el organismo para que puedan determinar la presencia o no de alguna alteración biológica relacionada con el desarrollo de una patología, y poder cuantificar los biomarcadores presentes. Para estos dispositivos es importante que el material que lo componga, sobre todo el material que va a estar en contacto con el tejido humano, esté adaptado para que sea biocompatible con el organismo, de modo que no desencadene problemas de toxicidad u otros efectos adversos (Lechuga, 2011).
- **Nanodispositivos de utilización *in vitro*.** En este caso se utiliza el dispositivo con muestras orgánicas procedentes del paciente para determinar o descartar la presencia de una posible patología. En este caso, no es necesario que el dispositivo haga las mediciones en el interior del organismo, y solo con poca cantidad de muestra es capaz de dar un resultado válido y fiable. También existe la posibilidad de realizar distintas opciones de diseño que aportan resultados más rápidos, precisos y con elevada sensibilidad, suponiendo una mayor comodidad para el paciente (Lechuga, 2011).

Por ello se piensa que la llegada, en un futuro próximo, de novedosos dispositivos de utilización *in vitro* van a formar parte de los métodos más usados para el diagnóstico de enfermedades, de manera más estable y prolongada en el tiempo que los de empleo *in vivo* (Lechuga, 2011).

4.3.1.1 Nanobiosensores

Estos dispositivos son extremadamente sensibles y selectivos, ya que están formados por un receptor biológico al que se va a unir específicamente al analito objetivo presente en la muestra. Para completar la composición del nanobiosensor, este va a estar conectado a un transductor cuyo objetivo, una vez se produzca la unión entre el receptor y el ligando complementario, es detectar el cambio físico y/o químico que se produzca como consecuencia de esa interacción. Una vez detectado ese cambio, lo analiza y procesa ofreciendo una señal que permite una interpretación, por parte del paciente o del clínico, para realizar el diagnóstico (Figura 3) (Méndez y Muñoz, 2012).

En este tipo de nanosensores no es necesario el empleo de sustancias fluorescentes permitiendo hacer un análisis rápido y directo a tiempo real, determinando no solo qué tipo de biomarcador ha detectado, sino, además, ofreciendo la posibilidad de conocer su concentración para diferenciar distintos estados patológicos (Lechuga, 2011).

Debido a su pequeño tamaño, este tipo de dispositivos pueden ser implantados en el interior del organismo de manera que haga mediciones desde dentro, o bien se utilizan *in vitro* a partir de muestras del paciente como aparece en la Figura 3.

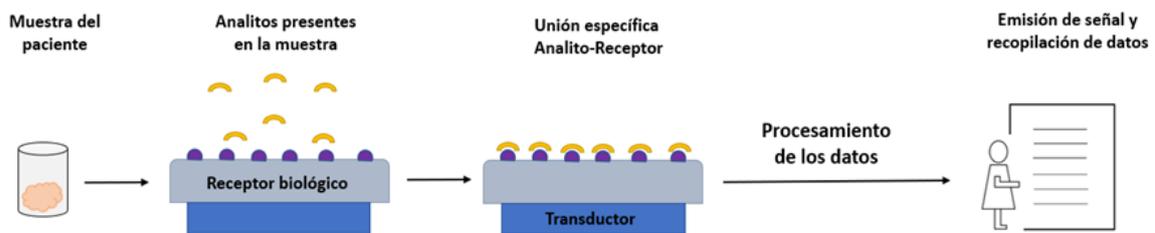


Figura 3. Representación de un nanobiosensor utilizado in vitro.

La cantidad de muestra necesaria para utilizar estos nanobiosensores es mínima, del orden de micro a nanolitros, de manera que resulta más cómoda para el paciente, además de tratarse de una técnica menos invasiva (Lechuga, 2011; Budhathoki-Uprety et al., 2019). De hecho, se está investigando sobre su futura utilización en:

- **Consulta médica en el centro de salud.** De este modo ofrece la posibilidad de realizar pruebas diagnósticas en el mismo momento que se está realizando la entrevista al paciente, por lo que es posible obtener un diagnóstico específico en pocos minutos. Con la confirmación de la presencia de la patología se pueden diseñar tratamientos completamente personalizados para el paciente, buscando una mayor calidad de vida y, en su posibilidad, la curación (Lechuga, 2011; Bakhori et al., 2018).
- **Urgencias.** De igual manera que en consulta, estos nanobiosensores permiten hacer mediciones en el momento en el que el paciente está en urgencias, e incluso en caso de tener que ser intervenido, pudiendo ser aplicados al material de cirugía para guiar de manera más precisa a los cirujanos (Lechuga, 2011).
- **Domicilio del paciente.** Se trata de dispositivos que pueden ser adquiridos por los propios pacientes para realizar pruebas diagnósticas desde la comodidad del hogar, ofreciendo incluso la posibilidad de almacenar los datos en el historial del clínico del paciente (Lechuga, 2011).

Por otro lado, los nanobiosensores se pueden subdividir en varias categorías en función de su composición y funcionamiento. Entre ellos están los biosensores nanoplasmónicos, nanofotónicos y mecánicos. Además, existen nanobiosensores basados en nanopartículas que permiten el diagnóstico por imagen.

• **Nanobiosensores nanofotónicos.** Su funcionamiento se basa en el conocimiento y aplicación de la nanofotónica, es decir, la ciencia que estudia la interacción de la luz con la materia a escala nanométrica. Estos nanobiosensores permiten recopilar información de la luz reflejada tras producirse modificaciones en algunas de las propiedades de la luz incidente. Existen varios tipos de materiales que se utilizan para este tipo de nanobiosensores, uno de ellos es la sílice, la cual también puede ser aplicada para detectar cambios postraduccionales en las proteínas, por lo que su utilización también es importante en la nanomedicina (Liang et al., 2017; <http://www.upv.es/>).

En relación con este grupo de nanobiosensores nanofotónicos, recientemente se están desarrollando unas nanopipetas, ilustradas en la Figura 4, que actúan como una fibra óptica capaz de medir distintos parámetros en el entorno cercano a un conjunto de células o, de forma ideal, haciendo mediciones en el interior de una única célula (Zhang et al., 2016). Estos sistemas tienen la capacidad de medir concentraciones picomolares (10^{-12} M) de biomoléculas, además de detectar polimorfismos en el ADN de hasta solo un nucleótido; esto las hace de gran utilidad en el diagnóstico y prevención de enfermedades como el cáncer (Zhang et al., 2016; Lechuga, 2011).

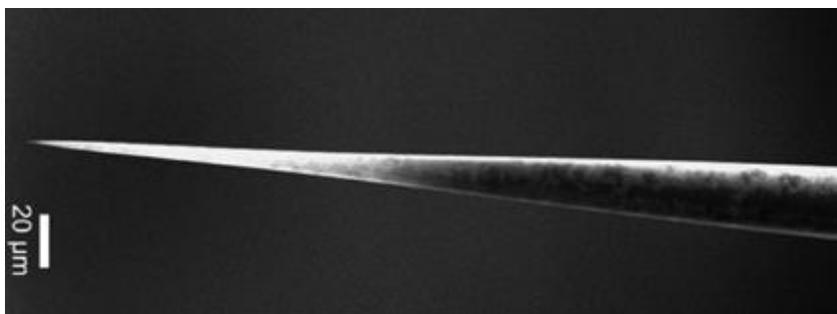


Figura 4. Imagen ampliada de la punta de una pipeta de cuarzo (Zhang et al., 2016).

Esta nanopipeta es de pequeñas dimensiones y su punta, en forma de lanza de entre 30 y 50 nanómetros, hace que se pueda introducir en el interior de las células sin destruirlas y sin modificar las características de su membrana ni su funcionamiento habitual, de manera que, son capaces de realizar mediciones intracelulares (Lechuga, 2011). Este tipo de nanosensor resulta de gran interés en el mundo de la investigación por algunas de las propiedades que

presenta, como su elevada sensibilidad para medir pequeños cambios en el microambiente celular y la alta resolución de sus imágenes químicas; permitiendo hacer monitorizaciones en tiempo real (Zhang et al., 2016; Nascimento et al., 2016).

Para que las nanopipetas realicen las mediciones, en sus puntas suelen tener fijados unos receptores específicos, como anticuerpos o agentes quelantes, que permanecen inmovilizados biofuncionalizando el nanosensor. Si se produce el reconocimiento del analito objetivo por parte del biorreceptor, se produce un cambio de corriente en el material semiconductor que forma el nanosensor, de manera que es detectado por unos electrodos, y a continuación, se recopilan y se analizan los datos, mostrándose los resultados obtenidos respecto a posibles cambios patológicos o del estado fisiológico del microambiente celular (Zhang et al., 2016; Nascimento et al., 2016).

- **Nanobiosensores nanoplasmónicos.** Se trata de un tipo de nanosensores cuyo funcionamiento está basado en el principio de resonancia de plasmón de superficie localizada, cuyas siglas en inglés son LSPR (Lechuga, 2011).

