

APLICACIONES
DE LOS
NANOSISTEMAS
EN EL CAMPO DE
LA SALUD:
TRATAMIENTO
Y DIAGNÓSTICO
FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD
DE
SEVILLA



ALBA PRIOR JIMÉNEZ

TRABAJO FIN DE GRADO

**APLICACIONES DE LOS
NANOSISTEMAS EN EL CAMPO DE
LA SALUD: TRATAMIENTO Y
DIAGNÓSTICO**

Alba Prior Jiménez

Tutora: Josefa Álvarez Fuentes

Departamento de Tecnología Farmacéutica

Grado en Farmacia

Universidad de Sevilla



Facultad de Farmacia



Revisión Bibliográfica

Sevilla, Diciembre 2018

Índice

Resumen

1. Introducción.....	3
2. Objetivos de la revisión.....	4
3. Metodología.....	5
4. Resultados y discusión.....	6
4.1. Concepto y características generales de las nanopartículas.....	6
4.1.1. Tipos de nanopartículas.....	9
4.1.2. Procesos de síntesis de nanopartículas.....	14
4.2. Aplicación de las nanopartículas en Salud.....	16
4.2.1. Diagnóstico.....	16
4.2.2. Tratamiento.....	20
4.2.2.1. Nanopartículas para el tratamiento de enfermedades infecciosas.....	22
4.2.2.2. Nanopartículas para el tratamiento del Parkinson.....	25
4.2.3. Teragnosis.....	25
5. Conclusiones.....	29
6. Bibliografía.....	30

Resumen:

La nanotecnología ha supuesto toda una revolución multidisciplinar en la ciencia moderna en el último siglo. Se trata de la manipulación de la materia a escala nanométrica, donde se ha descubierto que las propiedades conocidas de los materiales se transforman para dar lugar a nuevas propiedades realmente interesantes, cuyo uso puede ser de gran impacto en la sanidad.

Los métodos de síntesis de las nanopartículas son múltiples, al igual que los tipos disponibles de las mismas según su composición química; la selección de una u otra NP dependerá del proyecto en el que se quieran hacer partícipes, ya que todas ellas poseen cualidades que las hacen únicas.

Una de las aplicaciones más extendidas de las nanopartículas es el uso de las mismas como vehículos transportadores para la liberación directa o controlada de fármacos, ya que ha sido demostrado que en numerosos casos mejora la estabilidad, solubilidad y biodistribución del mismo. Además es posible llevar a cabo una administración dirigida hacia un tejido u órgano diana evitando así efectos adversos sistémicos y mejorando su efectividad con una disminución notable de la dosificación.

Es interesante mencionar también la mejora de las técnicas de diagnóstico por imagen mediante el uso de nanopartículas como agentes de contraste (AC).

A pesar de todos los avances logrados, en el campo de la nanotecnología queda aún mucho por descubrir; prueba de esto es la teragnosis, que puede traducirse como llevar a cabo un tratamiento dirigido por imagen. Se trata de un nuevo enfoque de diagnóstico y tratamiento, que podría permitir un tratamiento personalizado para cada pacientes, más eficaz, optimizado y con una mayor racionalización de los recursos.

Palabras clave: Nanopartículas, Síntesis, Diagnóstico, Teragnosis, Terapia.

1. Introducción:

Aunque podría decirse que la nanotecnología es uno de los campos que despierta mayor interés científico en el siglo actual, la clave de esta ciencia en auge, las nanopartículas (NPs), no son ningún descubrimiento reciente.

Sin embargo, no se conoce muy bien el momento exacto en el que el ser humano comenzó a beneficiarse de las propiedades de las NPs, se sabe que ya en la antigua Mesopotamia los artesanos musulmanes generaban un efecto brillante en la cerámica gracias al uso de NPs de plata y cobre generadas a partir de la mezcla de sales de dichos metales con óxido, vinagre, ocre y arcilla (Khan, 2011).

No fue hasta 1857 cuando Michael Faraday en su artículo experimental sobre las propiedades ópticas del oro y otros metales al ser atravesados por la luz, proporcionó en términos científicos la descripción de las propiedades de dichos materiales en escala nanométrica (Faraday, 1857).

El que se consideró el padre de la nanotecnología, Richard Feynman fue quien especuló por primera vez sobre las posibilidades que presentaban los materiales en escala nanométrica, sugiriendo la posibilidad de examinar y controlar los materiales en dicha escala (Feynman, 1959).

