



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA



Natalia Garrido Díaz



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

**Trabajo de Fin de Grado
Grado en Farmacia**

**Nanomedicinas para el diagnóstico y
tratamiento del glioblastoma**

Natalia Garrido Díaz

**Facultad de Farmacia (Sevilla), 21 de Julio de 2021
Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica**

**Tutor: Manuel Pernía Leal
Trabajo de Revisión Bibliográfica**

Resumen

El glioblastoma es considerado el tumor primario cerebral más frecuente y agresivo en adultos, siendo 15 meses la supervivencia media de los enfermos tras el diagnóstico. Esta enfermedad afecta a toda la población mundial y se encuentra clasificada como Grado IV en la clasificación de los tumores cerebrales de la Organización Mundial de la Salud, siendo este grado el que indica mayor malignidad. El diagnóstico y tratamiento utilizados actualmente para el glioblastoma no consiguen un aumento significativo en la supervivencia de los pacientes, por lo que el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para el glioblastoma supone todo un reto para la ciencia. La complejidad y dificultad de acceso que supone la zona en la que se localiza el tumor hace necesario el desarrollo de nuevas tecnologías que faciliten el acceso y tratamiento del tumor, siendo mínimamente perjudiciales para el paciente.

La nanotecnología surge como una nueva oportunidad en el tratamiento de esta enfermedad, aportando estrategias innovadoras las cuales se presentan como interesantes soluciones a la problemática actual y que podrían suponer una importante mejoría en la calidad de vida y supervivencia de los pacientes. La nanomedicina utiliza las nanopartículas a fin de tratar las enfermedades a nivel molecular, lo cual es mucho más específico y preciso. Son incontables las investigaciones que se están desarrollando en este campo, obteniéndose esperanzadores resultados con el desarrollo de diferentes tipos de nanopartículas con fines de diagnóstico, tratamiento y teragnósticos. A pesar de ello, en el momento son pocos los fármacos que se encuentran comercializados, lo que aporta una gran importancia a la investigación y desarrollo de nuevas nanomedicinas.

Palabras clave: 'glioblastoma', 'nanomedicine', 'cancer' 'nanoparticles', 'treatment'.

Índice

1. Introducción	4
1.1. Glioblastoma	4
1.1.1. Definición de la enfermedad y situación actual.	4
1.1.2. Factores de riesgo.	4
1.1.3. Perspectiva histórica	5
1.1.4. Clasificación del glioblastoma	6
1.1.5. Bases genéticas	6
1.1.5.1. O6-metilguanina-ADN transferasa.	9
1.1.6. Diagnóstico y tratamiento del glioblastoma.	9
1.1.6.1. Diagnóstico.	9
1.1.6.2. Tratamiento.	11
1.2. Nanotecnología	12
1.2.1. Nanopartículas: definición y características.	13
1.2.2. Clasificación de nanopartículas.	13
1.2.2.1. Nanopartículas orgánicas	13
1.2.2.2. Nanopartículas inorgánicas.	14
1.2.3. Métodos de síntesis de nanopartículas.	14
1.2.4. Aplicaciones de las nanopartículas.	15
2. Objetivos de la revisión	15
3. Metodología	16
4. Resultados y discusión	18
4.1. Nanopartículas utilizadas en el diagnóstico del glioblastoma	18
4.1.1. Resonancia magnética de Imagen.	18
4.1.2. Tomografía computarizada de Rayos X	20
4.1.3. Tomografía de emisión de positrones y tomografía de emisión de fotón único.	21
4.2. Nanopartículas utilizadas en el tratamiento del glioblastoma	22
4.2.1. Problemas de las terapias actuales.	22
4.2.2. Terapia de hipertermia magnética.	22
4.2.3. Nanopartículas para la liberación controlada de fármacos.	24
4.2.3.1. Estímulos exógenos.	24
4.2.3.2. Estímulos endógenos.	27
4.2.4. Terapia basada en la generación de especies reactivas de oxígeno por las nanopartículas.	29
4.3. Nanopartículas terasnoísticas	30
4.4. Nanopartículas actualmente aprobadas en el tratamiento del glioblastoma	31
5. Conclusiones	31
6. Bibliografía	32

1. Introducción

1.1. Glioblastoma

1.1.1. Definición de la enfermedad y situación actual

El glioblastoma es el tumor cerebral primario más frecuente y agresivo en adultos. Este tumor va a afectar en la mayoría de los casos al encéfalo, aunque también puede afectar a la médula. Tiene su origen en el tejido glial o de sostén, por lo que histológicamente va a diferir en gran medida del aspecto de otros tumores (Wirsching et al., 2016).

Actualmente, el glioblastoma multiforme es causante del 16% de las neoplasias primarias del cerebro (Stathis, 2016). Esto se traduce en una tasa ajustada de 3,2 casos por cada 100.000 habitantes, según un estudio realizado en un grupo de países de diferentes continentes (Australia, Inglaterra, Corea, Estados Unidos y Grecia) (Ostrom et al., 2014). El glioblastoma es considerado una enfermedad rara, la cual, a pesar de las recientes investigaciones y avances, tiene un tiempo de supervivencia medio de 15 meses desde que se diagnostica (Mair et al., 2021).

1.1.2. Factores de riesgo

Existen diferentes **factores de riesgo asociados al individuo**, que harán que varíe la incidencia del tumor, como pueden ser:

- El **sexo**, pues el glioblastoma tiene una mayor incidencia en hombres que en mujeres, con una relación de 1,6:1. Esta diferencia se cree que puede deberse a la diferencia en la actividad de las células madre del cáncer y la proteína del retinoblastoma (Simińska et al., 2021).
- La **edad**, puesto que el tumor tiende a aparecer en personas de edad más avanzada, siendo la media de edad de aparición de 64 años, aunque también puede darse en la infancia (Mair et al., 2021).
- La **etnia**, se han detectado mayor número de casos en personas caucásicas que en personas de otras etnias (Simińska et al., 2021).
- El **sobrepeso**, la existencia de esta patología en la infancia o adolescencia, puede aumentar la probabilidad de aparición del tumor a la edad adulta o anciana (Mair et al., 2021).

En cuanto a los **factores de riesgo ambientales**, podemos distinguir dos tipos:

- **Factores asociados directamente** a la aparición del tumor, en los que el único caso descrito ha sido la exposición a radiaciones ionizantes (Stathis, 2016).
- **Factores poco potenciales** a la aparición del tumor, como pueden ser el cloruro de vinilo (exposición en la industria química), el tabaquismo, el refinado de petróleo, los plaguicidas y la fabricación de caucho, ya que los estudios no han sido concluyentes (Stathis, 2016).

1.1.3. Perspectiva histórica

- **1856-1865:** Rudolf Ludwig Carl Virchow fue el primero en describir la neuroglia, y también en definir y clasificar los gliomas en alto y bajo grado. En aquella época los tumores cerebrales eran considerados como tumores corrientes, ya que las células gliales no estaban bien definidas, de tal manera que dio las bases para el estudio patológico (Virchow y Frankfurt, 1856).
- **1926:** debido a los importantes avances en cuanto a las células gliales, Bailey y Cushing, colaboran en la publicación de una clasificación histogenética de los gliomas. Se relacionó el pronóstico con el diagnóstico histopatológico y se identificó el espongioblastoma multiforme. Se trataba de un tumor con una célula específica de origen, el cual era diferente al resto de los gliomas en cuanto al aspecto histológico, y que más tarde pasaría a llamarse glioblastoma multiforme (Bailey y Cushing, 1926; Brem y Abdullah, 2017).
- **1940:** Hans-Joachim Scherer, distinguió entre glioblastoma primario y secundario. Tuvo en cuenta la manera en que evolucionaban, denominándolos como tumores astrocíticos, es decir, compuestos por astrocitos, los cuales son células gliales del sistema nervioso (Scherer, 1940).
- **1979:** La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó una clasificación en la que incluía al glioblastoma como tumores neuroepiteliales, embrionarios y poco diferenciados (Zülch, 1979).
- **2007:** la OMS dejó de usar el término 'multiforme', referido al aspecto heterogéneo y a la proliferación de diferentes tipos de células del tumor, pasando a llamarse glioblastoma. Se definió como un tumor en el que las células neoplásicas tenían características astrocíticas, unido a proliferación endotelial y/o necrosis, teniendo un patrón de pseudopalizada, es decir, un falso cerco de células que rodea la necrosis (Louis et al., 2007).

- **2016:** el glioblastoma es clasificado por la OMS teniendo en cuenta su histología y parámetros moleculares por primera vez, siendo un importante cambio en el diagnóstico neuropatológico utilizado hasta el momento (Komori, 2017).

1.1.4. Clasificación del glioblastoma

Fue en la clasificación de los tumores de la OMS en 1979, cuando se estratificaron los tumores en diferentes grados, teniendo en cuenta la célula de origen del proceso tumoral y las características morfológicas. Esta clasificación también ofrece una aproximación de la malignidad del tumor (Zülch, 1979). Los tumores se clasifican en cuatro grados (Louis et al., 2016):

- **Grado I:** se trata de tumores con borde circunscrito. Tienen un crecimiento lento y bajo potencial para convertirse en tumores de mayor malignidad.
- **Grado II:** se trata de tumores con el borde difuso. Su crecimiento es lento, pero pueden evolucionar a tumores de mayor malignidad.
- **Grado III:** a este grupo pertenecen tumores infiltrantes, con células que tienen mayor número de mitosis y son atípicas o anaplásicas. Las células anaplásicas son aquellas que presentan escasa diferenciación, por lo que pueden extenderse a otros tejidos con facilidad, produciendo metástasis.
- **Grado IV:** engloba los tumores más malignos, que se caracterizan por tener un elevado crecimiento con alta tasa mitótica, pudiendo presentar gran angiogénesis y áreas de necrosis

Teniendo en cuenta la clasificación anterior, el glioblastoma tiene asignado el grado IV, es decir, el más alto en la clasificación de los tumores cerebrales de la OMS. Su situación en esta clasificación se debe a que sus principales características histopatológicas son la proliferación endotelial y la necrosis (Wirsching et al., 2016).

Por otra parte, dentro de los tipos de glioblastomas, podemos dividirlos en primarios y secundarios, los cuales son diferentes subtipos de la misma enfermedad, ya que van a afectar a distintos rangos de edad y se desarrollan por diferentes vías genéticas (Ohgaki y Kleihues, 2007).

1.1.5. Bases genéticas

El glioblastoma primario es denominado 'de novo' pues se presenta como un tumor completo que aparece por primera vez en el organismo. En cambio, el glioblastoma secundario proviene de un astrocitoma difuso que evoluciona a astrocitoma anaplásico, es decir, se desarrolla a partir

de gliomas de menor grado. A pesar de tratarse de la misma enfermedad, ambos tipos de tumor provienen de distintas mutaciones genéticas (Ohgaki y Kleihues, 2007).

La alteración más frecuente en ambos tipos de tumor es la pérdida de heterocigosidad 10q con frecuencias similares. Esta mutación consiste en la pérdida de la copia de un gen en un locus concreto de un cromosoma, siendo en este caso una delección en 10q25-qter, un locus del cromosoma 10 (Ohgaki y Kleihues, 2007).

Sin embargo, en el glioblastoma primario son comunes la amplificación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y las mutaciones en PTEN, un gen supresor de tumores, mientras que en el secundario es común la mutación en el gen TP53, el cual también es supresor de tumores. (Ohgaki y Kleihues, 2007).