Como se representa en la Figura 5, este fenómeno consiste en la aplicación de una luz con un ángulo e intensidad de incidencia determinado, a través de un cristal dieléctrico, hacia una superficie metalizada y previamente funcionalizada, que va a estar en contacto con la muestra (Lechuga, 2011; Liang et al., 2017). Si al estudiar la luz reflejada con un espectrofotómetro se detecta un cambio de resonancia óptica entre los espectros inicial y emitido, se determina que los receptores funcionalizados han captado a la molécula objetivo de la muestra y por tanto confirman su presencia (Liang et al., 2017).

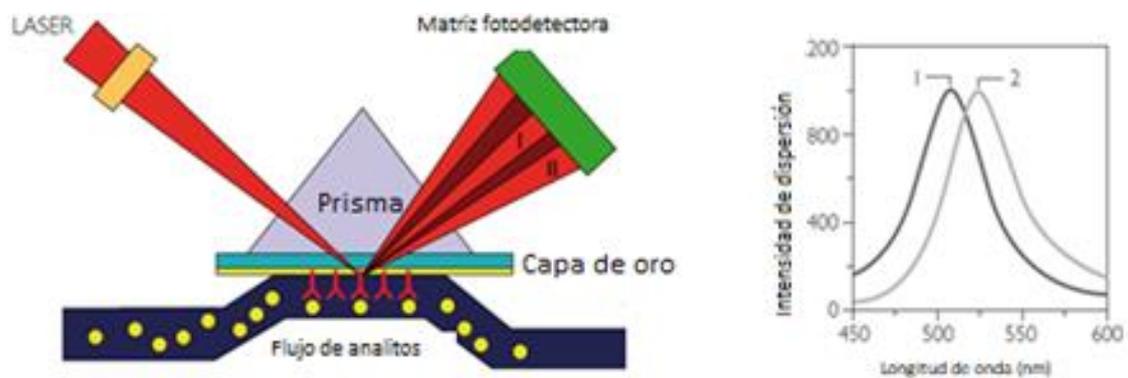


Figura 5. Representación esquemática del principio de resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR) y la modificación de la longitud de onda tras la unión del analito al biorreceptor

(Imagen modificada de Lechuga, 2011).

Como material dieléctrico se utiliza frecuentemente cuarzo, el cual va a ser recubierto por una capa de nanopartículas plasmónicas de naturaleza metálica, principalmente nanopartículas de oro (Mei et al., 2017). Éstas poseen la propiedad de LSPR, por lo que al absorber la luz se excitarán los electrones de la capa metálica, produciendo una señal de dispersión resonante, de modo que consigue mostrar gran sensibilidad a cambios cercanos a su superficie, como la unión a analitos, mediante desplazamientos en las longitudes de onda (Dreaden et al., 2012).

Para conseguir la funcionalización del nanosensor, se conjuga la capa de nanopartículas de metal con un receptor específico, como pueden ser anticuerpos, de modo que una vez se ponga en contacto con el analito, se produce un reconocimiento e interacción entre ellos y, por lo consiguiente, un desplazamiento plasmónico que indica la detección del antígeno objetivo (Mei et al., 2017).

Como fuente de luz se suele emplear una luz blanca de banda ancha, como es la que emite una lámpara halógena de tungsteno, que va a ser responsable de la excitación de la superficie metalizada tras incidir sobre ésta (Liang et al., 2017).

La longitud de onda emitida y su intensidad, captadas por el espectrofotómetro, son parámetros variables en función del tipo y tamaño de la nanopartícula metálica, su forma, separación entre ellas, la densidad electrónica, su composición y la constante dieléctrica del medio (Mei et al., 2017; Rosa et al., 2020).

Para su aplicación en nanodiagnóstico, este tipo de nanosensores se han conseguido adaptar a chips, de manera que mediante series de nanocolumnas de cuarzo de pocos nanómetros recubiertas con nanopartículas de oro es posible realizar mediciones de distintos analitos en un dispositivo de unos 25 milímetros (Raghu et al., 2018). También se han desarrollado nanofibras ópticas que terminan en una punta nanoplasmónica de escasos nanómetros que permite hacer mediciones de manera intracelular sin alterar la integridad de la membrana celular ni su actividad (Liang et al., 2017).

Algunas de las ventajas de estos nanobiosensores nanoplasmónicos para la aplicación en el diagnóstico de enfermedades es la elevada sensibilidad que presentan, su alta especificidad para la detección de modificaciones postraduccionales de proteínas, y la posibilidad de cuantificación sin necesidad de emplear sustancias fluorescentes ni producir la lisis celular (Mei et al., 2017; Liang et al., 2017; Dreaden et al., 2012).

En la actualidad se está estudiando su empleo para la detección de antígenos (Mei et al., 2017), para el diagnóstico de Alzheimer gracias a la detección de ovillos neurofibrilares y la formación de placas amiloides en células neurológicas (Liang et al., 2017), y en el estudio y diagnóstico del cáncer mediante el análisis de exosomas (Raghu et al., 2018).

- **Nanobiosensores nanomecánicos.** Estos son nanobiosensores formados por un sistema de micropalanca que se asemejan a un trampolín de unos 1000 nanómetros de espesor (Figura 6), cuyos extremos se encuentran funcionalizados con un receptor complementario al biomarcador que se pretende detectar, generalmente un anticuerpo (<https://digital.csic.es/>).

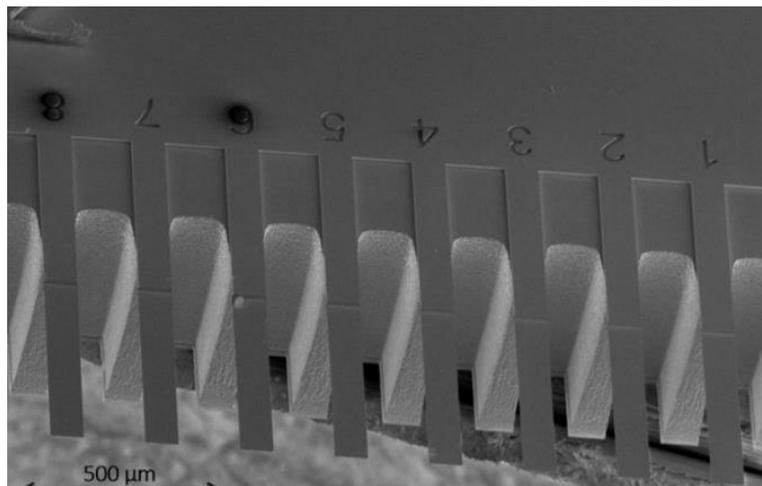


Figura 6. Sistema de micropalanca de un biosensor nanomecánico (García-Martín JM, 2019).

Estos microtrampolines están compuestos de silicio y recubiertos en sus extremos con nanopartículas de oro, permitiendo que una vez se produzca la interacción analito-receptor, se produzca un cambio de color medible (<https://digital.csic.es/>).

Cuando se produce el reconocimiento y la unión del biomarcador al receptor, se produce un aumento en la masa de la palanca y cambia alguna de sus propiedades como la elasticidad o la rigidez del sistema. Al aplicar un láser, y rebotar en la palanca, se produce una resonancia mecánica provocando distintas oscilaciones en función del analito que se ha unido a ella. Mediante un fotodetector es posible diferenciar la intensidad de esa frecuencia de oscilación, de modo que se puede interpretar la existencia, o no, de la interacción del analito objetivo a detectar (García-Martín JM, 2019; <https://digital.csic.es/>).

Dada la posibilidad de hacer sistemas con gran número de palancas a bajo precio, se podría determinar la presencia a la vez de numerosos analitos distintos (Lechuga, 2011).

4.3.1.2 Lab-on-a-chip.

Esta tecnología, conocida en español como “laboratorio en un chip”, permite agrupar numerosas pruebas que en su desarrollo tradicional requerían ser empleadas en un laboratorio, de modo que se realizan de forma más rápida y automática en un dispositivo portátil y desechable. De ese modo se integran un conjunto de técnicas necesarias para establecer un determinado diagnóstico (Lechuga, 2011).

En esta tecnología pueden emplearse varios tipos de muestras de fluidos para ser analizadas, entre ellos sangre, suero, orina o saliva, de los cuales solo se necesita una pequeña cantidad para poder obtener un resultado válido de manera cómoda, rápida, económica y en un dispositivo biocompatible con la muestra, reduciendo la probabilidad de degradación. Además, por la sencillez de su uso y la fácil interpretación de sus resultados, se evita la necesidad de que sea manipulado por personal cualificado (Méndez y Muñoz, 2012).

Estos dispositivos portátiles están formados en su interior por una membrana de elevada porosidad de nitrocelulosa o por una red de capilares. En dicha membrana van a existir varios puntos clave, entre los que se encuentran i) una zona abierta con un colector para la deposición de la muestra, ii) una zona para la detección de analitos con unas nanopartículas conjugadas con unos anticuerpos específicos, y iii) la zona donde se revelan de los resultados (Méndez y Muñoz, 2012).