Desde entonces se produjeron numerosos avances en dicho campo, (desarrollo de ferrofluidos en los años 60, desarrollo de la microscopía de barrido efecto túnel durante los años 80, obtención de nanotubos de carbono en los años 90), y debido a las altas perspectivas generadas, el interés por la obtención de nuevas aplicaciones o el desarrollo de nuevos nanomateriales se ha mantenido en auge.

Dado que nos encontramos en una etapa de evolución tecnológica constante, el campo científico-sanitario no deja de avanzar a velocidad exponencial en lo que a descubrimientos o mejoras de innovadoras técnicas y aplicaciones de las mismas se refiere en el ámbito de la salud. Es aquí donde surge la nanomedicina, resultando de la combinación de los conocimientos sobre nanotecnología aplicados a problemas sanitarios.

A pesar de que es cierto que las técnicas de diagnóstico, terapias y medicamentos convencionales han solucionado grandes problemas de salud a lo largo de los siglos, cabe destacar que poseen numerosos inconvenientes aún sin solución. Es aquí donde encuentran lugar las ventajas aportadas por las NPs.

Un diagnóstico excesivamente invasivo, tardío o insuficiente puede ser tan letal como la falta de tratamiento. Esto puede ser solucionado mediante el uso de NPs para la detección precoz de enfermedades letales, así como la evaluación y obtención de imágenes internas no invasivas.

En cuanto al tratamiento convencional de patologías, es cierto que se plantean problemas como la ineficacia terapéutica debido a la insuficiente cantidad de fármaco presente en el lugar de acción, los numerosos efectos secundarios sobre otros órganos y/o tejidos debido al efecto sistémico o la incapacidad de controlar la liberación de dicho fármaco en el tiempo. Estos percances propuestos en el uso de los tratamientos convencionales, podrían ser solucionados mediante la aplicación de la nanomedicina, haciendo uso de las propiedades beneficiosas que proporcionan los nanomateriales.

Sin embargo, no todo es positivo ya que se encuentran en investigación y actualmente aún se debe encontrar solución a los problemas que presentan los nanomateriales, debido a que tienen que ser considerados para su uso in vivo requisitos tan indispensables como la biocompatibilidad, toxicidad y degradación y excreción de los mismos en el organismo humano, aspectos que sin duda deben ser mejorados.

2. Objetivos de la revisión

Como se ha comentado, en los últimos años se ha producido un importante avance en la Nanotecnología, y con ella en la Nanomedicina.

Así, el objetivo principal de este trabajo es describir la situación actual del desarrollo de los sistemas nanoparticulares y sus aplicaciones en el campo de la salud.

Para alcanzar exitosamente el objetivo principal comentado, se pretenden alcanzar objetivos parciales relacionados con el conocimiento, por un lado, de los nanosistemas que están siendo investigados, y por otro, de los usos y aplicaciones de los nanosistemas en lo que respecta tanto al tratamiento como al diagnóstico de las enfermedades.

3. Metodología:

Para llevar a cabo la revisión bibliográfica que se presenta en este trabajo, se realizó una exhaustiva búsqueda bibliográfica a lo largo de la literatura científica empleando para ello distintas bases de datos y herramientas de búsqueda online que se detallan a continuación:

- Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)
- ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>)
- TESEO (<https://www.educacion.gob.es/teseo/irGestionarConsulta.do>)
- Google Académico (<https://scholar.google.es/>)
- Mendeley (<https://www.mendeley.com/>)

Al realizar la selección de artículos, ensayos clínicos, revisiones o tesis doctorales que proporcionasen información sobre el tema objeto de nuestro estudio, se tuvieron en cuenta por separado y en ocasiones combinando algunas de ellas, las palabras claves “patología” “nanopartículas”, “teragnosis”, “terapia”, “nanotecnología”, “diagnóstico” y “tratamiento”. Además de las mismas en inglés “pathology”, “nanoparticles”, “theragnosis”, “therapy”, “nanotechnology”, “diagnostic” y “treatment”.

Se seleccionaron inicialmente lecturas que proporcionaban una visión general para a posteriori pasar a centrarnos en documentos que proporcionaban una visión más especializada en los temas de interés, para ello se consultaron también las bibliografías utilizadas por algunos de los autores en sus artículos.