Estas mutaciones son consideradas mutuamente excluyentes, dando lugar a dos vías de evolución genéticas diferentes del glioblastoma (Ohgaki y Kleihues, 2013). Esto no impide que el glioblastoma sea genéticamente heterogéneo, ya que va a implicar la combinación de diferentes anomalías genéticas en la gran mayoría de sus casos. (Simińska et al., 2021).

La mutación en la Isocitrato Deshidrogenasa (IDH), tanto de la IDH1 (citoplasmática) como de la IDH2 (mitocondrial), es utilizada como marcador molecular. La función de esta enzima está relacionada con el metabolismo celular y la respuesta al estrés oxidativo. Su descubrimiento en el año 2008, permitió la diferenciación y el diagnóstico definitivo entre el glioblastoma primario y secundario (Ohgaki y Kleihues, 2013).

En función de la ausencia o presencia de la mutación en esta enzima, como se aprecia en la figura 2, el glioblastoma puede dividirse en 2 subgrupos:

- **Glioblastoma IDH-wildtype**

El glioblastoma IDH-wildtype va a carecer de la mutación en IDH, tratándose de un astrocitoma difuso. Las alteraciones más frecuentes en este tipo de tumor son la amplificación de EGFR, la pérdida del cromosoma 10 y la ganancia del cromosoma 7, así como la mutación de la Telomerasa Transcriptasa Inversa (TERT) principalmente. Este tipo de tumor también es denominado glioblastoma primario (Grado IV) (Mair et al., 2021).

- **Glioblastoma IDH-mutant**

El glioblastoma IDH-mutant va a tener presente la mutación en IDH. La codelección 1p/19q, que consiste en una pérdida de completa de los brazos 1p y 19q debido a una previa translocación de estos, tal y como puede apreciarse en la figura 1, es fundamental para el diagnóstico de este

tumor. La presencia o ausencia de esta anomalía genética es indicativa de un oligodendroglioma (Grado II) o de un astrocitoma difuso (Grado II), respectivamente (Mair et al., 2021).

La presencia de la codelección 1p/19q es mutuamente excluyente con la pérdida del regulador transcripcional ATRX. En el caso de darse conjuntamente la mutación IDH y pérdida del regulador transcripcional ATRX o inmunopositividad TP53, estaríamos ante un glioblastoma secundario, que habría evolucionado previamente de gliomas de menor grado, en la mayoría de los casos. En el caso contrario, de existir la codelección 1p/19q, estaremos ante un oligodendroglioma (Mair et al., 2021).

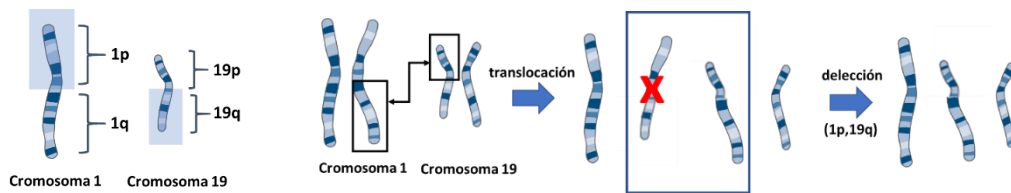


Figura 1: Esquema del proceso de codelección 1p/19q.

Además de esta división, encontramos otro tipo de glioblastoma, para aquellos casos que no se pueden incluir en ninguna de las anteriores:

- **Glioblastoma ‘no especificado’ (NOS, del inglés ‘not otherwise specified’)**

El término glioblastoma NOS, se aplica en los casos en los que no se dispone de pruebas genéticas. Estas no muestran alteraciones genéticas compatibles con los hallazgos histológicos o cuando existe incertidumbre sobre las características del tumor debido a un muestreo insuficiente o la presencia de artefactos tisulares (Komori, 2017).

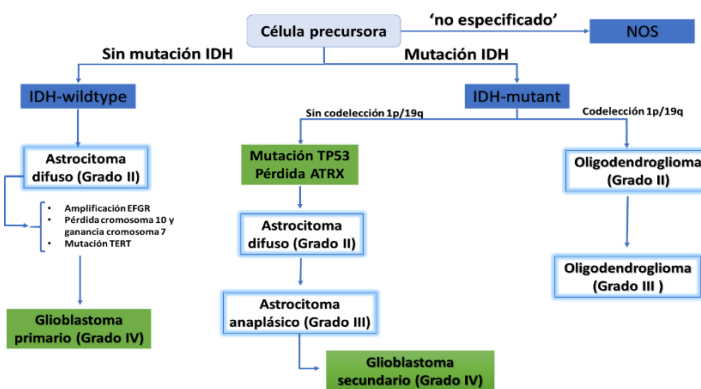


Figura 2. Clasificación del glioblastoma en base a sus alteraciones genéticas y a la clasificación de los gliomas de 2016 de la OMS.

1.1.5.1. O6-metilguanina-ADN transferasa (MGMT)

Se conoce, además de los marcadores genéticos esenciales para el diagnóstico, la metilación del promotor de MGMT. Esta metilación en el promotor está presente en la mayoría de los gliomas IDH-mutant y es utilizada como marcador predictivo de la respuesta a la quimioterapia con Temozolomida (TMZ) en el glioblastoma. (Mair et al., 2021)

1.1.6. Diagnóstico y tratamiento del glioblastoma

1.1.6.1. Diagnóstico

Los métodos de diagnóstico por imagen son los que se usan en primer lugar cuando se trata del glioblastoma (Li et al., 2016; Baetke et al., 2015):

- Resonancia magnética de imagen (RMI).
- Tomografía computarizada (TC).
- Tomografía por emisión de positrones (PET, del inglés 'positron emission tomography').
- Combinaciones PET-RM y PET-TC.
- Ultrasonidos (US).
- Imagen óptica (IO).
- Imagen fotoacústica (IFA).
- Tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT, del inglés 'single-photon computed tomography').

En el caso del glioblastoma se ha demostrado que la infiltración tumoral microscópica puede extenderse más allá de lo que se ve en las técnicas de diagnóstico por imagen, siendo una enfermedad multifocal y distante (Stathis, 2016).

La masa tumoral es identificada mediante las técnicas de diagnóstico por imagen y acto seguido se realiza la resección de ésta. La resección consiste en la extracción del tejido tumoral, con el fin de lograr un diagnóstico y clasificación definitivos del tumor, aunque puede estar precedida de efectos adversos tales como la pérdida de la función neurológica o edema cerebral (Müller Bark et al., 2020). Su realización, aunque puede desencadenar efectos adversos, es fundamental tanto para el diagnóstico como para el alivio del efecto masa y otros síntomas asociados a este (Lukas et al., 2019).

La biopsia líquida es una técnica de diagnóstico más actual, menos invasiva y que permite obtener una mejor perspectiva del funcionamiento del tumor. Esta técnica consiste en la extracción de fluidos corporales como pueden ser saliva, orina, sangre o líquido cefalorraquídeo (LCR), con el fin de encontrar evidencias de la presencia del tumor (Müller Bark et al., 2020). Los

principales biomarcadores, tal y como se muestran en la figura 3, que se pueden encontrar en los fluidos biológicos son (Silantyev et al., 2019):

- Células tumorales circulantes (CTCs).
- Vesículas extracelulares (microvesículas y exosomas).
- Ácidos nucleicos tumorales circulantes.
- Proteínas específicas del tumor.

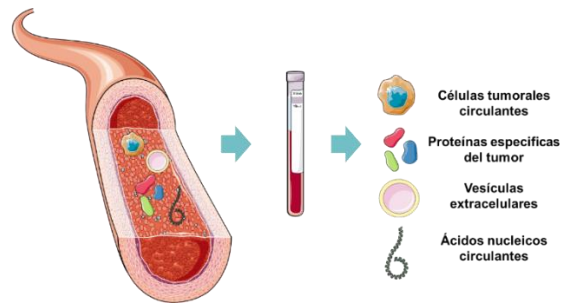


Figura 3. Principales biomarcadores que se pueden encontrar en sangre (Silantyev et al., 2019).

Los análisis moleculares y las pruebas histoquímicas tienen también una gran importancia, pues ofrecen una idea real de la heterogeneidad del tumor. Estos resultados, los cuales son más precisos, no los ofrece la resección del tumor (Müller Bark et al., 2020). Siendo de vital importancia, la determinación de las mutaciones presentes, para poder identificar y clasificar el tumor correctamente, lo cual es fundamental en la selección de un tratamiento (Kanderi y Gupta, 2021).

En este tipo de pruebas los marcadores genéticos más frecuentes y representativos que se buscan son:

- La metilación del promotor MGMT.
- La codelección 1p/19q.
- El estado de mutación IDH1/2.
- La pérdida de ATRX.

Los métodos moleculares utilizados para el análisis y determinación de estos biomarcadores genéticos son fundamentalmente: secuenciación directa, fusión de alta resolución (HRM, del inglés 'high-resolution melting'), inmunohistoquímica y Reacción en Cadena de la Polimerasa digital en gotas (ddPCR, del inglés 'droplet digital Polymerase Chain Reaction'). Estos métodos permiten la diferenciación de glioblastomas histológicamente imposibles de distinguir, determinado la ausencia o presencia de mutaciones genéticas, teniendo un importante valor experimental, pronóstico y terapéutico (Silantyev et al., 2019).

1.1.6.2. Tratamiento

El tratamiento del glioblastoma estándar está centrado en cuatro puntos, que siguen el siguiente orden: (Müller Bark et al., 2020; Lukas et al., 2019; Stathis, 2016)

1. Máxima resección del tumor de manera segura.
2. Quimioterapia con agente alquilante (TMZ).
3. Radioterapia adyuvante a la quimioterapia, en los casos que se requiere.
4. Campos eléctrico alternos localmente o campos de tratamientos de tumores (TTfields).

Cirugía

Tiene gran importancia que la resección sea realizada correctamente, y se ha demostrado que una resección mayor puede aumentar la tasa de supervivencia. La naturaleza infiltrante del tumor dará en la mayoría de los casos lugar a recaídas, a pesar de la importante citorreducción conseguida en la resección.

Se han desarrollado nuevas tecnologías para realizar una máxima resección de la manera más segura posible como son: (Lukas et al., 2019)

- Tecnología de navegación intraoperatoria.
- Monitorización electrofisiológica y mapeo funcional del cerebro.
- Marcadores fluorescentes para maximizar la visualización del tumor.

Quimioterapia y radioterapia

Estas dos modalidades de tratamiento se empezaron a combinar a partir de 2005, cuando se demostró que aumentaba la tasa de supervivencia de los pacientes. La combinación de radioterapia con un agente alquilante oral como TMZ aumenta la supervivencia en pacientes con elevada concentración de MGMT metilada. Este resultado es debido a que el daño producido en el ADN por la radioterapia y la quimioterapia, puede corregirse más rápidamente por la MGMT metilada (Stathis, 2016; Stupp et al., 2005).

Ambas son usadas tanto antes como después de la cirugía, además de haberse demostrado que la quimioterapia reduce la necesidad de radioterapia en niños. (Ozdemir-Kaynak et al., 2018)

TTfields

El nombre comercial Optune® es la denominación que se le dio al dispositivo aprobado por la "Food and Drug Administration" (FDA) en 2015. Su función es suministrar campos alternos de

baja intensidad o frecuencia intermedia a las células del tumor, de manera que se produce su apoptosis. Este tratamiento es combinado con los mencionados anteriormente, aumentando la supervivencia de los pacientes (Stathis, 2016).