Cuando se coloca la muestra de fluido del paciente, va a ir ascendiendo por difusión debido al mecanismo de flujo lateral de fluidos, pasando por las distintas zonas del chip (Méndez y Muñoz, 2012); la región diseñada para la detección del analito deberá contener nanopartículas nanconjugadas con anticuerpos específicos para la molécula objetivo (Rosa et al., 2020). Así, si la muestra contiene el ligando específico para el anticuerpo con el que se conjugó la nanopartícula se producirá la unión del nanoconjugado con la biomolécula (Rosa et al., 2020). Las nanopartículas utilizadas en estos dispositivos suelen ser oro, carbón o incluso sustancias fluorescentes (Méndez y Muñoz, 2012).

Finalmente, al continuar la difusión, tiene lugar la llegada del complejo nanopartícula bioconjugada-ligando hasta el lugar de reacción, donde se encuentran anclados en la membrana el mismo tipo de anticuerpos con los que se conjugaron las nanopartículas, por lo tanto, si se produjo la unión del ligando al nanoconjugado, estos anticuerpos volverán a unirse al otro extremo del ligando (Figura 7) (Rosa et al., 2020).

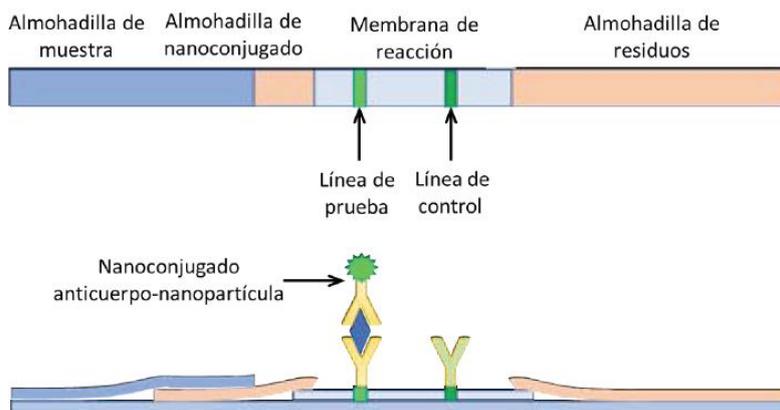


Figura 7. Demostración de la captación del biomarcador mediante un nanoconjugado y un anticuerpo (Rosa et al., 2020).

Esta unión nanoconjugado-ligando-anticuerpo recibe el nombre característico de unión tipo “sándwich”, y es capaz de producir una señal luminiscente cuando se excita con una determinada longitud de onda, pudiendo ser observable a simple vista o mediante un detector óptico (Rosa et al., 2020; Méndez y Muñoz, 2012).

En el caso de que en la muestra no estuviese presente el ligando que se pretendía detectar, no se produciría la unión al nanoconjugado, y tampoco lo haría al anticuerpo sin marcar en la zona de revelado de la prueba. La difusión de la muestra continuaría hasta la zona de control donde el anticuerpo “libre” del nanoconjugado sería atrapado por un componente presente en la matriz mostrando fluorescencia y dando un resultado negativo (Rosa et al., 2020).

Los dispositivos *lab-on-a-chip* están siendo desarrollados e investigados para detección cualitativa de la presencia de células cancerígenas, y en casos ideales de manera cuantitativa. Para ello, estos dispositivos van a constar del material adecuado para provocar la lisis celular mediante cambios osmóticos y/o de temperatura una vez se introduzca la muestra. Con ello se pretende que el material genético salga fuera de las membranas celulares y pueda ser detectado por analogía de sus secuencias con las presentes en receptores del *lab-on-a-chip*, afirmando la presencia de cáncer e incluso determinando su tipo (Méndez y Muñoz, 2012).

Algunas de las aplicaciones futuras de este tipo de nanosensores, van encaminadas al tratamiento de enfermedades mediante su posible implantación en el organismo para la detección de biomoléculas o incluso para comprobar la posibles patologías en algunos órganos y tejidos (<https://www.rsc.org/journals-books-databases/about-journals/lab-on-a-chip/>).

Se prevé que de aquí a unos años estos dispositivos estén comercializados para poder hacer pruebas desde el propio domicilio del paciente ofreciendo los resultados en menos de una hora; podemos considerar éste, sin duda, uno de los proyectos más innovadores de la nanotecnología aplicada al diagnóstico (Lechuga, 2011; Méndez y Muñoz, 2012).

4.3.1.3 Biochips.

Son dispositivos de pequeño tamaño que permiten la detección de genes y proteínas, desarrollados mediante la aplicación de varias ciencias como son la biología, la informática y la tecnología, sumado a los conocimientos sobre genómica y proteómica. Además, resultan de gran utilidad para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades neurodegenerativas y del cáncer (Torrades, 2002; Méndez y Muñoz, 2012).

Este tipo de nanosensores también son conocidos con el nombre de "*microarrays*". Estos están compuestos por una serie de "*spots*" (puntos), equidistantes entre ellos, en un espacio total de menos de 250 micrómetros, permitiendo hacer múltiples análisis a diversos analitos con gran rapidez (Poveda, 2016).

Dichos spots van a asemejarse a unos pocillos sobre la superficie del soporte en los que va a tener lugar la realización de la prueba, donde se van a fijar las biomoléculas que van a actuar como receptores. Estas biomoléculas se denominan también sondas, pudiendo ser cadenas de ADN complementarias a determinadas secuencias de los anticuerpos o proteínas "objetivo" en la muestra (Poveda, 2016).

Para la fijación de estas biomoléculas receptoras en los spots del biochip, es necesario la elección de una superficie adecuada en función de si van a ser microarrays de proteínas o de material genético. Con el material adecuado (nitrocelulosa, vidrio o silicio entre los principales) es posible que la biomolécula quede unida a la superficie sin que pierda su estructura ni sus propiedades para que pueda unirse a otras moléculas (Poveda, 2016; Torrades, 2002).

Finalmente, también será necesario recurrir a un sistema de marcaje de la muestra que permita su identificación mediante sistemas de detección de rayos X, pruebas fotográficas o fotodiodos en función del método empleado (Méndez y Muñoz, 2012; Poveda, 2016).

El empleo de material genético como sonda, conlleva a la capacidad de hibridarse con la muestra, uniéndose por las regiones complementarias y pudiendo mostrar fluorescencia cuando pasan por un lector óptico. A medida que aparezca en los pocillos unas intensidades de fluorescencia distintas, sus medidas serán útiles para conocerse el porcentaje de unión a la cadena de ADN, e incluso comprobar posibles mutaciones (Torrades, 2002).

Por ello, estos nanosensores son de gran importancia en el desarrollo de dispositivos “*lab-on-a-chip*” como métodos de elevada fiabilidad en sus resultados, con posibilidad de ofrecer datos cuantitativos y de analizar múltiples biomarcadores en el mismo momento suponiendo un ahorro de tiempo (Poveda, 2016). Además, presentan gran rendimiento y por no necesitar radiactividad para su revelado, como en unos comienzos, es más seguro para los investigadores (Torrades, 2002).

Algunas de sus posibles aplicaciones actuales y futuras son el desarrollo de fármacos, la prevención de enfermedades, el tratamiento y seguimiento de patologías al conocer secuencias genéticas y sus posibles mutaciones (Torrades, 2002).

Se describen distintos tipos de biochips en función de su funcionamiento:

- **Biochips genómicos.** Se basan en el conocimiento de la expresión de genes en células para determinar alteraciones y mutaciones en su secuencia relacionadas con el desarrollo de algunas enfermedades como el cáncer (Méndez y Muñoz, 2012).

En un inicio, los primeros biochips se desarrollaron con cadenas de ADN para obtener información sobre su secuencia, permitiendo hacer búsquedas en bases de datos y realizar amplificaciones de su secuencia mediante la PCR (Poveda, 2016).

Algunos biomarcadores del cáncer son detectados por esta metodología, como p16, p53, el gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) o los micro-ARN (miARN) (Méndez y Muñoz, 2012).

- **Biochips proteómicos.** Este tipo de sensores pretenden determinar posibles alteraciones postraduccionales de las proteínas, así como su conformación y su composición. Es de gran utilidad en el cáncer para la identificación de las proteínas expresadas en la superficie de la célula tumoral, pudiendo así discriminar las células de características fisiológicas normales de las cancerosas (Méndez y Muñoz, 2012).

En este caso, para el reconocimiento de dichas proteínas se van a utilizar anticuerpos, recurriendo al marcaje mediante compuestos fluorescentes como pueden ser los puntos cuánticos (Méndez y Muñoz, 2012).

Para utilizar este tipo de biochips es necesario realizar un estudio previo para determinar qué tipo de receptor específico es el adecuado para el reconocimiento y unión de la proteína a detectar. Esto es debido a que las proteínas presentan una elevada heterogeneidad por posibles alteraciones postraduccionales, además de la inexistencia de técnicas de

amplificación de las proteínas como si se puede hacer en el caso de material genético (Poveda, 2016).