No se emplearon filtros de antigüedad en la búsqueda de artículos, ya que además del panorama actual, interesaba conocer los inicios y la evolución de la Nanotecnología.

4. Resultados y discusión

4.1 Concepto de nanopartículas (NPs)

“Las nanotecnologías se encargan del diseño, caracterización, producción y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas a través del control de su forma y su tamaño a escala nanométrica” (Dowling et al., 2004)

Dicha escala nanométrica (figura1), normalmente es referida a los tamaños comprendidos entre 1 – 100 nanómetros; es decir, comprende el rango de la milmillonésima parte del metro (10^{-9} m), lo que sería análogo a comparar el tamaño de una canica con el del planeta Tierra (Bawarski et al., 2008).

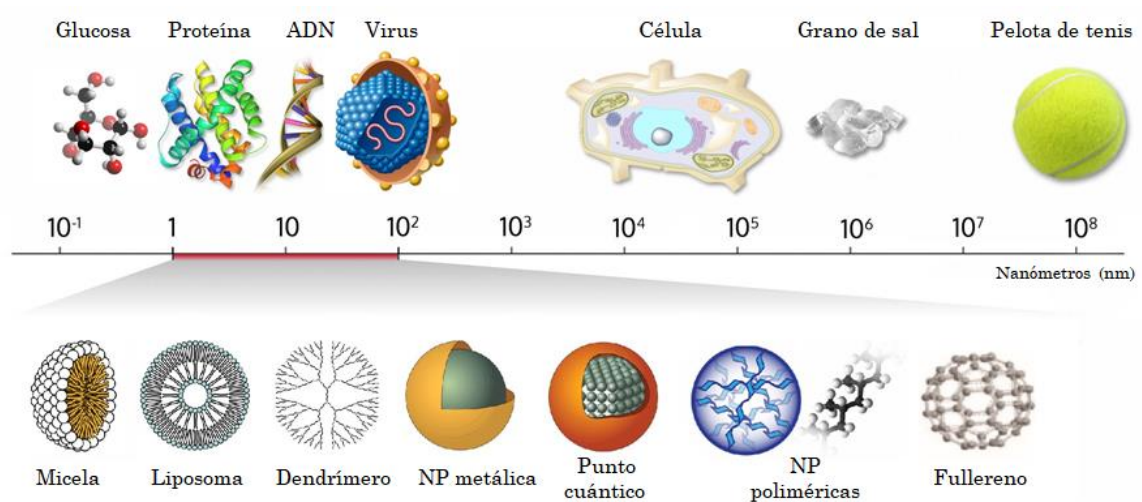


Figura 1. Escala nanométrica que muestra el tamaño de las nanopartículas mediante comparaciones. (Imagen modificada de <https://www.wichlab.com/research/>)

Estos límites son seleccionados a partir de la experiencia científica ya que la Nanotecnología es una ciencia multidisciplinaria e interdisciplinaria que abarca el estudio de materiales que exhiben propiedades notables, así como funcionalidad y fenómenos únicos debido a la influencia de sus pequeñas dimensiones, y es justamente en este rango donde las NPs presentan dichos fenómenos que permiten nuevas aplicaciones, ya que los principios básicos de la física dejan de describir sus comportamientos y son guiadas por los principios de la mecánica cuántica (Sutherland, 2012).

Una de las causas en el cambio del comportamiento de sus propiedades es el confinamiento cuántico que sufren los electrones en el interior de las NPs que tienen al menos en una de sus dimensiones un tamaño menor a 100 nm. Los electrones confinados ocuparán diferentes niveles de energía, produciendo así una cuantización de los mismos, de los estados de densidad

electrónica y de la carga. Esto conlleva a un cambio en las propiedades ópticas (por ejemplo, aunque se conoce que las partículas de oro y silicio son de color amarillo y gris respectivamente, sus NPs serán de color rojo brillante a negro) (Lungu et al., 2015), así como en las propiedades electrónicas, electromagnéticas, magnéticas y eléctricas, lo que resultará de interés para las técnicas diagnósticas de imagen (Mohammad, 2014).