Terapias emergentes

A pesar de los avances en el tratamiento del glioblastoma que se han producido en los últimos años, la supervivencia de los pacientes no ha aumentado. Actualmente las terapias son diseñadas para ser usadas en combinación con el tratamiento estándar, con el fin de mejorarlo.

Así por ejemplo nos encontramos con los anticuerpos monoclonales, como el bevacizumab, la inmunoterapia innata, regenerando el sistema inmune del paciente y los inhibidores de pequeñas moléculas (Carlsson et al., 2014).

1.2. Nanotecnología

La nanotecnología puede definirse como la creación y el uso de materiales, que oscilan entre 1-100nm. En algunas aplicaciones, se incluyen partículas de un tamaño de hasta 1.000 nm pues sus dimensiones son similares a unidades funcionales biológicas, como puede apreciarse en la figura 4 (Meyers et al., 2013).

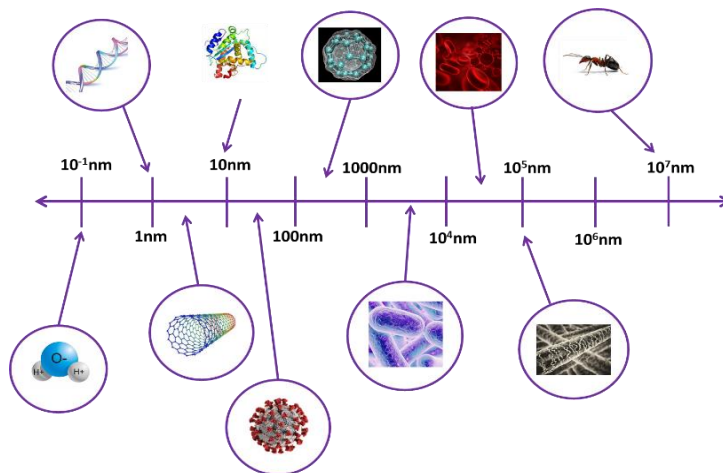


Figura 4. Escala nanométrica en la que se comparan las dimensiones de las nanopartículas con algunas unidades biológicas (Meyers et al., 2013).

Una de las aplicaciones más importantes y con un gran potencial dentro de la nanotecnología es la nanomedicina. Su principal objetivo es prevenir, diagnosticar y tratar diferentes enfermedades usando las nanopartículas (NPs) a nivel molecular, de manera que se desarrollen nuevos tratamientos y métodos de diagnóstico. (Jovčevska y Muyldermans, 2020).

Esta ciencia ha evolucionado exponencialmente en los últimos años, y se tienen grandes expectativas con respecto a las aplicaciones que se esperan desarrollar (De Jong y Borm, 2008).

1.2.1. Nanopartículas: definición y características

Las NPs se definen como partículas cuyo tamaño oscila entre 1 y 100 nm, aunque dependiendo del fin para el que se utilicen su tamaño podría variar. Su importancia recae principalmente en su tamaño, ya que se descubrió que puede hacer que varíen sus características fisicoquímicas. Estas partículas están formadas por 3 capas principalmente como se muestra en la figura 5 (Ijaz et al., 2020).

Capas de una nanopartícula

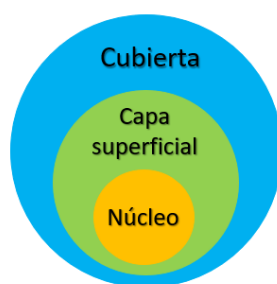


Figura 5. Principales capas que componen la estructura de una nanopartícula (Ijaz et al., 2020).

Las propiedades físico-químicas de las NPs son de gran importancia, pues la variación y combinación adecuada de estas son la principal causa de su versatilidad. Entre las características de las NPs que causan estas propiedades destacan: tamaño, forma, corona, carga superficial, hidrofobicidad y unión a ligandos. Todas estas van a hacer que las NPs puedan ser usadas para diferentes aplicaciones, por ejemplo, en el campo de la medicina, dependiendo de sus características podrán ser utilizadas en procesos como biodistribución, captación celular, interacciones NP-célula, transporte de fármacos en el sitio de acción o reacciones inmunitarias (Sabourian et al., 2020).

1.2.2. Clasificación de las nanopartículas

Las NPs pueden a su vez dividirse en 2 grupos que se subdividirán en otros grupos como se muestra en la figura 6 (Saqib, 2020).

1.2.2.1. Nanopartículas orgánicas

Las NPs orgánicas se caracterizan por estar compuestas por materiales orgánicos, no ser tóxicas y biodegradables, por lo que son ideales para la administración de fármacos. Pueden encontrarse como nanocápsulas formadas por una esfera hueca, en la cual encapsulan una masa

sólida que contiene la sustancia. También podemos encontrar nanoesferas, las cuales se componen de una masa sólida en cuya superficie tiene adherida la sustancia. (Singh et al., 2019; Rao y Geckeler, 2011).

1.2.2.2. Nanopartículas inorgánicas

Las NPs inorgánicas son aquellas que poseen un núcleo inorgánico que puede estar formado por átomos de oro, óxidos metálicos, etc...Presentan propiedades magnéticas y fototérmicas y se caracterizan por no ser tóxicas, biocompatibles, hidrofílicas y más estables que las orgánicas (Ijaz et al., 2020).

Dentro del grupo de las NPs metálicas, podemos diferenciar entre las metálicas y los óxidos metálicos. Los óxidos metálicos tienen la finalidad de modificar las propiedades de sus equivalentes metálicos, presentando mayor reactividad y eficiencia (Salavati-Niasari et al., 2008).

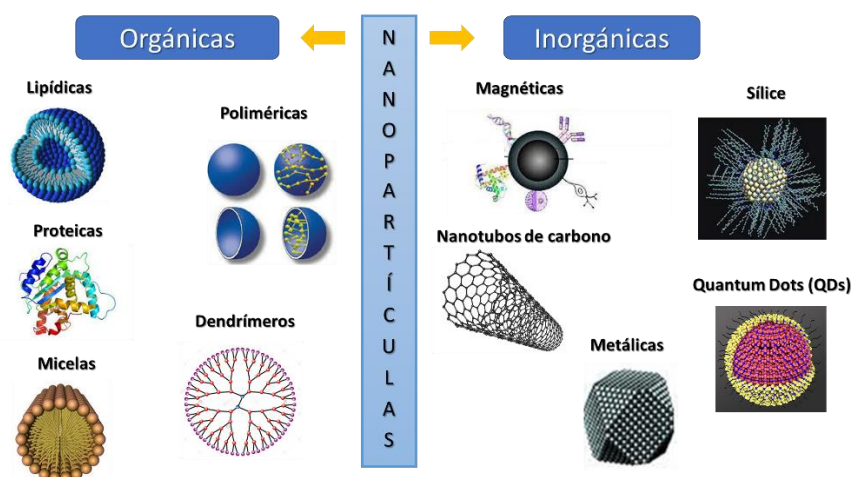


Figura 6. Clasificación de las nanopartículas (Saqib, 2020).

1.2.3. Síntesis de nanopartículas

La síntesis de las NPs puede realizarse por dos métodos totalmente opuestos, como se muestra en la figura 7, y que a su vez se subdividen en 5 métodos cada uno:

- **Síntesis Top-Down o síntesis destructiva**, consiste en la reducción de materiales de mayores dimensiones a tamaño nanométrico, siendo transformados a NPs. Los métodos usados en esta síntesis son: descomposición térmica, molienda, litografía, ablación por láser y pulverización (Iravani, 2011).
- **Síntesis Bottom-Up o síntesis constructiva**, consiste en la formación de las NPs a partir de otras sustancias más simples. Los métodos utilizados en esta síntesis son: deposición química de vapores, proceso sol-gel, hilado, pirolisis y síntesis biológica (Ijaz et al., 2020)

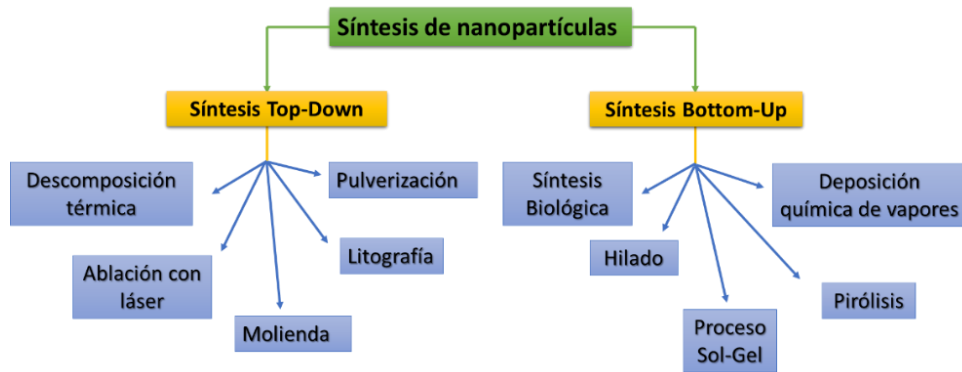


Figura 7. Clasificación de los métodos de síntesis de NPs

1.2.4. Aplicaciones de las nanopartículas

Actualmente las NPs tienen múltiples aplicaciones en diversos campos como son:

- **Antimicrobianos:** sector textil, desinfección de agua y envasado de alimentos (Hajipour et al., 2012).
- **Microelectrónica e industria aeroespacial** (Weiss et al., 2006).
- **Industria alimentaria:** aumento de la eficacia y seguridad del procesamiento y transporte de alimentos (Weiss et al., 2006).
- **Sensores químicos y biosensores** (Unser et al., 2015).
- **Medioambiente:** productos sostenibles y benignos para el medio ambiente remediación de materiales contaminados y sensores para etapas ambientales (Tratnyek y Johnson, 2006).
- **Medicina:**
 - Suministro óptimo de fármacos (Alexis et al., 2008).
 - Aplicaciones biológicas y de imagen celular (Jain et al., 2006).
 - Mejora del contraste de RMI, reparación de tejidos, inmunoasistencia, desintoxicación de fluidos biológicos, hipertermia y separación de células (Laurent et al., 2010).
 - Diagnóstico del cáncer (Jain et al., 2007).
 - Antineoplásicos (Chen et al., 2005).
 - Antimicrobianos: apósitos para heridas y catéteres (Uygur et al., 2009).

2. Objetivos de la revisión

Los objetivos de este Trabajo de Fin de Grado sobre glioblastoma y nanomedicinas para su diagnóstico y tratamiento son:

- Realizar una revisión bibliográfica sobre el glioblastoma multiforme, así como sus diferentes tipos y bases genéticas, para poder llegar a una mejor comprensión de los métodos de diagnóstico y tratamiento actuales.
- Realizar una revisión bibliográfica de los diferentes tipos de nanomedicinas y terapias dirigidas, que se usan en la actualidad para el tratamiento y diagnóstico del glioblastoma, así como sus avances e impacto en la enfermedad.

3. Metodología

La metodología utilizada para realizar esta revisión bibliográfica consistió en la búsqueda de artículos experimentales y de revisión. Las bases de datos y páginas certificadas utilizadas fueron PubMed, Web Of Science y Google Scholar. Además, se realizó la consulta de ciertos libros obtenidos del catálogo de la biblioteca de la Universidad de Sevilla (Fama).