4.3.2 Diagnóstico por imagen mediante marcadores y agentes de contraste.

También para el nanodiagnóstico se van a emplear nanopartículas, cuyas propiedades permiten no solo la identificación de patologías, sino también pueden controlar la liberación de fármacos en el lugar adecuado, el marcaje celular de zonas dañadas en el organismo y la identificación de zonas apoptóticas (Méndez y Muñoz, 2012).

A continuación, se describen algunos de estos sistemas nanoparticulares empleados para el diagnóstico de enfermedades:

4.3.2.1 Puntos cuánticos.

Los puntos cuánticos, o “*quantum dots*” (QD), son cristales inorgánicos de tamaño muy pequeño, entre 1 y 10 nanómetros, los cuales se encuentran recubiertos por una capa de metal de naturaleza semiconductor, como seleniuro de cadmio (CdSe) o telururo de cadmio (CdTe) (Lechuga, 2011; Méndez y Muñoz, 2012).

Al aplicarle energía lumínica procedente de una lámpara, los fotones, con una determinada longitud de onda, provocan la excitación de los electrones que ascienden de la capa de valencia a la de conducción y cuando descienden de vuelta emiten fotones de distinta longitud de onda, provocando una fluorescencia característica (Rosa et al., 2020).

Estas nanopartículas resultan interesantes porque presentan la propiedad de confinamiento cuántico, el cual se rige por principios de la física y de la mecánica cuántica. Los electrones van a tener una movilidad reducida de solo unos pocos nanómetros, y los cuales van a ser responsables del de las distintas propiedades de los QD, como el color de emisión por la alteración de los niveles de energía característicos de cada material (Figura 8). (Rosa et al., 2020).

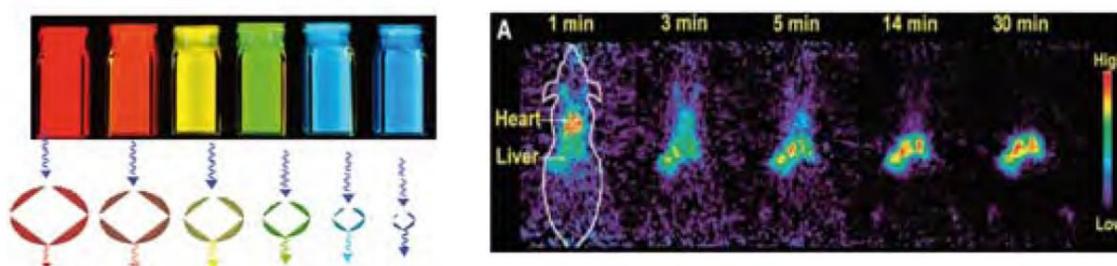


Figura 8. La primera imagen corresponde a los distintos colores fluorescentes en función de los tamaños de los puntos cuánticos y la segunda muestra la acumulación en los órganos (Lechuga, 2011).

Los puntos cuánticos van a emitir fluorescencia con gran intensidad en función del tamaño que posean, pudiendo mostrar distintos colores y, además, presentan elevado tiempo de supervivencia en el organismo por su escasa fotodegradación (Lechuga, 2011; Méndez y Muñoz, 2012).

Por sus propiedades lumínicas únicas, los puntos cuánticos son utilizados con objetivo de que se acumulen en los órganos y tejidos afectados, de manera que actúan como localizadores del lugar de la afección como aparecen en la Figura 8. Una vez sean detectados mediante rayos ultravioleta, son eliminados del organismo excretados en la orina, evitando la toxicidad derivada por su composición metálica (Lechuga, 2011).

Uno de los empleos de este tipo de marcadores, consiste en el reconocimiento de proteínas superficiales de las membranas celulares e incluso de la identificación de material genético mediante la adhesión de QD. Para ello, previamente se lleva a cabo el recubrimiento de la zona externa del QD mediante biomoléculas específicas, como anticuerpos, que van a funcionalizarlos, permitiendo el reconocimiento y unión selectiva a estas zonas del organismo (Lechuga, 2011; Méndez y Muñoz, 2012). Es por ello que permite reconocer y unirse de manera selectiva y específica a células afectadas, a proteínas y a determinados antígenos (Méndez y Muñoz, 2012).

Por este motivo, se está valorando el empleo de QD como sondas que permitan la detección de patologías y la obtención de imágenes del interior del organismo de una manera dirigida, así como para la detección de la presencia de determinados tipos de virus (Chen et al., 2016).

Además, se ha estudiado la posibilidad de aplicarlo a la detección de cáncer, accidentes cerebrovasculares, diabetes, presencia infecciones de víricas, o también en estudios forenses, e incluso monitoreo de ácidos nucleicos y otros metabolitos (Soler, 2012; Vélez-Reséndiz y Vélez-Arvizu, 2018; Gómez, 2019).

4.3.2.2 Nanopartículas magnéticas.

Este tipo de nanopartículas, debido a su pequeño tamaño, presentan propiedades superparamagnéticas, es decir, cuando se aplica un campo magnético externo se magnetizan y pueden utilizarse para técnicas de contraste en resonancias magnéticas. El ejemplo más característico son las nanopartículas de óxido de hierro (Fe_3O_4), que mediante un campo magnético exterior se puede controlar su movimiento por el organismo, siendo útiles para el diagnóstico, y permite eliminar células cancerosas por su calentamiento, actuando como tratamiento (Lechuga, 2011; Méndez y Muñoz, 2012).

Estas nanopartículas pueden utilizarse para el tratamiento de patologías como la diabetes o el cáncer, en donde mediante la terapia hipertérmica, al someterle a un campo magnético de alta intensidad, las nanopartículas comienzan a aumentar su temperatura por movimientos vibracionales, útil en la eliminación de células cancerígenas sin destruir células sanas de su alrededor, y también fomenta la producción de insulina en el páncreas (Lechuga, 2011; Soler, 2012).

Otra aplicación posible es en el cáncer, ayudando a la localización y comprobación del estado de tumores como el de hígado, o próstata, además permiten ver el estado de las células del páncreas para el diagnóstico precoz de diabetes, y para la vehiculización de fármacos (Méndez y Muñoz, 2012; Gómez, 2019).

Para la administración de fármacos, estas nanopartículas magnéticas se pueden introducir en liposomas que sean sensibles a la temperatura junto a las moléculas del fármaco, por lo que al generar un el campo magnético alterno se produciría la fusión de la cubierta y se liberaría el fármaco en el lugar adecuado (Schuerle et al., 2017).

Gracias a que el hierro y oxígeno son biodegradables, con el uso de nanopartículas magnéticas se reduce la existencia de metales pesados en el organismo, consiguiendo una alta biocompatibilidad. Además, como sistema terapéutico contra el cáncer, presentan menores efectos adversos relacionados con la propia terapia anticancerosa (Lechuga, 2011; Soler, 2012).

4.3.2.3 Nanopartículas metálicas.

Concretamente las nanopartículas de oro (AuNP), presentan algunas propiedades que resultan de gran utilidad en nanomedicina para el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades. Debido a su pequeño tamaño tienen la capacidad de almacenarse en tejidos y órganos dañados de manera más rápida y eficaz que otras sustancias. También pueden absorber rayos X a elevadas cantidades, lo cual supone que pueden mostrar imágenes por contraste y emplearse en radioterapia (Dreaden et al., 2012).

Por su propiedad de resonancia de plasmón de superficie localizada, las AuNP son utilizadas en biosensores nanofotónicos. Además, otro método en el que pueden ser utilizadas estas nanopartículas es la Espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS), técnica espectroscópica molecular que usa la interacción de la luz con la materia para obtener información sobre la composición o las características de un material. En esta técnica, las biomoléculas a detectar van a unirse al nanosensor y, tras aplicarle a la muestra una luz incidente, se va a producir un desplazamiento de la longitud de onda en el espectro recogido,

conocido como “dispersión de Ramán”, que va a ser característico de cada molécula (Yan et al., 2015; Rosa et al., 2020).

Cuando las biomoléculas a detectar, como material genético o proteínas, quedan adheridas a superficies metálicas como en las AuNP, se produce un intercambio de energía que amplifica la señal del espectro debido a la oscilación de los electrones en las bandas de conductancia de las AuNP (Yan et al., 2015; Rosa et al., 2020).

Por presentar esta aplicación de SERS, las AuNPs permiten detectar zonas alteradas del organismo mediante el marcaje celular por emisión de fluorescencia, la cual va a variar en función del tamaño y forma de las AuNPs, presentando una frecuencia de resonancia distinta cuando se une el ligando adecuado a su superficie, lo que supone una dispersión de la luz en el infrarrojo cercano por variaciones en el índice de refracción, modificando el espectro de emisión. Además, también es posible la aplicación de luz infrarroja para que se produzca una elevación de la temperatura en el lugar de acumulación y destruya células patógenas al igual que las nanopartículas magnéticas (Lechuga, 2011).

En la Figura 9 se representa otra de las utilidades de estas nanopartículas, la vehiculización de fármacos junto a AuNPs puede mostrar imágenes de su liberación prolongada en el lugar de acción. Las AuNPs pueden ser introducidas en liposomas para su posterior liberación o ser utilizadas en el recubrimiento de estos nanosistemas, uniéndose a ligandos específicos para posibilitar su internalización en las células. Además, se ha comprobado que algunos de estos complejos también pueden entrar y salir por unas fenestraciones en las membranas celulares que suelen ir desde los 200 nanómetros al micrómetro (Méndez y Muñoz, 2012).

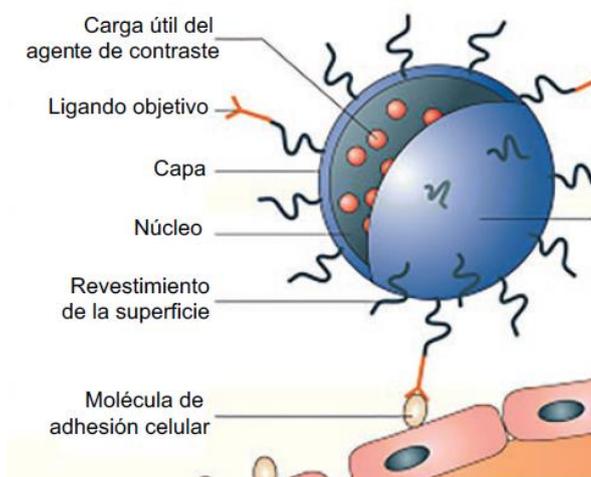


Figura 9. Representación de la entrega de fármacos mediante liposomas dirigidos con nanopartículas de oro en su interior (Vélez-Reséndiz y Vélez-Arvizu, 2018).

4.4 Aplicación de los nanosensores en el área sanitaria.

En los últimos años, la incidencia de algunas enfermedades ha ido en aumento con una elevada morbimortalidad, es decir, ha aumentado el número de casos patológicos que a medio o largo plazo pueden producir la muerte.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), algunas las enfermedades crónicas de mayor prevalencia a nivel mundial son las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y las enfermedades metabólicas, más concretamente la diabetes (<https://www.who.int/es>). Por lo tanto, este tipo de patologías van a ser un objetivo principal a tratar en la aplicación de la nanotecnología al campo de la salud (Lechuga, 2011).

A continuación, se van a recoger algunos de los nanosensores que están siendo investigados para poder ser aplicados en los próximos años para la prevención, tratamiento y diagnóstico de algunas de las enfermedades y patologías de mayor incidencia.

4.4.1 Nanosensores en trastornos neurodegenerativos.

Se trata en este apartado de enfermedades incapacitantes que cursan con el deterioro de la función cognitiva y de las emociones. Uno de los tipos de demencia más habituales es el Alzheimer con un 60-70% de los casos y con 10 millones nuevos cada año. En esta patología es importante una detección precoz para la administración de un tratamiento adecuado con el fin de retrasar los síntomas que empeoren la calidad de vida del paciente (<https://www.who.int/es>).

Una posible aplicación futura de los nanosensores en el diagnóstico precoz de Alzheimer es la detección de placas amiloides y ovillos neurofibrilares por sensores nanoplasmónicos. Se conoce que el mal plegamiento y acumulación del péptido β -amiloide ($A\beta$) en el exterior de las neuronas junto a la formación de ovillos neurofibrilares de la proteína tau en el interior de células neuronales, actúan como biomarcadores patológicos de la presencia de Alzheimer. Recientemente, se ha podido confirmar su presencia mediante la visualización de neuroimágenes (<https://www.who.int/es>).

Debido a que las AuNP presentan la propiedad de LSPR, pueden emplearse para localizar proteínas y material genético en células, de modo que ha resultado interesante su acoplamiento a nanofibras ópticas que emplean técnicas nanoplasmónicas para el estudio de la expresión de proteínas y las posibles modificaciones postraduccionales acaecidas en el Alzheimer y otras patologías neurodegenerativas (Liang et al., 2017).

También se han estudiado las puntas de nanosondas funcionalizadas con anticuerpos A β 42 y anticuerpos tau-PS262 recubriendo las AuNP, de modo que al introducirlas en las células se produce una unión específica de las proteínas a los anticuerpos. Así, con la aplicación de una fuente de luz se generó un espectro LSPR diferente en el que se apreció la modificación de la longitud de onda a consecuencia de dicha unión proteína-anticuerpo, variable en función de la concentración de proteína (Figura 10) (Liang et al., 2017).

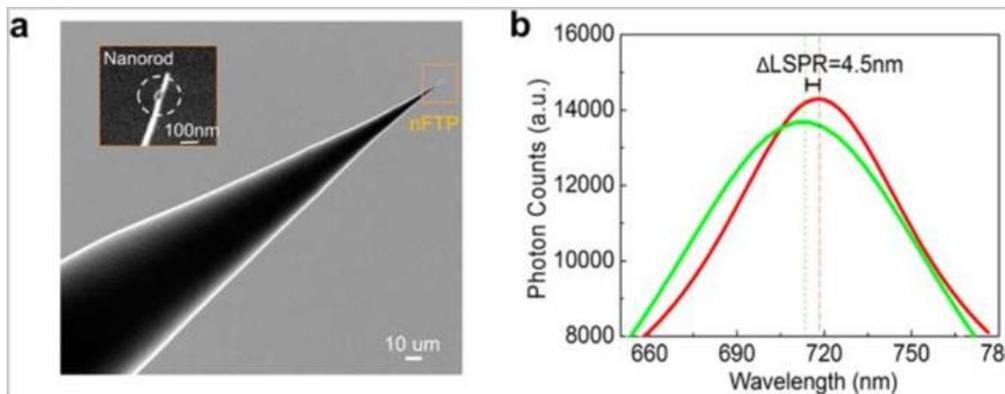


Figura 10. a) ampliación de la punta de nanofibra con nanopartículas de oro, b) alteración de la longitud de onda tras la unión de la proteína al anticuerpo (curva roja) (Liang et al., 2017).

Mediante una recta de calibrado con patrones de concentraciones conocidas de la proteína, se puede cuantificar su presencia en la célula con una sensibilidad de detección de entre 0'5 nanomolar a 0'5 micromolar. Adicionalmente, se ha comprobado la integridad de la membrana celular mediante el empleo de colorantes fluorescentes como la calceína-AM, que mediante fluorescencia verde confirma la actividad esterasa, y el etodio homodímero-1 (ethD-1), que emite fluorescencia roja si se altera la membrana al unirse a los ácidos nucleicos. Si la célula permanece inalterada, solo se observaría fluorescencia verde, indicando que ha conservado su actividad sin producirse la ruptura de membranas (Liang et al., 2017).

En próximos estudios se quieren realizar ensayos con múltiples sondas que permitan la medición en varias células a la vez mejorando el rendimiento de la prueba (Liang et al., 2017).

4.4.2 Nanosensores en diabetes.

La diabetes es una afección metabólica que cursa con hiperglucemia, el aumento de la concentración de glucosa en sangre. La diabetes tipo I es debida a una respuesta inmune que conlleva a la incapacidad de producción de insulina por la destrucción de las células β pancreáticas, sin embargo, es la diabetes tipo II la que presenta mayor prevalencia con un 90% de los casos, desarrollándose por una resistencia a la insulina y por alteración de las células pancreáticas (Soler, 2012).

- **Distintos nanosensores para el diagnóstico precoz de la diabetes.**

El empleo de nanopartículas magnéticas, como las de óxido de hierro, como agente de contraste, permite la obtención de imágenes del estado de las células pancreáticas, útil para el diagnóstico precoz de diabetes. Además, permite realizar una cuantificación de las células β pancreáticas, y controlar la infiltración de células del sistema inmune que conlleven a su destrucción (Soler, 2012).

Otro método podría ser el empleo de puntos cuánticos junto a nanohojas de disulfuro de tungsteno (WS_2), un metal de transición con propiedades electrónicas interesantes para la detección de la concentración de glucosa. En este caso, los puntos cuánticos van a tener una acción mimética con el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), producto de la oxidación de glucosa, de modo que en estos sistemas se ha demostrado la relación entre el grado de luminiscencia obtenido y la cantidad de glucosa en el organismo (Irani-nezhad et al., 2019).

También es posible el desarrollo de nanosensores compuestos de grafeno, un compuesto que actúa como conductor, y que pueden ser funcionalizados con ácido borónico afín por la glucosa. El dispositivo, representado en la Figura 11, consta de un electrodo de $Ag/AgCl$ de modo que cuando se produce la unión glucosa-receptor conlleva un cambio en la conductividad del grafeno, siendo el sistema capaz de hacer mediciones entre 2 micromolar y 25 milimolar, pudiéndose utilizar lágrimas y saliva como muestras (Zhu et al., 2016).