Las principales palabras claves que se han utilizado para la búsqueda de información han sido: 'glioblastoma', 'nanomedicine', 'cancer' 'nanoparticles', 'diagnosis', 'treatment'.

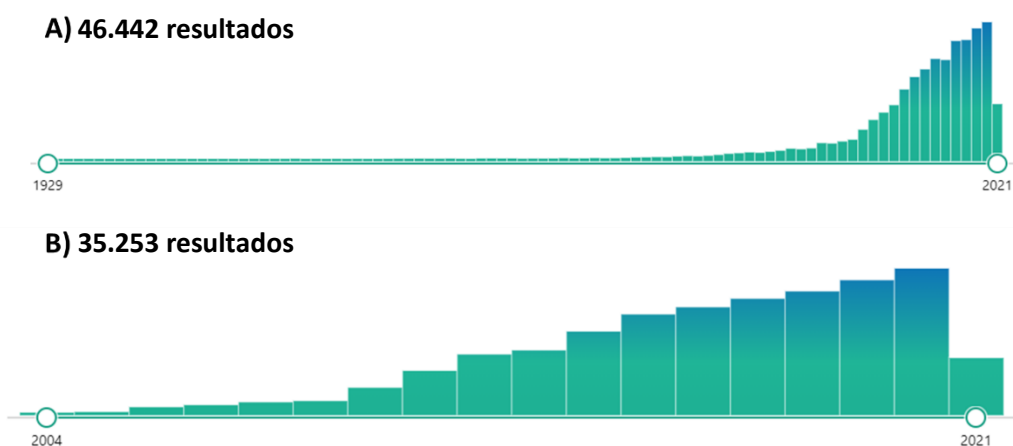


Figura 8. Gráficos de barras obtenidos en la base de datos PubMed tras la búsqueda de las palabras: A) 'glioblastoma', B) 'nanomedicine'. En las gráficas se indica el número de publicaciones por año, en las cuales se incluyen las correspondientes palabras, y el número total de resultados para cada término.

Los resultados que se obtuvieron en la búsqueda son totalmente distintos para cada palabra como se observa en la figura 8.

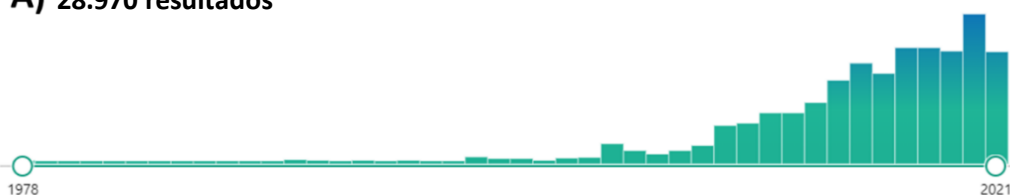
En el caso del término 'glioblastoma', podemos observar que desde 1929 hay publicaciones sobre este tema, aunque son escasas. Se ve un claro aumento de las publicaciones desde hace alrededor de 10 años, por lo que se trata de un tema bastante emergente y en el que están surgiendo muchos avances.

En contraste al término anterior, se encuentra 'nanomedicine', este campo de la nanotecnología es un campo muy reciente, por lo que los primeros artículos comenzaron a publicarse en 2004, siendo desde entonces cuando han crecido exponencialmente las publicaciones.

Cabe destacar que el numero de publicaciones para 'nanomedicine' se va acercando al número de publicaciones para 'glioblastoma', de ahí la gran cantidad de avances en este campo. Ocurre de igual manera con el término 'nanoparticles', en el cual las primeras publicaciones se realizaron en 1978 y han ido creciendo rápidamente hasta la actualidad, alcanzando el numero de 254.558 resultados.

Otros términos como 'cancer', 'diagnosis' o 'treatment', a pesar de ser palabras claves utilizadas en esta búsqueda, no arrojan resultados muy específicos por sí solos. La importancia de estos términos radica en la combinación con los anteriormente mencionados en el momento de la búsqueda, como se observa en la figura 9.

A) 28.970 resultados



B) 458 resultados



Figura 9. Gráficos de barras obtenidos en la base de datos PubMed tras la búsqueda de las palabras: A) 'glioblastoma treatment', B) 'glioblastoma nanomedicine'. En las gráficas se indica el número de publicaciones por año, en los cuales se incluyen las correspondientes palabras, y el número total de resultados para cada búsqueda.

Un ejemplo de lo anteriormente enunciado, se puede observar en la figura x, donde al realizar la búsqueda 'glioblastoma treatment' se obtienen 28.970 resultados, los cuales son mas específicos.

En el caso de la búsqueda 'glioblastoma nanomedicine' es mucho más claro que se ha refinado la búsqueda aportando tan solo 458 publicaciones en los últimos 15 años, por lo que se trata de un tema actual y emergente

Además de las gráficas anteriormente mencionadas, para mejorar la búsqueda y encontrar los últimos avances, centré mi búsqueda en los últimos veinte años, para evitar resultados obsoletos.

4. Resultado y discusión

4.1. Nanopartículas utilizadas en el diagnóstico del glioblastoma

El diagnóstico del glioblastoma se basa actualmente en las técnicas de imagen, la biopsia del tejido y la biopsia líquida. Dentro de estas técnicas, la biopsia del tejido implica un procedimiento muy invasivo, que además puede acarrear lesiones para el paciente y tan solo ofrece una visión estática del tumor. Por el contrario, las biopsias líquidas, son menos invasivas y ofrecen una visión de los cambios dinámicos durante la terapia (Wang y Bettegowda, 2017).

En el caso del glioblastoma, la importancia recae en las técnicas de imagen, debido a la dificultad para llegar al tumor sin causar daños para el paciente, puesto que son técnicas no invasivas. Cada vez son más las investigaciones que se centran en el desarrollo de NPs como agente de contraste (AC) con el fin de mejorar las técnicas de imagen y en consecuencia el diagnóstico.

4.1.1. Resonancia magnética de Imagen

La RMI es una técnica de imagen muy potente que se utiliza frecuentemente en la detección clínica y la observación del pronóstico. Su utilidad se debe a su alta resolución espacial, su contraste con los tejidos blandos y que no es una técnica invasiva (Sun et al., 2008). Aunque es muy eficaz en la detección de tejidos blandos, puede dar lugar a una mala representación de la imagen, haciendo que sea imposible diferenciar el tejido maligno del sano (Na et al., 2009).

El contraste obtenido en la RMI depende de la concentración de las moléculas de agua dentro del tejido, los tiempos de relajación (T1 y T2) de los protones de agua y la movilidad de las moléculas de agua; que reflejarán una diferencia de intensidad en la señal de los distintos tejidos (Avasthi et al., 2020). La mayoría de los ACs son complejos iónicos paramagnéticos o partículas de magnetita superparamagnética. La función de estos elementos es aumentar la intensidad de las imágenes ponderadas en T1 o por el contrario reducirla en el T2, aunque el primer caso es el más utilizado habitualmente en rutina clínica, denominados agentes de contraste positivos (Xiao et al., 2016).

Los ACs se usan en RMI para mejorar la sensibilidad del diagnóstico, de manera que un 35% de los diagnósticos por RMI requieren de un AC (Lei et al., 2017). Son muchas las investigaciones que se han realizado sobre ACs con el fin de mejorar el diagnóstico clínico, basándose en la mejora de la calidad y contraste de las imágenes (Cai et al., 2019).

NPs de oxisulfuro de Gadolinio (Gd)

El Gd se ha utilizado ampliamente en la obtención de imágenes por RMI, debido a su versatilidad química para formar complejos con diferentes quelatos. Su uso ha sido cada vez más restringido, debido a su asociación con varios tipos de toxicidad. Esta toxicidad tiene como consecuencia la fibrosis sistémica nefrogénica (Cowper et al., 2000), en pacientes con función renal alterada, y la acumulación en el cerebro, en pacientes con función renal normal. La base de esta toxicidad parece recaer en la estabilidad molecular, que variará junto con las propiedades farmacocinéticas del compuesto las características individuales del sujeto (Pasquini et al., 2018).

Las NPs de oxisulfuro de Gd surgen desde hace unos años como una alternativa a los complejos de Gd para la obtención de imágenes multimodales in vivo. En un estudio realizado con NPs de $Gd_2O_2:Ln^{2+}$ inyectadas vía intravenosa en ratas, se evaluó la distribución, excreción y toxicidad. Este estudio reveló una alta tolerancia a las NPs además de una señal de imagen de larga duración y una lenta eliminación hepática y excreción urinaria débil. Se demostró que las NPs se acumulan en órganos ricos en macrófagos y en menor cantidad en otros órganos, aun así, no se detectaron cantidades significativas en órganos como el cerebro, siendo bien toleradas en cantidades de 400mg/kg cuando se administran vía intravenosa (Santelli J et al., 2020).

NPs de óxido de hierro (IONPs, del inglés 'iron oxide nanoparticles')

En el campo de las NPs magnéticas, las IONPs han sido las más investigadas como ACs en la RMI, esto se debe a su superparamagnetismo que da lugar a una relaxividad muy alta, su biocompatibilidad y la facilidad para funcionalizar sus superficies con moléculas de diana con la finalidad de imagen molecular (Xie et al., 2018). La relaxividad (r_1 y r_2) se define como la capacidad del AC para disminuir los tiempos de relajación (T_1 y T_2) (Bridot et al., 2007).

Estas NPs son usadas como AC y a la vez para la administración de fármacos ya que se pueden modificar para transportar agentes anticancerígenos. Estos agentes anticancerígenos se pueden guiar magnéticamente y retenerse en las áreas tumorales aplicando un campo magnético (Shirvalilou et al., 2018).

Las IONPs llegan a su localización por vía intravenosa y se acumulan en el tumor por el efecto EPR ('Enhanced Permeability and Retention'). Esto es debido a que en el tumor hay una alta vascularización, permeabilidad vascular y escaso drenaje linfático (Avasthi et al., 2020).

Esto fue demostrado en un estudio realizado en ratas tanto in vitro como in vivo a las que se les administro IONPs demostrando su alta especificidad para la orientación magnética de las células del glioma, así como su alta capacidad para la mejora de las imágenes por RMI (Shirvalilou et al., 2018).

Por otra parte, además de las IONPs no dirigidas, podemos encontrar las IONPs dirigidas, que son consideradas una estrategia prometedora para aumentar la acumulación en los tumores. Las IONPs se acumulan con segmentos dianas como pueden ser anticuerpos de EGFR, debido a la relación que guarda su mutación con las células cancerígenas (Ge et al., 2018).

NPs de óxido de manganeso (MONs, del inglés 'manganese oxide nanoparticles')

Los ACs de este tipo se pueden dividir en dos categorías como son los complejos de Mn^{2+} y las MONs. Las MONs han mostrado buenos efectos de contraste ponderados en T1 y una toxicidad baja, gracias a sus características concretas. Estas NPs pueden responder al pH, el H_2O_2 o el glutatión (GSH), que se trata de microambientes tumorales; mejorando el contraste RMI y por tanto la hipoxia y el tratamiento terapéutico (Peng et al., 2017).