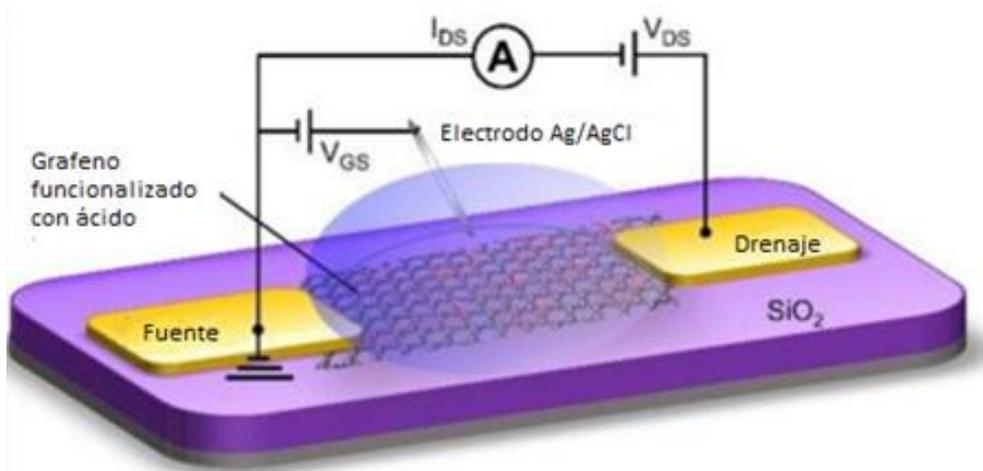


Figura 11. Placa de sílice donde se encuentra el grafeno funcionalizado y el electrodo de referencia para hacer las mediciones de glucosa (Imagen modificada de Zhu et al., 2016).

4.4.3 Nanosensores en enfermedades cardiovasculares.

Este tipo de patologías afectan a nivel del corazón y de los vasos sanguíneos formando parte de la mayor causa de morbilidad en el mundo, es por ello que el uso de nanosensores para su detección y prevención están en desarrollo. Algunas de estas enfermedades son aneurisma aórtico, infarto agudo de miocardio, insuficiencia cardíaca, hipertensión, aterosclerosis o inflamación de los vasos sanguíneos entre otras (Vélez-Reséndiz y Vélez-Arvízu, 2018).

- **Biosensores para la detección de actividad proteasa.**

La presencia de actividad proteasa alterada puede ser responsable de varias enfermedades, como las cardiovasculares o el cáncer, por lo tanto, en este caso van a actuar como biomarcadores. En una investigación reciente se desarrollaron nanosensores sensibles a la actividad proteasa extracelular, pudiéndose cuantificar en orina como método no invasivo de detección *"in vivo"* (Holt et al., 2018).

Estos nanosensores constan de un núcleo metálico de óxido de hierro, de tamaño entre 40 y 50 nanómetros, que pueden viajar por el organismo hasta detectar las zonas alteradas como se representa en la Figura 12. Además, estos núcleos van a tener a su alrededor, adheridos a modo de cubierta, los sustratos de las proteasas que a su vez están unidos a una molécula fluorescente. De este modo no emite fluorescencia, pero en el momento que entre en contacto con las enzimas, éstas van a producir la escisión del sustrato, liberándolo del núcleo magnético junto a la molécula fluorescente. Este complejo va a filtrarse en los riñones por su tamaño menor a 5 nanómetros y va recogerse en orina, donde sí emite fluorescencia (Holt et al., 2018).

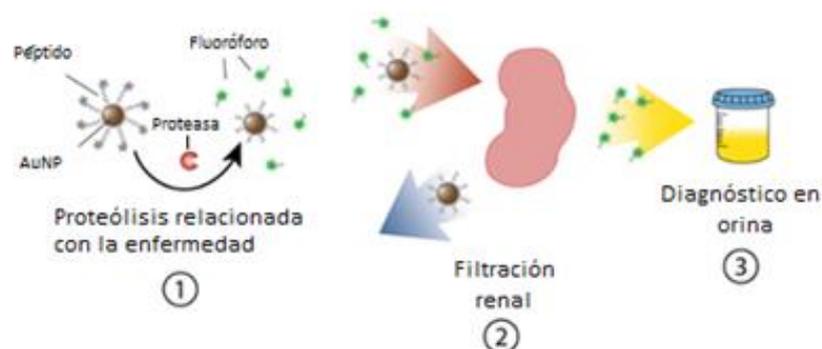


Figura 12. Esquema de detección de la actividad proteasa (Imagen modificada de Holt et al., 2018).

La señal fluorescente puede aparecer en la orina aproximadamente a la hora y media de haber sido administrado el nanosensor por vía intravenosa y se puede cuantificar la fluorescencia por inmunoprecipitación. Si la actividad proteasa se encuentra alterada, aparecerá mayor fluorescencia, significativo de una posible alteración cardiovascular (Holt et al., 2018).

- **Detección de óxido nítrico mediante nanosensores poliméricos biodegradables.**

Se conoce que el óxido nítrico (NO) es un biomarcador que funciona como mensajero bioquímico en procesos endógenos, y que en caso de desequilibrios puede estar relacionado con alteraciones cardiovasculares. En este caso se ha evaluado un nanosensor compuesto de moléculas sensoras, calceína (CAM), que van a estar dentro de una cápsula polimérica biodegradable de ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA), que va a tener en su cubierta unos receptores específicos que permitan el reconocimiento celular y su internalización dentro de la célula. Una vez dentro, como se observa en la Figura 13, las moléculas sensoras van a comenzar a liberarse progresivamente, y si está el biomarcador emiten fluorescencia detectable con diferente intensidad en función de su concentración, de lo contrario seguiría “apagada” (Yeo et al., 2015).

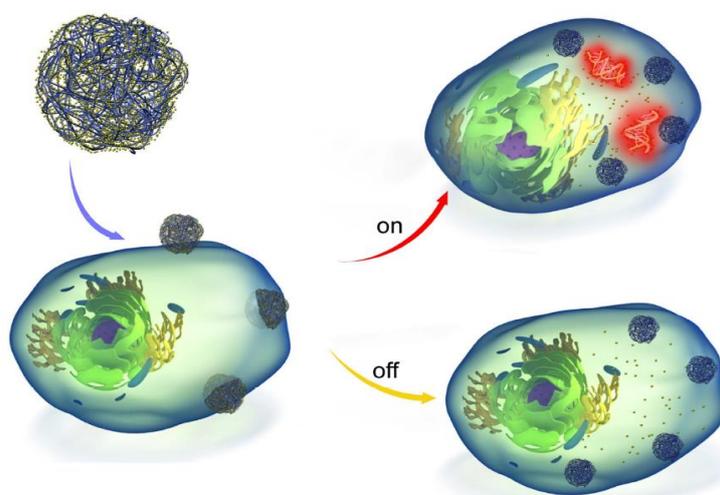


Figura 13. Esquema para la detección de NO intracelular (Yeo et al., 2015).

4.4.4 Nanosensores en cáncer.

El cáncer se caracteriza por la multiplicación y crecimiento descontrolados de células que pueden diseminarse hasta otras partes del organismo, desarrollando tumores, neoplasias o incluso metástasis, además de la pérdida de apoptosis. Se desencadena por alteraciones en el ADN motivadas por agentes externos o por factores genéticos. En las últimas dos décadas el número de casos ha aumentado considerablemente como consecuencia del aumento de la esperanza de vida y el desarrollo de nuevas técnicas de detección que contribuyen a la detección precoz y al aumento de la probabilidad de supervivencia (<https://seom.org/>).

- **Nanopilares de cuarzo para la detección nanoplasmónica del cáncer.**

Los exosomas son vesículas nanométricas secretadas por las células y que almacenan algunas biomoléculas. Debido al hecho de que una célula cancerígena expulsa mayor número de exosomas que una sana, pueden ser empleados como biomarcadores del cáncer detectables en fluidos como la saliva o la orina (Raghu et al., 2018).

Para su detección se han desarrollado unos chips, basados en los conocimientos nanoplasmónicos, constituidos por nanopilares de cuarzo recubiertos en su parte superior por nanopartículas de oro funcionalizadas con anticuerpos específicos para esos exosomas. Cuando los exosomas, que son de un similar tamaño a las AuNP, se unen a los anticuerpos, se produce una modificación de la resonancia por la propiedad LSPR de las AuNP (Raghu et al., 2018).

Como se muestra en la Figura 14, estos chips están constituidos por varias filas de columnas de cuarzo de 490 nanómetros de altura, que pueden fabricarse de 10 x 10 o incluso de 20 x 20, con un tamaño final de unos 25 milímetros; esto hace que en un futuro se espere utilizar estos chips para realizar muchas mediciones simultáneas en tiempo real (Raghu et al., 2018).

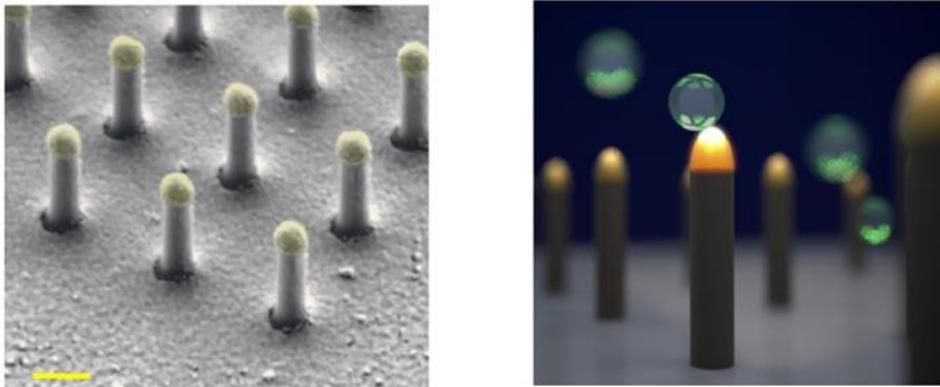


Figura 14. Nanopilares de cuarzo que forman el chip para la detección de exosomas (Raghu et al., 2018).

- **Magneto-nanosensores para la detección de biomarcadores en el cáncer de próstata.**

Para la detección de este tipo de cáncer se ha desarrollado un chip que contiene magneto-nanosensores, capaces de detectar anticuerpos relacionados con el cáncer de próstata (TARDBP, PARK7, Talin 1, TLN1 y CALD1). Estos nanosensores, al contener partículas magnéticas, posibilitan la generación de un campo magnético externo que va a producir el efecto conocido con el nombre de magnetorresistencia gigante (GMR), capaz de ofrecer una señal relacionada con la concentración de anticuerpos existentes (Xu et al., 2019).

Este chip está constituido por 80 sensores y sus medidas van a ser de 10 x 12 cm; a los nanosensores se unen unas proteínas recombinantes que van a actuar como moléculas de

captura de los anticuerpos objetivo, de manera que al añadir el suero de un paciente con cáncer de próstata se produciría la unión proteína-anticuerpo. Posteriormente, al retirar los anticuerpos sobrantes mediante lavado, se añaden anticuerpos anti-inmunoglobulina G que van a estar funcionalizados con biotina y van a unirse a los anticuerpos del suero que han quedado unidos a la proteína (Xu et al., 2019).

Por último, se añadirán nanopartículas magnéticas recubiertas con estreptavidina, de modo que al unirse a los anticuerpos biotinilados se producen alteraciones en los campos magnéticos que permiten determinar los anticuerpos que presenta el paciente (Xu et al., 2019).

Para este ensayo solo son necesarios usar 10 microlitros de muestra, y se pueden detectar hasta 80 anticuerpos.

Este chip, representado en la Figura 15, está aún en estudio, a falta de validarlo, permitiría diferenciar el cáncer con la hiperplasia benigna de próstata en función de la concentración de anticuerpos detectados (Xu et al., 2019).

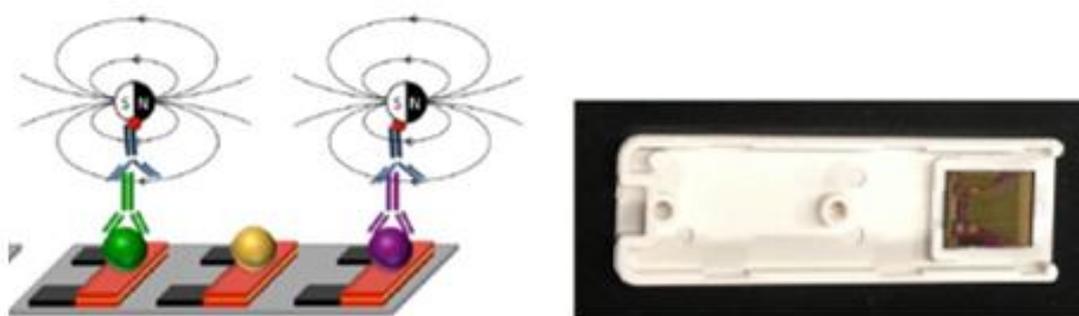


Figura 15. La primera imagen corresponde al esquema de funcionamiento de los nanosensores del chip. La segunda imagen corresponde a una fotografía real del chip (Xu et al., 2019).

4.5 Futuros proyectos para los nanosensores.

La nanotecnología es una ciencia que está continuamente renovándose y aportando nuevas investigaciones para solventar limitaciones en el área sanitaria. Con los últimos acontecimientos sobre la aparición de la pandemia de coronavirus SARS-CoV-2, se están desarrollando proyectos para su detección de manera rápida y fiable.

El proyecto europeo CoNVaT busca la detección de COVID-19 mediante un bionanosensor que a partir de pequeñas muestras diluidas de saliva o fluido nasofaríngeo es capaz de diferenciar entre los distintos tipos de coronavirus o incluso una gripe común. Para ello, se emplean sondas

de ADN complementarias al ARN viral que permite el diagnóstico y la detección de carga viral del paciente (<https://www.ciencia.gob.es/portal/site/MICINN/>).

Además, está previsto el desarrollo de nanosensores que puedan implantarse y medir parámetros del interior del organismo y que permitan realizar administraciones de fármacos cuando se necesite, de manera personalizada y a distancia (Lechuga, 2011).

Por otro lado, se está investigando la posible aplicación en la piel de películas con nanosensores flexibles como “pinturas” con propiedades ópticas que permitan la obtención de imágenes y la cuantificación del nivel de oxígeno para la detección de tejido isquémico y cáncer (Wolfbeis, 2015).

Incluso se estudia la posibilidad de utilizar este tipo de películas de nanosensores con muestras de orina, previamente filtradas, para la cuantificación de albúmina en búsqueda de la detección de microalbuminuria, indicador de algunas patologías como las enfermedades cardiovasculares (Budhathoki-Uprety et al., 2019).

Para la detección de patógenos en los alimentos que puedan desencadenar intoxicaciones, contaminaciones cruzadas o infecciones, se quieren introducir nanosensores que permitan “escanear” la comida con el dispositivo adecuado de manera que se pueda comprobar el estado antes de comerlos (Banerjee et al., 2017).

También existen estudios sobre la posibilidad de emplear lentillas que contengan nanosensores para detectar y cuantificar algunas biomoléculas en las lágrimas (Zhu et al., 2016).

Muchos de estos proyectos son ideas que se están desarrollando y que aún tienen que probarse, no obstante, estas investigaciones están aportando posibles utilidades hacia unas pruebas diagnósticas que van a ser el día a día de las personas, y aunque ahora parezcan ideas lejanas, muchos de ellos tienen grandes posibilidades de ser desarrollados en los próximos años.

5. CONCLUSIONES.

1. La nanotecnología está ofreciendo soluciones a muchas de las limitaciones que presentan las técnicas diagnósticas actuales, mostrando además capacidad para conseguir nuevos métodos para enfermedades que no poseían técnicas diagnósticas específicas.
2. La mayoría de los proyectos de investigación relacionados con nanosensores, al ser una tecnología tan novedosa, están aún en desarrollo, por lo que para que estos nanosensores lleguen a estar en funcionamiento aún es necesario perfeccionar las técnicas y ser probados en ensayos clínicos en humanos.
3. La clasificación de nanosensores es complicada, ya que algunos tipos de nanosensores con diferente funcionamiento pueden combinarse para desarrollar nuevos nanosensores con las capacidades optimizadas de los anteriores.
4. Partiendo del conocimiento del funcionamiento de un nanosensor, es posible modificar los receptores específicos complementarios a las biomoléculas que se pretenden detectar, de manera que puedan identificar un gran número de analitos distintos relacionados con una amplia variedad de patologías.
5. Para el diseño y funcionamiento de los nanosensores están involucradas distintas ramas científicas, como pueden ser química, física, biología o la informática, por lo que es muy importante la aportación de los expertos en las distintas materias para avanzar en su desarrollo.
6. La búsqueda de bibliografía sobre este tema es compleja y el número de publicaciones no es muy elevado, esto es debido a que es una ciencia que ahora está empezando a desarrollarse y que cada año avanza hacia nuevos hallazgos con un incremento gradual de las publicaciones científicas relacionadas.
7. El empleo de microchips que utilicen nanosensores, es un método diagnóstico que muy próximamente van a cobrar importancia en la vida cotidiana de las personas, al ser capaces de medir distintos parámetros sin necesidad de acudir al hospital o a las farmacias.
8. Las ventajas que suponen el empleo de nanosensores van a poder acercar aún más el diagnóstico precoz, el tratamiento personalizado y el seguimiento terapéutico a aquellos pacientes que vivan en lugares con pocos recursos.

6. BIBLIOGRAFÍA.

Bai S, Xu B, Guo Y, Qiu J, Yu W, Xie G. High-discrimination factor nanosensor based on tetrahedral DNA nanostructures and gold nanoparticles for detection of MiRNA-21 in live cells. *Theranostics*. 2018; 8(9): 2424-2434.

Bakhori NM, Yusof NA, Abdullah J, Wasoh H, Noor SSM, Raston NHA, et al. Immuno nanosensor for the ultrasensitive naked eye detection of tuberculosis. *Sensors (Switzerland)*. 2018; 18(6): 1932-1942.

Banerjee T, Shelby T, Santra S. How can nanosensors detect bacterial contamination before it ever reaches the dinner table?. *Future Microbiol*. 2017; 12: 97-100.

Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules*. 2020; 25(1): 112.