Las MONs pueden dividirse en cuatro grupos: MnO , Mn_3O_4 , MnO_2 y $MnOx$, las cuales presentan buena biocompatibilidad, un espín de magnetización alto y una rápida tasa de intercambio de protones con el agua. Sus propiedades les han conferido una elevada importancia clínica en la detección y tratamiento del cáncer en los últimos años. A pesar de ello, aún están en fase inicial de laboratorio, puesto que su nanotoxicidad aún no está clara, siendo necesario seguir estudiando si su estructura cristalina debilita la neurotoxicidad del Mn. Los múltiples problemas (citotoxicidad, neurotoxicidad, fototoxicidad...etc.) que plantean actualmente las MONs podrían ser resueltos en un futuro, haciéndolas perfectas candidatas para el diagnóstico y tratamiento del cáncer en la clínica (Cai et al., 2019).

4.1.2. Tomografía computarizada de Rayos X

Las imágenes obtenidas a través de rayos X se basan en la atenuación total de los fotones al atravesar el cuerpo humano, esta atenuación es medida por un detector creando una imagen bidimensional (Loudos et al., 2011). La técnica más utilizada es la tomografía computarizada (TC), esto es debido a su naturaleza no invasiva, su alta resolución y su elevada penetración en

los tejidos. Las imágenes son producidas por el procesamiento de las proyecciones, tomadas desde diferentes órganos, de tejidos y órganos (Hallouard et al., 2010).

Las técnicas de Rayos X, son unas de las más utilizadas en el diagnóstico por imagen debido a su alta resolución y bajo coste. Los ACs convencionales usados es esta técnica son pequeñas moléculas yodadas que pueden ocasionar efectos adversos en dosis elevadas, es por ello que se están desarrollando NPs como ACs en rayos X. Las ventajas que ofrecen las NPs frente a las pequeñas partículas iodadas son: (Cho et al., 2010)

- Mejora de la especificidad por adición a su superficie de motivos de orientación.
- Aumento de la vida media de circulación por la adición de recubrimientos adecuados (polímeros o sílice).
- Mejora de la funcionalidad por adición de otros componentes (marcadores fluorescentes o agentes terapéuticos).

Las NPs que se están desarrollando están basadas en compuesto de elevado número atómico como pueden ser oro, bismuto, tántalo o iterbio, además de la combinación de dos o más de ellos. Los resultados del uso de estos compuestos con respecto a las moléculas yodadas han demostrado mejores propiedades de imagen, mayor tiempo de circulación en sangre y menor toxicidad (De La Vega y Häfeli, 2015).

4.1.3. Tomografía de emisión de positrones y tomografía de emisión de fotón único

Las técnicas de imagen que usan tecnología de medicina nuclear potente son la PET y la SPECT, ambas ofrecen funciones similares. La PET es ampliamente utilizada puesto que tiene alta sensibilidad, gran penetración en los tejidos y permite el análisis de imágenes cuantitativas en tiempo real. Además, la PET puede proporcionar información biológica a nivel molecular basada en el seguimiento de los nucleidos, al igual que la SPECT que puede detectar funciones bioquímicas anormales previas a los cambios anatómicos. Los únicos e importantes inconvenientes que presentan son la exposición radiactiva y su elevado coste (Han et al., 2019).

Estas técnicas de imagen utilizan radiofármacos o trazadores radioactivos con el fin de identificar y tratar de manera no invasiva enfermedades como el cáncer, entre otras. Los trazadores radiactivos deben ser análogos radiactivos de biomoléculas que tengan un papel importante en el metabolismo u otra especificidad concreta para el tumor (Gotthardt et al., 2013)

Los trazadores utilizados para las NPs deben ser nucleidos con una semivida larga en comparación a los que no se usan con NPs, debido a la preparación y la captación celular, como pueden ser: (Han et al., 2019)

- Cobre-64: semivida de 12,7 horas (PET).
- Indio-111: semivida de 2,8 días (PET).
- Yodo-124: semivida de 4,2 días (PET).
- Tecnecio-99m: semivida de 6 horas (SPECT).

Las NPs utilizadas para la obtención de imágenes por PET o SPECT, tienen una estructura similar a otras NPs utilizadas para la obtención de imágenes médicas (Veres et al., 2014).

4.2. Nanopartículas utilizadas en el tratamiento del glioblastoma

4.2.1. Problemas del tratamiento actual del glioblastoma

El tratamiento utilizado actualmente para el glioblastoma, presenta ciertas limitaciones: (Verma et al., 2014)

- Administración de fármacos a través de la barrera hematoencefálica.
- Restricción del daño en los tejidos cerebrales sanos.
- Resistencia al tratamiento.

4.2.2. Terapia de hipertermia magnética

La generación de calor en el lugar del tumor se denomina hipertermia y ha surgido como un nuevo tipo de tratamiento de diferentes tipos de cánceres. La aplicación de calor en el lugar del tumor va a provocar la apoptosis de las células cancerígenas por cambios en la fisiología. Este mecanismo se produce al aplicar temperaturas que oscilan entre 41-46°C, lo cual causa un estrés térmico intracelular, que desencadena la activación de mecanismos de degradación intra y extracelulares, produciendo la muerte por apoptosis. Estos mecanismos consisten en: mal plegamiento y agregación de proteínas, alteración de la transducción de las señales, inducción de apoptosis, cambios de pH y reducción de la oxigenación y perfusión del tumor (Hildebrandt et al., 2002).

Este tratamiento se realizaba tradicionalmente mediante las técnicas de ultrasonidos, microondas, irradiación infrarroja y tubos con agua caliente. Todas estas técnicas presentaban limitaciones: escasa penetración del calor en el tumor, calentamiento excesivo del tejido sano, infradosificación de la zona objetivo y disipación del calor por la sangre (Jordan, 2006).

La superación de estas limitaciones llegó con el desarrollo de la terapia de hipertermia magnética (MHT, del inglés 'magnetic hyperthermia'). Su funcionamiento está basado en la generación de calor por las NPs magnéticas (MNPs, del inglés 'magnetic nanoparticles') tras ser expuestas a campos magnéticos alternos, de manera que la temperatura en la zona donde se

encuentran las NPs rodeando al tumor aumenta y se produce la ablación de las células tumorales. Este método presenta múltiples ventajas: administración por múltiples vías, atraviesa la BHE, inmunidad antitumoral y calentamiento intracelular estimulado externamente (Ito et al., 2005).

Nanopartículas magnéticas (MNPs, del inglés ‘magnetic nanoparticles’)

Las MNPs más estudiadas están basadas en los óxidos de hierro debido a su biocompatibilidad, estas incluyen: magnetita (Fe_3O_4), hematita ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) y maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ y $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Se consideran de elección las NPs de óxido de hierro superparamagnético (SPIONs, del inglés ‘superparamagnetic iron oxide nanoparticles’) debido a su alto paramagnetismo, la coercitividad, la susceptibilidad magnética y la baja temperatura de Curie. La importancia recae principalmente sobre dos propiedades (Petri-Fink y Hofmann, 2007):

- **Coercitividad:** mide la resistencia del material ferromagnético a desmagnetizarse.
- **Temperatura de Curie:** es la temperatura en la que el magnetismo permanente del material cambia a magnetismo inducido.

El conocimiento de estas propiedades permite evitar el sobrecalentamiento del tejido tumoral al aplicar el campo magnético y por tanto limitar los efectos secundarios en el tejido sano.

La MHT ha demostrado tener potencial para el tratamiento del glioblastoma, especialmente los SPIONs pues muestran una distribución intratumoral uniforme y un calentamiento controlado del glioblastoma sin graves efectos secundarios. Las propiedades físicas y químicas de estas MNPs deben ser optimizadas para el uso en MHT (Petri-Fink y Hofmann, 2007).

Nanorods de oro (GNRs, del inglés ‘gold nanorods’)

Los GNRs presentan propiedades ópticas que van a depender del tamaño y la relación de aspecto, aunque su importancia recae en la resonancia plasmónica superficial. Esta propiedad resulta de la interacción entre los electrones de la banda de conducción del átomo de oro con los componentes del campo eléctrico de radiación electromagnética incidente. El resultado consiste en la emisión de calor por los GNRs al ser irradiados con un láser de infrarrojos, lo cual ha sido utilizado en múltiples estudios como terapia fotodinámica en el tratamiento del glioblastoma (Young et al., 2012).

Nanotubos de carbono (CNT, del inglés ‘carbon nanotube’)

Los CNTs se sintetizan a partir de nanotubos de carbono de pared simple y los nanotubos de pared simple, de manera que los primeros consisten en un único tubo de grafeno y los segundos

en varios tubos de grafeno concéntricos. Ambos tipos tienen propiedades físicas y químicas, que hacen que generen calor con la radiación de infrarrojos siendo aplicados en la terapia del glioblastoma. Además, los CNTs se pueden combinar con gran cantidad de moléculas debido a la posibilidad de diseñar su superficie (Iijima, 1991).

4.2.3. Nanopartículas utilizadas en la liberación controlada de fármacos

La liberación controlada de fármacos está basada en NPs sensibles a estímulos, con el fin de que liberen su carga terapéutica al entrar en contacto con estímulos celulares o extracelulares, los cuales son activados por medios químicos, bioquímicos o físicos. El desencadenamiento de la liberación puede dar lugar a cambios en el nanotransportador que desencadenan en la liberación de la carga terapéutica en el entorno biológico (Nazila et al., 2016).

En cuanto a la liberación del fármaco puede darse de dos modos dependiendo del tipo de NP: (Nazila et al., 2016)

- **Fármaco atrapado en NPs poliméricas:** liberación mediada por cambios estructurales como la degradación del polímero, el desprendimiento de las capas superficiales y el cambio de carga.
- **Fármaco conjugado covalentemente con el polímero de la NP:** liberación mediada por rotura de enlaces.

Estos mecanismos basados en la liberación clásica de fármacos a partir de NPs poliméricas, la manipulación adicional del lugar y la velocidad de liberación en función de la composición, ofrecen nuevas opciones en la liberación controlada de fármacos. Ofrecen ventajas como son la minimización de la toxicidad sistémica y de las interacciones desfavorables entre el fármaco y el plasma, tratando y dosificando la enfermedad de manera más eficiente (Nazila et al., 2016).

En cuanto a los estímulos que desencadenan la liberación podemos dividirlos en estímulos exógenos y estímulos endógenos (Nazila et al., 2016).

4.2.3.1. Estímulos exógenos

Los estímulos exógenos se definen como aquellos resultantes de la estimulación externa al cuerpo como pueden ser: inducción de calor, luz, electricidad y ultrasonido (Nazila et al., 2016).

Liberación de fármacos que responden a la temperatura

El objetivo de las NPs compuestas por polímeros sensibles a cambios de temperatura, consiste en la liberación del agente terapéutico durante un estrecho intervalo de temperatura inducido por la administración de un estímulo hipertérmico. Esto se consigue debido a que estos

polímeros pueden cambiar sus propiedades físicas y químicas en respuesta al calor (Hurwitz y Stauffer, 2014).

Las variaciones de temperatura pueden ser intrínsecas, debido a la temperatura anormal del tumor, o ser inducidas artificialmente en lugares específicos aplicando calor desde una fuente externa. Ambas opciones ofrecen estímulos atractivos para la administración de quimioterápicos (Hurwitz y Stauffer, 2014).

Los polímeros utilizados son aquellos que experimentan cambios conformaciones como respuesta a la variación de temperatura, estos cambios de conformación consisten en un cambio de volumen debido a un cambio en los estados de hidratación (Roy et al., 2013).

La temperatura crítica inferior de solución (LCST, del inglés 'lower critical solution temperature'), es aquella por encima de la cual el polímero es hidrofóbico y, por debajo de la cual, es hidrofílico. Esto se traduce en que por encima de la LCST el polímero se deshidrata en una conformación de cadena colapsada (insoluble) y por debajo se hidrata en una conformación de cadena extendida (soluble). Esto permite la liberación del fármaco de manera espacio-temporal como respuesta al cambio de temperatura (Roy et al., 2013).

El rango de temperatura en el que el nanotransportador debe liberar su carga debe oscilar entre 37-42°C, este intervalo de respuesta puede cambiarse ajustando el equilibrio entre las partes hidrofóbicas e hidrofílicas del polímero. La finalidad de este rango de temperaturas es disminuir los efectos tóxicos que podrían provocarse por la desnaturalización de las proteínas (Mura et al., 2013).

Liberación de fármacos que responde a la luz

Los nanotransportadores que sufren cambios físicos o químicos por la irradiación de luz a una longitud de onda específica, permiten diseñar tratamientos que ofrecen un control espacio-temporal de la liberación de cargas útiles terapéuticas. Estos cambios pueden ser reversibles o irreversibles e implican formación o ruptura de enlaces, interconversión de isómeros, conmutación de carga electrostática y reorganización de reacciones químicas (Tong et al., 2012).

Los nanotransportadores se activan y se desintegran liberando la carga en respuesta a la luz, esto ha despertado un gran interés en la aplicación en diversos campos biomédicos. La luz requerida debe ser benigna para los tejidos sanos, tener mínima absorción e interacción con los componentes biológicos y ofrecer una penetración sustancial, es por ello que los rayos gamma o los rayos X, a pesar de tener alta energía, dañan los tejidos sanos y no pueden ser utilizados

con este fin. La solución se encuentra en pasar al extremo de menos energía del espectro electromagnético, siendo los siguientes la radiación UV e IR cercano, pudiéndose incorporar al polímero grupos funcionales que respondes a estas radiaciones (Tong et al., 2012).

- **Liberación controlada con luz ultravioleta:** un ejemplo de este tipo es según muestra un estudio un copolímero de bloques dendríticos lineales anfifílicos (LDBC, del inglés ‘linear dendritic block copolymer’) con unidades de azobenceno en la periferia de un dendrón basado en el ácido 2,2-di (hidroximetil) propiónico (bis-MPA). Se formaron NPs estables en agua que encapsulaban cargas útiles hidrofílicas e hidrofóbicas, de manera que se liberaban por el estímulo de la luz UV (Blasco et al., 2013). Las aplicaciones médicas de los nanotransportadores que responden a UV se ven limitadas por la alta energía de esta radiación que es perjudicial para los tejidos humanos, además de tener una insuficiente penetración (Nazila et al., 2016).
- **Liberación controlada con luz de infrarrojo cercano (NIR, del inglés ‘Near-infrared’):** este tipo de radiación frente a la UV ofrece la ventaja de ser benigna y penetrar mas profundamente en los tejidos (Nazila et al., 2016). En un estudio se informó del uso de un proceso de absorción de 2 fotones para fabricar micelas poliméricas cargadas de Doxorubicina (DOX) derivadas de dextrano injertado con DNQ (Dex-DNQ) que respondían al NIR. Se mejoró el suministro intracelular de DOX y la viabilidad de las células cancerosas se inhibió significativamente (Liu et al., 2012).

Liberación de fármacos que responden a ultrasonidos

Los ultrasonidos (US) son ampliamente utilizados para obtener imágenes en medicina y se definen como ondas de presión de alta frecuencia producidas por oscilaciones mecánicas en respuesta a una corriente alterna aplicada a través de un material piezoeléctrico. Los USs penetran en el tejido de forma no invasiva y se pueden enfocar con alta intensidad en un solo punto, en concreto un haz de US focalizado de alta intensidad (HIFU, del inglés ‘high-intensity focused ultrasound’, frecuencia 0,8-3,5 MHz), puede dirigirse a los tumores, penetrando de manera inofensiva en la piel y tejidos (Kennedy, 2005).

La riqueza en los conocimientos sobre la interacción de los USs con los sistemas biológicos, el desarrollo de equipos de producción, su naturaleza benigna y la capacidad de focalización, los hacen muy interesantes para el control espacio-temporal de la liberación de cargas útiles por nanotransportadores (Kennedy, 2005).

Se han investigado micelas derivadas de Pluronic P105, NanoDeliv (micelas P105 estabilizadas por reticulación) y copolímeros del PEG-poliéster, con el fin de crear nanotransportadores

sensibles a US. Las investigaciones relacionadas con el mecanismo de liberación desvelaron que la mayoría de las micelas estudiadas responden a los USs y liberan su carga por difusión sin degradación de los componentes del polímero (Husseini y Pitt, 2009).

Otras investigaciones se centraron en la liberación desencadenada por determinado tiempo e intensidad de HIFU del colorante hidrofóbico Rojo de Nilo encapsulado en NPs de copolímero PLA-b-PEG degradables y biocompatibles. El tratamiento con HIFU provocó la degradación del polímero desencadenando una liberación irreversible del fármaco, de manera que se concluyó que el PLA-b-PEG, se puede utilizar para el desarrollo de NPs poliméricas que responden a US (Zhang et al., 2009).

Estas investigaciones entre otras han sentado las bases para la investigación de los USs como un estímulo prometedor en la liberación controlada espacio-temporal de agentes terapéuticos a partir de NPs biodegradables y biocompatibles (Nazila et al., 2016).

Además de los estímulos exógenos, los nanotransportadores también pueden diseñarse para liberar agentes terapéuticos en respuesta a diversos estímulos endógenos (pH, agentes reductores, especies reactivas de oxígeno y enzimas). Los estímulos endógenos son de especial interés, ya que son específicos de los cambios microambientales y patológicos relacionados con la enfermedad (Nazila et al., 2016).

4.2.3.2. Estímulos endógenos

Los estímulos endógenos se definen como aquellos resultantes de patologías químicas biológicas inherentes a la enfermedad como pueden ser: el pH, las especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés 'reactive oxygen species') o los niveles elevados de enzimas entre otros. Estos estímulos son de especial interés, pues son específico de los cambios microambientales y patológicos de la enfermedad (Nazila et al., 2016).

Liberación de fármacos que responden a reacciones redox

El estímulo utilizado para la liberación de fármacos consiste en el gradiente entre las concentraciones intra y extracelulares de agentes reductores. El gradiente de concentración del tripéptido glutatión (γ - glutamil-cisteinil-glicina, GSH), el cual es un agente reductor común, se encuentra aumentado 4 veces en las células tumorales, con respecto a las células sanas. Este potencial reductor intracelular elevado, es un excelente estímulo endógeno para la liberación controlada de fármacos (Saito et al., 2003).

En un estudio se sintetizaron conjugados de ácido hialurónico y ácido desoxicólico, con el fin de la liberación de Paclitaxel, demostrándose que las micelas creadas a partir de este conjugado se desensamblaban en presencia de 20 mM de glutatión. Los estudios de toxicidad in vitro e in vivo confirmaron su eficacia terapéutica diferencial y mejorada, demostrándose que la liberación de Paclitaxel es óptima a esta concentración de GSH, la cual es similar al entorno celular de las células tumorales (Li et al., 2012).

Liberación de fármacos que responden a la oxidación

Las ROS consisten en metabolitos parcialmente reducidos del oxígeno y en ellas se incluyen: el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($\cdot OH$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el peroxinitrilo ($ONOO^-$) y el ácido hipocloroso ($HOCl$). Los niveles normales de ROS deben mantenerse estables para una correcta homeostasis, ya que los niveles elevados de ROS pueden ser indicativos de condiciones patológicas. El interés en la investigación de ROS recae en la creación de NPs con polímeros funcionales que liberen el fármaco en presencia de niveles elevados de ROS (Nazila et al., 2016).

Podemos encontrar dos situaciones que llevan al desarme, y por tanto liberación del fármaco, de las micelas fabricadas con polímeros que responde a ROS: (Nazila et al., 2016)

- Oxidación de grupos funcionales, como sulfuros o seleniuros aumentando su solubilidad.
- Degradación física si contienen funciones oxidables como tiocetales, ester borónicos o (oligo)prolinas.

En una reciente investigación se demostró de un poli(β -éster) lineal basado en PEG con una columna vertebral formada por segmentos alternado de PEG hidrofílico y β -éster hidrofóbico mediante la polimerización de tioleno. Este polímero en suspensión acuosa en forma colapsada se solubilizaba cuando se trataba con H_2O_2 como agente oxidante, de manera que las micelas fabricadas con el polímero mostraban una liberación acelerada de la carga en presencia de ROS (Xiao et al., 2015). En otro estudio se sintetizó otro polímero llamado poli (1,4-fenilenacetona dimetileno tioketal) (PPADT), con enlace tiocetales sensibles a ROS para la entrega de ARNs en el tejido enfermo (Wilson et al., 2010).

Liberación de fármacos que responden al pH

Existen variaciones de pH en situaciones patológicas, como es el caso de los tejidos tumorales en los que el entorno se vuelve más ácido (pH 6,2-6,9) de lo habitual. Estas variaciones de pH han sido estudiadas con el fin de sintetizar nanotransportadores que liberen su carga como

respuesta a un pH ácido en un ambiente tumoral. Otro enfoque ha sido estudiar el pH de los compartimentos intracelulares como es el caso de los endosomas o lisosomas (pH 4,0-6,0) (Nazila et al., 2016).

En este caso los nanotransportadores van a ser sintetizados a partir de polímeros que cambian de estado hidrofílico (hinchado) a hidrofóbico (colapsado) y viceversa como resultado de la protonación y desprotonación de los grupos funcionales lábiles, en respuesta al pH ambiental. Cuando el polímero pasa de hidrofóbico a hidrofílico se solubiliza y se produce el desensamblaje de la estructura micelar en un entorno acuoso, liberándose la carga útil (Nazila et al., 2016).

Las amidas son especialmente interesantes en este campo, demostrándose que los polímeros con amidas β -carboxílicas encapsulan cargas catiónicas y las liberan en un entorno tumoral extracelular ácido o intracelularmente en endosomas y lisosomas. Además de este grupo funcional, se ha informado de otros grupos funcionales como los enlaces acetal, ortoéster, hidrazona, oxima y los ésteres del ácido borónico, que son sensibles a ácido (Deng et al., 2014).

Además de la amida β -carboxílica, se ha informado de una amplia variedad de polímeros con otros grupos funcionales que pueden ser eliminados por el ácido. Los enlaces acetal, ortoéster, hidrazona y oxima, así como los ésteres del ácido borónico, son las funcionalidades sensibles a los ácidos más comúnmente exploradas (Deng et al., 2014).

El gradiente de pH entre el entorno tumoral y el endosomal fue utilizado para un estudio en el que se usó el grupo imidazol como grupo ionizable en el entorno tumoral. Se sintetizaron nanogranadas magnéticas sensibles a pH (PMNs, del inglés 'pH-responsive magnetic nanogrenades'), consiguiéndose una activación del pH en dos etapas: inicialmente en el tumor, mejorando la captación celular, y acto seguido en el endosoma o lisosoma (Ling et al., 2014)

4.2.4. Terapia basada en la generación de ROS por nanopartículas

Las ROS son subproductos del metabolismo oxidativo natural, las cuales presentan un papel importante en la supervivencia, muerte y diferenciación celular, además de la señalización celular y la producción de factores relacionados con la inflamación (Mueller et al., 2005).