Budhathoki-Uprety J, Shah J, Korsen JA, Wayne AE, Galassi T V, Cohen JR, et al. Synthetic molecular recognition nanosensor paint for microalbuminuria. *Nat Commun*. 2019; 10(3605): 1-9.

Chen Y, Xianyu Y, Wu J, Yin B, Jiang X. Click chemistry-mediated nanosensors for biochemical assays. *Theranostics*. 2016; 6(7): 969-985.

Contreras-Baeza Y, Ceballos S, Arce-Molina R, Sandoval PY, Alegría K, Barros LF, et al. MitoToxy assay: a novel cell-based method for the assessment of metabolic toxicity in a multiwell plate format using a lactate FRET nanosensor, Laconic. *PLoS One*. 2019; 14(10): 1-25.

Del Bonis-O'Donnell JT, Pinals RL, Jeong S, Thakrar A, Wolfinger RD, Landry MP. Chemometric approaches for developing infrared nanosensors to image anthracyclines. *Biochemistry*. 2019; 58(1): 54-64.

Dreaden EC, Alkilany AM, Huang X, Murphy CJ, El-Sayed MA. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chem Soc Rev*. 2012; 41(7): 2740-2779.

Dudani JS, Ibrahim M, Kirkpatrick J, Warren AD, Bhatia SN. Classification of prostate cancer using a protease activity nanosensor library. *Proc Natl Acad Sci (USA)*. 2018; 115(36): 8954-8959.

García-Martín JM. Nanotecnología para la salud: cómo lo muy pequeño ayuda en medicina. 2019. [en línea]. [Consultado en mayo de 2020]. Disponible en:

<https://digital.csic.es/bitstream/10261/202679/1/NANOTECNOLOGIA%20PARA%20LA%20SALUD%20JOSE%20MIGUEL%20GARCIA%20MARTIN.pdf>

Geng Y, Goel HL, Le NB, Yoshii T, Amante JJ, Mercurio AM, et al. Rapid phenotyping of cancer stem cells using multichannel nanosensor arrays. *Nanomedicine*. 2018; 14(6): 1931-1939.

Gobierno de España. Ministerio de Ciencia e Innovación [en línea]. [Consultado en mayo de 2020]. Disponible en :

<https://www.ciencia.gob.es/portal/site/MICINN/menuitem.edc7f2029a2be27d7010721001432ea0/?vgnnextoid=71f6c74e66531710VgnVCM1000001d04140aRCRD&vgnnextchannel=4346846085f90210VgnVCM1000001034e20aRCRD>

Gómez M. Therapeutic uses of nanomaterials and nanoparticles. *Repert Med Cir*. 2019; 28(1): 5-11.

Hall DA, Gaster RS, Osterfeld SJ, Murmann B, Wang SX. GMR biosensor arrays: correction techniques for reproducibility and enhanced sensitivity. *Biosens Bioelectron*. 2010; 25(9): 2177-2181.

Holt BA, Mac QD, Kwong GA. Nanosensors to detect protease activity in vivo for noninvasive diagnostics. *J Vis Exp*. 2018; (137): 1-6.

Huang X, He Z, Guo D, Liu Y, Song J, Yung BC, et al. "Three-in-one" nanohybrids as synergistic nanoquenchers to enhance no-wash fluorescence biosensors for ratiometric detection of cancer biomarkers. *Theranostics*. 2018; 8(13): 3461-3473.

Instituto Nacional de Estadística. [en línea]. [Consultado en abril 2020]. Disponible en: <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?t=27153>

Instituto Nacional del Cáncer. [en línea]. [Consultado en marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol>

Irani-nezhad MH, Khataee A, Hassanzadeh J, Orooji Y. A chemiluminescent method for the detection of H₂O₂ and glucose based on intrinsic peroxidase-like activity of WS₂ quantum dots. *Molecules*. 2019; 24(689): 1-14.

Kwong GA, von Maltzahn G, Murugappan G, Abudayyeh O, Mo S, Papayannopoulos IA, et al. Mass-encoded synthetic biomarkers for multiplexed urinary monitoring of disease. *Nat Biotechnol*. 2013; 31(1): 63-70.

Lechuga LM. Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud. 9ª ed. Curso de Biotecnología aplicada a la salud humana, 2011. [Consultado en febrero de 2020]. Disponible en: https://digital.csic.es/bitstream/10261/44635/1/7_Nanomedicina.pdf

Lee JR, Bechstein DJB, Ooi CC, Patel A, Gaster RS, Ng E, et al. Magneto-nanosensor platform for probing low-affinity protein-protein interactions and identification of a low-affinity PD-L1/PD-L2 interaction. *Nat Commun.* 2016; 7: 12220-12229.

Lee JR, Haddon DJ, Wand HE, Price J V., Diep VK, Hall DA, et al. Multiplex giant magnetoresistive biosensor microarrays identify interferon-associated autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Sci Rep.* 2016; 6(27623): 1-10.

Liang F, Zhang Y, Hong W, Dong Y, Xie Z, Quan Q. Direct tracking of amyloid and tau dynamics in neuroblastoma cells using nanoplasmonic fiber tip probes. *Nano Lett.* 2016; 16(7): 3989-3994.

Mei Z, Wang Y, Tang L. Gold nanorod array biochip for label-free, multiplexed biological detection. *Methods Mol Biol.* 2017; 1571: 129-141.

Méndez BA, Muñoz CP. Nanochips y nanosensores para el diagnóstico temprano de cáncer oral: una revisión. *Univ Odontol.* 2012; 31(67): 131-147.

Nascimento RA, Özel RE, Mak WH, Mulato M, Singaram B, Pourmand N. Single cell "glucose nanosensor" verifies elevated glucose levels in individual Cancer Cells. *Nano Lett.* 2016; 16(2): 1194-1200.

Organización Mundial de la Salud. Temas de salud [en línea]. [Consultado en abril de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es>

Poveda A. Desarrollo de metodologías de anclaje de anticuerpos basadas en reacciones de click-chemistry. Aplicación a la detección de marcadores cardíacos. [Trabajo Fin de Grado] Universidad Politécnica de Valencia. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. 2016.

Raghu D, Christodoulides JA, Christophersen M, Liu JL, Anderson GP, Robitaille M, et al. Nanoplasmonic pillars engineered for single exosome detection. *PLoS One.* 2018; 13(8): 1-13.

Rosa E, Ramírez G, Panikar S, Camacho T, Salas P, López-Luke T. Algunas aplicaciones de la nanofotónica en la biomedicina. *Mundo nano.* 2020; 13(24): 1-24.

Royal Society of Chemistry. Lab on a chip [en línea]. [Consultado en abril de 2020]. Disponible en: <https://www.rsc.org/journals-books-databases/about-journals/lab-on-a-chip/>

Schuerle S, Dudani JS, Christiansen MG, Anikeeva P, Bhatia SN. Magnetically actuated protease sensors for in vivo tumor profiling. *Nano Lett.* 2016; 16(10): 6303-6310.

Sociedad Española de Oncología Médica. Info Cáncer [en línea]. [Consultado en abril de 2020]. Disponible en: <https://seom.org/informacion-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer-y-como-se-desarrolla>

Soler Beatty J. Uso de nanopartículas para el diagnóstico y tratamiento de la diabetes. 2017 [en línea]. [Consultado en abril 2020]. Disponible en: https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/molegla/documentos/Numero26/Destacado_3.pdf

Torrades S. Biochips, herramienta del futuro en el mundo de la salud. *Offarm.* 2002; 21(9): 126-130.

Universidad Politécnica de Valencia. [en línea]. [Consultado en abril de 2020]. Disponible en: <http://www.upv.es/>

Vélez-Reséndiz JM, Vélez-Arvizu JJ. Nanodispositivos para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares. *Gac Med (México).* 2018; 154: 358-367.

Wolfbeis OS. Luminescent sensing and imaging of oxygen: fierce competition to the Clark electrode. *Bioessays.* 2015; 37(8): 921-928.

Xu L, Lee JR, Hao S, Ling XB, Brooks JD, Wang SX, et al. Improved detection of prostate cancer using a magneto-nanosensor assay for serum circulating autoantibodies. *PLoS One.* 2019; 14(8): 1-14.

Yan B, Li B, Wen Z, Luo X, Xue L, Li L. Label-free blood serum detection by using surface-enhanced Raman spectroscopy and support vector machine for the preoperative diagnosis of parotid gland tumors. *BMC Cancer.* 2015; 15(650): 1-9.

Yeo D, Wiraja C, Chuah YJ, Gao Y, Xu C. A Nanoparticle-based sensor platform for cell tracking and status/function assessment. *Sci Rep* 2015; 5:1-14.

Zhang Y, Clausmeyer J, Babakinejad B, López-Córdoba A, Ali T, Shevchuk A, et al. Spearhead nanometric field-effect transistor sensors for single-cell analysis. *ACS Nano.* 2016; 10(3): 3214-3221.

Zhu Y, Hao Y, Adogla EA, Yan J, Li D, Xu K, et al. A graphene-based affinity nanosensor for detection of low-charge and low-molecular-weight molecules. *Nanoscale.* 2016; 8(11): 5815-5819.