Al generarse ROS a partir de NPs se va a iniciar una secuencia de acontecimientos patológicos (inflamación, fibrosis, genotoxicidad y carcinogénesis), que dependerán del tamaño, la carga, el área superficial y la estructura química de la NPs (Shvedova et al., 2012).

El mecanismo por el que van a generarse ROS variará entre las diferentes NPs, aunque la mayoría de las NPs metálicas producen una toxicidad facilitada por ROS mediante reacciones de tipo

Fenton. En esta reacción se forman radicales hidroxilos, siendo el hierro libre (Fe^{2+}) un factor crítico en la toxicidad generada por ROS (Huang et al., 2010).

El estrés oxidativo se asocia al crecimiento anormal de las células tumorales, debido a un desequilibrio redox o una alteración en la captación de ROS. El estrés oxidativo adicional producido por las NPs lleva a la muerte celular debida a la toxicidad por exceso de ROS, en esto recae la importancia de las ROS en la terapia del cáncer (Pelicano et al., 2004).

Existen fármacos anticancerosos como β -lapachona (β -lap), el cual suprime el crecimiento de las células tumorales al aumentar la generación de ROS. En un reciente estudio se demostró el efecto anticanceroso sinérgico que se producía al utilizar SPIONs previamente a β -lap, aumentando en 10 veces la producción de ROS y por tanto el índice terapéutico. Este efecto fue debido a la reacción de Fenton que potenció la liberación de iones Fe que interactuaron con el H_2O_2 producido por β -lap (Huang et al., 2013).

4.3. Nanopartículas teranósticas

La teranóstica implica el uso de un único agente con el fin de diagnosticar y tratar una enfermedad. Este concepto ha sido estudiado en el campo de las NPs para el tratamiento del glioblastoma surgiendo diferentes aplicaciones:

- **Nanogusanos de óxido de hierro** recubiertos con dos péptidos quiméricos ramificados, siendo una rama el elemento de localización vascular específico del tumor y la otra el péptido proapoptótico de aminoácidos que sirve como fármaco. Este último es un péptido antibacteriano sintético que altera las membranas mitocondriales de las células eucariotas produciendo su apoptosis. Este sistema se ensayó en un modelo de glioblastoma murino, lográndose una especificidad tumoral y por tanto una reducción de la toxicidad. Además, debido a la presencia de óxido de hierro puede usarse también con fines diagnósticos en la MRI (Šamec et al., 2020).
- **Nanoestrellas de oro (AUNs)** han ganado mucha importancia como transductores del NIR debido a su alta absorbancia y excelente eficiencia de conversión fototérmica, siendo excelentes agentes fototérmicos. Se desarrolló un nanocompuesto de sondas AuNS con nanoestrellas de oro fluorescentes encendidas para así obtener imágenes de la caspasa-3. Se evaluó la citotoxicidad y fototoxicidad de las sondas utilizando células de glioblastoma U87MG, de manera que se obtuvo un efecto de foto degradación que dependía de la concentración (Šamec et al., 2020).

4.4. Nanopartículas actualmente aprobadas en el tratamiento del glioblastoma

En los últimos años han sido aceptadas por la FDA ciertas presentaciones de agentes terapéuticos que contienen NPs para el tratamiento del glioblastoma como queda recogido en la tabla 1.

Nombre comercial	Descripción	Año de aceptación
Opaxio®	Paclitaxel unido covalentemente a NPs sólidas de poliglutamato	2012
NanoTherm®	NPs de óxido de hierro superparamagnético de 15 nm recubiertas de aminosilano	2013

Tabla 1. Fármacos basados en NPs aprobados por la FDA en la actualidad (Weissig et al., 2014).

5. Conclusiones

El glioblastoma es una enfermedad que, no afecta a una gran cantidad de la población pero, tiene una tasa de supervivencia muy reducida. Es por ello por lo que viene, siendo necesario el desarrollo de nuevos tratamientos que no solo mejoren los tratamientos estándares actuales, sino que supongan individualmente la cura o un aumento de la supervivencia de los pacientes.

La nanotecnología supone una gran versatilidad a la hora de buscar un nuevo tratamiento para el glioblastoma, ya que permite la obtención de agentes terapéuticos como las NPs, las cuales variando sus materiales y propiedades pueden ser utilizadas con fines de diagnóstico, tratamiento o incluso ambas.

El diagnóstico del glioblastoma puede suponer una gran diferencia en el transcurso y tratamiento de la enfermedad, por lo que la alternativa a la resección o la biopsia líquida como, son las técnicas de imagen permiten un diagnóstico más preciso y precoz de la enfermedad. Dichas técnicas de imagen son poco invasivas y en combinación con NPs como agentes de contraste pueden aportar grandes ventajas en el diagnóstico.

Las limitaciones que supone el actual tratamiento del glioblastoma, hacen que las NPs se presenten como soluciones a estas limitaciones, pudiéndose obtener tratamientos que se adaptan a las complicadas condiciones que supone el glioblastoma. La nanomedicina, de esta manera, se ha abierto paso cada vez mas en el tratamiento de esta enfermedad teniendo múltiples agentes terapéuticos que consiguen disminuir el tumor siendo mínimamente invasivos para el paciente, aunque aún es necesaria la realización de muchos mas estudios, que en un

futuro llevarán a un aumento de la supervivencia de los paciente o incluso la cura de la enfermedad.

6. Bibliografía

1. Alexis F, Pridgen E, Molnar LK, Farokhzad OC. Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Mol Pharm*. 2008;5(4):505–15.
2. Avasthi A, Caro C, Pozo-Torres E, Pernía Leal M, Luisa García-Martín M, Alain Puente-Santiago by R, et al. Magnetic Nanoparticles as MRI Contrast Agents. 2020; 378:40.
3. Baetke SC, Lammers T, Kiessling F. Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of cancer. *Br J Radiol*. 2015;88(1054).
4. Bailey P, Cushing H. A classification of the tumours of the glioma group on a histogenetic basis, with a correlated study of prognosis. *British Journal of Surgery*. 1926;14(55):554–5.
5. Blasco E, Serrano JL, Piñol M, Oriol L. Light responsive vesicles based on linear-dendritic block copolymers using azobenzene-aliphatic codendrons. *Macromolecules*. 2013;46(15):5951–60.
6. Brem S, Abdullah KG. Glioblastoma. 1ª ed. Philadelphia: Elsevier; 2017.
7. Bridot JL, Faure AC, Laurent S, Rivière C, Billotey C, Hiba B, et al. Hybrid gadolinium oxide nanoparticles: Multimodal contrast agents for in vivo imaging. *J Am Chem Soc*. 2007;129(16):5076–84.
8. Cai X, Zhu Q, Zeng Y, Zeng Q, Chen X, Zhan Y. Manganese oxide nanoparticles as mri contrast agents in tumor multimodal imaging and therapy. *Int J Nanomedicine*. 2019; 14:8321–44.
9. Carlsson SK, Brothers SP, Wahlestedt C. Emerging treatment strategies for glioblastoma multiforme. *EMBO Mol Med*. 2014;6(11):1359–70.
10. Chen C, Xing G, Wang J, Zhao Y, Li B. Multihydroxylated [Gd@C₈₂(OH)₂₂]_n Nanoparticles: Antineoplastic Activity of High Efficiency and Low Toxicity. *Nano Letters*. 2005; 82(10): 2050-2057.
11. Cho EC, Glaus C, Chen J, Welch MJ, Xia Y. Inorganic nanoparticle-based contrast agents for molecular imaging. *Trends Mol Med [Internet]*. 2010;16(12):561–73.
12. Cowper SE, Robin HS, Steinberg SM. Scleromyxoedema-like cutaneous diseases in renal-dialysis patients. *The Lancet*. 2000; 356: 1000-1001.
13. De Jong WH, Borm PJ. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *International Journal of Nanomedicine*. 2008; 3(2): 133-149.
14. De La Vega JC, Häfeli UO. Utilization of nanoparticles as X-ray contrast agents for diagnostic imaging applications. *Contrast Media Mol Imaging*. 2015;10(2):81–95.

15. Deng H, Liu J, Zhao X, Zhang Y, Liu J, Xu S, et al. PEG-b-PCL copolymer micelles with the ability of pH-controlled negative-to-positive charge reversal for intracellular delivery of doxorubicin. *Biomacromolecules*. 2014;15(11):4281–92.
16. Ge Y, Zhong Y, Ji G, Lu Q, Dai X, Guo Z, et al. Preparation and characterization of Fe₃O₄@Au-C225 composite targeted nanoparticles for MRI of human glioma. *PLoS One*. 2018;13(4):1–16.
17. Gotthardt M, Bleeker-Rovers CP, Boerman OC, Oyen WJG. Imaging of inflammation by PET, conventional scintigraphy, and other imaging techniques. *J Nucl Med Technol*. 2013;41(3):157–69.
18. Hajipour MJ, Fromm KM, Akbar Ashkarran A, Jiménez de Aberasturi D, Larramendi IR de, Rojo T, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol [Internet]*. 2012;30(10):499–511.
19. Hallouard F, Anton N, Choquet P, Constantinesco A, Vandamme T. Iodinated blood pool contrast media for preclinical X-ray imaging applications - A review. *Biomaterials [Internet]*. 2010;31(24):6249–68.
20. Han X, Xu K, Taratula O, Farsad K, Health O. Applications of Nanoparticles in Biomedical Imaging. *Nanoscale*. 2019;11(3):799–819.
21. Hildebrandt B, Wust P, Ahlers O, Dieing A, Sreenivasa G, Kerner T, et al. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2002; 43(1):33-56.
22. Huang G, Chen H, Dong Y, Luo X, Yu H, Moore Z, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Amplifying ros stress to improve anticancer drug efficacy. *Theranostics*. 2013;3(2):116–26.
23. Huang YW, Wu CH, Aronstam RS. Toxicity of transition metal oxide nanoparticles: Recent insights from in vitro studies. *Materials (Basel)*. 2010;3(10):4842–59.
24. Hurwitz M, Stauffer P. Hyperthermia, radiation and chemotherapy: the role of heat in multidisciplinary cancer care. *Semin Oncol*. 2014; 41:714–729.
25. Hussein GA, Pitt WG. Ultrasonic-activated micellar drug delivery for cancer treatment. *J Pharm Sci*. 2009; 98:795–811.
26. Ijaz I, Gilani E, Nazir A, Bukhari A. Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chem Lett Rev [Internet]*. 2020;13(3):59–81.
27. Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*. 1991;354: 56–58.
28. Iravani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem*. 2011;13(10):2638–50.

29. Ito A, Shinkai M, Honda H, Kobayashi T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *J Biosci Bioeng.* 2005;100(1):1–11.
30. Jain PK, Lee KS, El-Sayed IH, El-Sayed MA. Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: Applications in biological imaging and biomedicine. *J Phys Chem B.* 2006;110(14):7238–48.
31. Jain PK, El-Sayed IH, El-Sayed MA. Au nanoparticles target cancer. *Nano Today.* 2007; 2(1): 18-29.
32. Jordan A. Thermotherapy and nanomedicine: between vision and reality. In: Baronzio GF, Hager ED, editors. *Hyperthermia in Cancer Treatment: A Primer.* 3^a ed. New York, NY: Springer; 2006:60–63.
33. Jovčevska I, Muyldermans S. The Therapeutic Potential of Nanobodies. *BioDrugs [Internet].* 2020;34(1):11–26.
34. Kanderi T, Gupta V. Glioblastoma Multiforme [Internet]. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2020.
35. Kennedy JE. High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours. *Nat Rev Cancer.* 2005; 5:321–327.
36. Komori T. The 2016 WHO classification of tumours of the central nervous system: The major points of revision. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 2017;57(7):301–11.
37. Laurent S, Forge D, Port M, Roch A, Robic C, Vander Elst L, et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem Rev.* 2010;110(4):2574.
38. Lei M, Fu C, Cheng X, Fu B, Wu N, Zhang Q, et al. Activated Surface Charge-Reversal Manganese Oxide Nanocubes with High Surface-to-Volume Ratio for Accurate Magnetic Resonance Tumor Imaging. *Adv Funct Mater.* 2017;27(30).
39. Li J, Huo M, Wang J, Zhou J, Mohammad JM, Zhang Y, et al. Redox-sensitive micelles self-assembled from amphiphilic hyaluronic acid-deoxycholic acid conjugates for targeted intracellular delivery of paclitaxel. *Biomaterials [Internet].* 2012 Mar 1;33(7):2310–20.
40. Li H, Wu X, Cheng X. Advances in diagnosis and treatment of metastatic cervical cancer. *J Gynecol Oncol.* 2016;27(4):1–20.
41. Ling D, Park W, Park SJ, Lu Y, Kim KS, Hackett MJ, et al. Multifunctional tumor pH-sensitive self-assembled nanoparticles for bimodal imaging and treatment of resistant heterogeneous tumors. *J Am Chem Soc.* 2014;136(15):5647–55.
42. Liu GY, Chen CJ, Li DD, Wang SS, Ji J. Near-infrared light-sensitive micelles for enhanced intracellular drug delivery. *J Mater Chem.* 2012;22(33):16865–71.

43. Loudos G, Kagadis GC, Psimadas D. Current status and future perspectives of in vivo small animal imaging using radiolabeled nanoparticles. *Eur J Radiol.* 2011;78(2):287–95.
44. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97–109.
45. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016;131(6):803–20.
46. Lukas RV, Wainwright DA, Ladomersky E, Sachdev S, Sonabend AM, Stupp R. Newly Diagnosed Glioblastoma: A Review on Clinical Management. *Physiol Behav.* 2019;176(1):139–48.
47. Mair MJ, Geurts M, van den Bent MJ, Berghoff AS. A basic review on systemic treatment options in WHO grade II-III gliomas. *Cancer Treat Rev [Internet].* 2021; 92:102124.
48. Meyers JD, Doane T, Burda C, Basilion JP. Nanoparticles for imaging and treating brain cancer. *Nanomedicine.* 2013;8(1):123–43
49. Müller Bark J, Kulasinghe A, Chua B, Day BW, Punyadeera C. Circulating biomarkers in patients with glioblastoma. *Br J Cancer [Internet].* 2020;122(3):295–305.
50. Mueller CFH, Laude K, McNally JS, Harrison DG. Redox mechanisms in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(2):274–8.
51. Mura S, Nicolas J, Couvreur P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nat Mater.* 2013; 12:991–1003.
52. Na HB, Song IC, Hyeon T. Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents. *Adv Mater.* 2009;21(21):2133–2148.
53. Nazila K, Yameen B, Wu J, Farokhzad OC. Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release. *Chem Rev [Internet].* 2016;116(4):2602–63.
54. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am J Pathol.* 2007;170(5):1445–53.
55. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 2013;19(4):764–72.
56. Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, Deltour I, Fisher JL, Langer CE, et al. The epidemiology of glioma in adults: A state of the science review. *Neuro Oncol.* 2014;16(7):896–913.
57. Ozdemir-Kaynak E, Qutub AA, Yesil-Celiktas O. Advances in glioblastoma multiforme treatment: New models for nanoparticle therapy. *Front Physiol.* 2018; 9:1–14
58. Pasquini L, Napolitano A, Visconti E, Longo D, Romano A, Tomà P, et al. Gadolinium-Based Contrast Agent-Related Toxicities. *CNS Drugs.* 2018;32(3):229–40.

59. Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Updat*. 2004;7(2):97–110.
60. Peng J, Dong M, Ran B, Li W, Hao Y, Yang Q, et al. “one-for-All”-Type, Biodegradable Prussian Blue/Manganese Dioxide Hybrid Nanocrystal for Trimodal Imaging-Guided Photothermal Therapy and Oxygen Regulation of Breast Cancer. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2017;9(16):13875–86.
61. Petri-Fink A, Hofmann H. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): From synthesis to in vivo studies - A summary of the synthesis, characterization, in vitro, and in vivo investigations of SPIONs with particular focus on surface and colloidal properties. *IEEE Trans Nanobioscience*. 2007;6(4):289–97.
62. Rao JP, Geckeler KE. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Prog Polym Sci [Internet]*. 2011;36(7):887–913.
63. Roy D, Brooks WLA, Sumerlin BS. New directions in thermoresponsive polymers. *Chem Soc Rev*. 2013;42(17):7214–43.
64. Sabourian P, Yazdani G, Ashraf SS, Frounchi M, Mashayekhan S, Kiani S, et al. Effect of physico-chemical properties of nanoparticles on their intracellular uptake. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):1–20.
65. Saito G, Swanson JA, Lee KD. Drug delivery strategy utilizing conjugation via reversible disulfide linkages: Role and site of cellular reducing activities. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003;55(2):199–215.
66. Salavati-Niasari M, Davar F, Mir N. Synthesis and characterization of metallic copper nanoparticles via thermal decomposition. *Polyhedron [Internet]*. 2008;27(17):3514–8.
67. Santelli J, Lechevallier S, Calise D, Marsal D, Siegfried A, Vincent M, et al. Multimodal gadolinium oxysulfide nanoparticles for bioimaging: A comprehensive biodistribution, elimination and toxicological study. *Acta Biomater*. 2020; 108:261–72.
68. Šamec N, Zottel A, Paska AV, Jovčevska I. Nanomedicine and immunotherapy: A step further towards precision medicine for glioblastoma. *Molecules*. 2020;25(3).
69. Saquib Q. Green synthesis of nanoparticles: applications and prospects. 1st ed. 2020. Singapore: Springer; 2020.
70. Scherer HJ. A critical review: the pathology of cerebral gliomas. *J Neurol Psychiatry* 1940;3: 147–77.
71. Shvedova AA, Pietroiusti A, Fadeel B, Kagan VE. Mechanisms of carbon nanotube-induced toxicity: Focus on oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol [Internet]*. 2012;261(2):121–33.

72. Shirvalilou S, Khoei S, Khoee S, Raoufi NJ, Karimi MR, Shakeri-Zadeh A. Development of a magnetic nano-graphene oxide carrier for improved glioma-targeted drug delivery and imaging: In vitro and in vivo evaluations. *Chem Biol Interact* [Internet]. 2018; 295:97–108.
73. Silantyev AS, Falzone L, Libra M, Gurina OI, Kardashova KS, Nikolouzakis TK, et al. Current and Future Trends on Diagnosis and Prognosis of Glioblastoma: From Molecular Biology to Proteomics. *Cells*. 2019;8(8).
74. Simińska D, Korbecki J, Kojder K, Kapczuk P, Fabiańska M, Gutowska I, et al. Epidemiology of anthropometric factors in glioblastoma multiforme—literature review. *Brain Sci*. 2021;11(1):1–14
75. Singh S, Kumar V, Romero R, Sharma K, Singh J. Applications of Nanoparticles in Wastewater Treatment. *Nanotechnol Life Sci*. 2019;3(3):395–418.
76. Stathis A. Treatment overview. *Handb Lymphoma*. 2016;20(5):33–44.
77. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, et al. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005; 352:987-996
78. Sun C, Lee JSH, Zhang MQ. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev*. 2008;60(11):1252– 1265.
79. Tong R, Hemmati HD, Langer R, Kohane DS. Photoswitchable nanoparticles for triggered tissue penetration and drug delivery. *J Am Chem Soc*. 2012; 134:8848–8855.
80. Tratnyek PG, Johnson RL. Nanotechnologies for environmental cleanup. *Nano Today*. 2006;1(2):44–8.
81. Unser S, Bruzas I, He J, Sagle L. Localized Surface Plasmon Resonance Biosensing: Current Challenges and Approaches. *Sensors* [Internet]. 2015; 15:15684–716.
82. Uygur B, Craig G, Mason MD, Ng AK. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanomaterials. *Tech Proc 2009 NSTI Nanotechnol Conf Expo, NSTI-Nanotech 2009*. 2009;2(2):383–6.
83. Veres DS, Máthé D, Futó I, Horváth I, Balázs Á, Karlinger K, et al. Quantitative liver lesion volume determination by nanoparticle-based SPECT. *Mol Imaging Biol*. 2014;16(2):167–72.
84. Verma J, Lal S, Van Noorden CJF. Nanoparticles for hyperthermic therapy: Synthesis strategies and applications in glioblastoma. *Int J Nanomedicine*. 2014;9(1):2863–77.
85. Virchow R, Frankfurt M. *Gesammelte Abhandlungen zyr wissenschaftlichen Medizin*. Bayer, Staatsbibliothek: Verlag von Meidinger Sohn & Comp; 1856.
86. Wang J, Bettegowda C. Applications of DNA-Based Liquid Biopsy for Central Nervous System Neoplasms. *J Mol Diagnostics* [Internet]. 2017;19(1):24–34.
87. Weiss J, Takhistov P, Julian D. Functional Materials in Food Nanotechnology. *J. Food Sci*. 2006; 71, R107–R116.

88. Weissig V, Pettinger TK, Murdock N. Nanopharmaceuticals (part 1): products on the market. *Int J Nanomedicine*. 2014;9:4357–73.
89. Wilson DS, Dalmaso G, Wang L, Sitaraman S V., Merlin D, Murthy N. Orally delivered thioketal nanoparticles loaded with TNF- α -siRNA target inflammation and inhibit gene expression in the intestines. *Nat Mater*. 2010;9(11):923–8.
90. Wirsching HG, Galanis E, Weller M. Glioblastoma. *Handb Clin Neurol*. 2016; 134:381–97.
91. Xiao C, Ding J, Ma L, Yang C, Zhuang X, Chen X. Synthesis of thermal and oxidation dual responsive polymers for reactive oxygen species (ROS)-triggered drug release. *Polym Chem*. 2015; 6:738–747.
92. Xiao YD, Paudel R, Liu J, Ma C, Zhang ZS, Zhou SK. MRI contrast agents: Classification and application (Review). *Int J Mol Med*. 2016;38(5):1319–26.
93. Xie W, Guo Z, Gao F, Gao Q, Wang D, Liaw BS, et al. Shape-, size-and structure-controlled synthesis and biocompatibility of iron oxide nanoparticles for magnetic theranostics. *Theranostics*. 2018;8(12):3284–307.
94. Young JK, Figueroa ER, Drezek RA. Tunable nanostructures as photo- thermal theranostic agents. *Ann Biomed Eng*. 2012;40(2):438–459.
95. Zhang H, Xia H, Wang J, Li Y. High intensity focused ultrasound-responsive release behavior of PLA-b-PEG copolymer micelles. *J Controlled Release*. 2009; 139:31–39.
96. Zülch K J. Histological typing of tumours of the central nervous system. 1st ed. Geneva: World Health Organization; 1979.