Aunque como hemos mencionado la nanotecnología convencional explora partículas dentro del intervalo de tamaño citado anteriormente, en la práctica, para llevar a cabo el estudio de partículas para el suministro de activos en el campo de la nanomedicina, encontramos que ese intervalo llega a ampliarse, sin embargo, se ha demostrado que las partículas muchos mayores, pueden presentar problemas diversos (Bawarski et al., 2008):

- Las NPs con un tamaño menor a 200 nm pueden activar el sistema del complemento humano (parte importante del sistema inmune) y ser eliminadas de la sangre por las células de Kupffer.
- Aquellas NPs de tamaño comprendido entre 200 y 250 nm serán susceptibles de sufrir filtración esplénica.
- NPs mayores de 150 nm podrán ser eliminadas mediante filtración hepática.
- Será conveniente que las NPs que transportan fármacos o agentes de imagen con el fin de dirigirse a una masa tumoral sean menores de 300 nm ya que los capilares tumorales rara vez superan este diámetro.

Por tanto, aunque el intervalo de tamaño nanométrico para las NPs es ampliable, rara vez encontraremos formulaciones de mucho más de 200nm.

Las NPs se definen por tanto como estructuras supramoleculares con un tamaño submicrométrico en al menos una de sus dimensiones (Bawarski et al., 2008).

Las NPs son moléculas altamente complejas compuestas de varias capas (figura 2), que en lo general se dividen en (McNeil, 2005; Lim et al., 2013; Shin et al., 2016):

- I. **Capa superficial:** puede ser cargada con una gran variedad de moléculas pequeñas así como iones metálicos, polímeros, etc... con el objetivo de funcionalizar las NPs, es decir, modificar su estructura base con el objetivo de añadirle a la misma átomos o grupos funcionales.
- II. **Capa o capas de recubrimiento del núcleo:** químicamente diferentes al núcleo en todos los aspectos, pueden ser mesoporosas (con poros de diversos diámetros), lo cual aporta características adicionales.
- III. **Núcleo:** parte más interna de la NP.

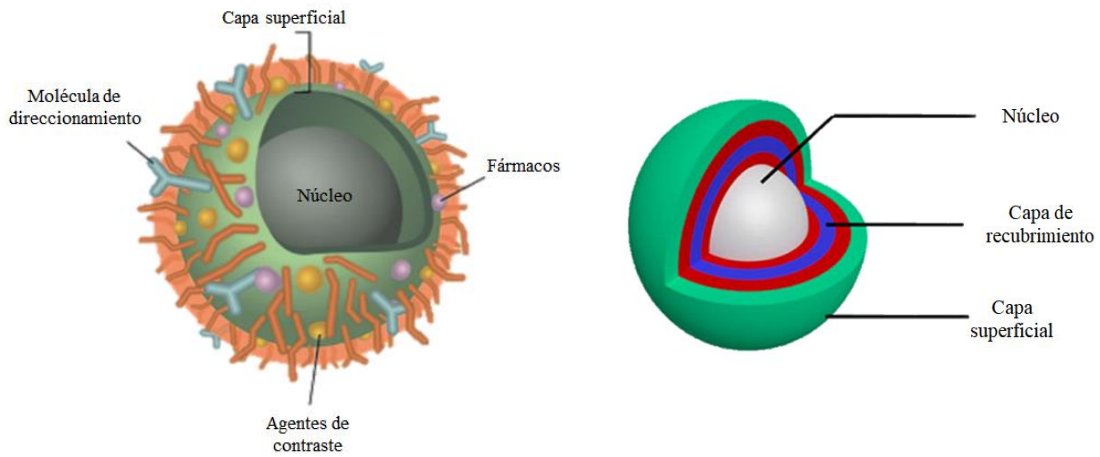


Figura 2. Estructuras de nanopartículas. (Imágenes modificadas de McNeil, 2005 y <https://www.sciencedaily.com/releases/2013/10/131023112634.htm> respectivamente).

Esta singular estructura, (además de su reducido tamaño) confiere propiedades únicas a las NPs que las han llevado a ser en la actualidad un foco de investigación en auge. Aunque son numerosas las propiedades que hacen de interés estas moléculas nos centraremos en algunas de ellas que son de mayor interés en el campo de la nanotecnología a la hora de integrar fármacos o agentes de imagen (Lee et al., 2012):

- 1) Poseen una elevada área de superficie, así como volumen de carga interior, lo que permite introducir cantidades suficientes de activos para resultados satisfactorios (figura 3).

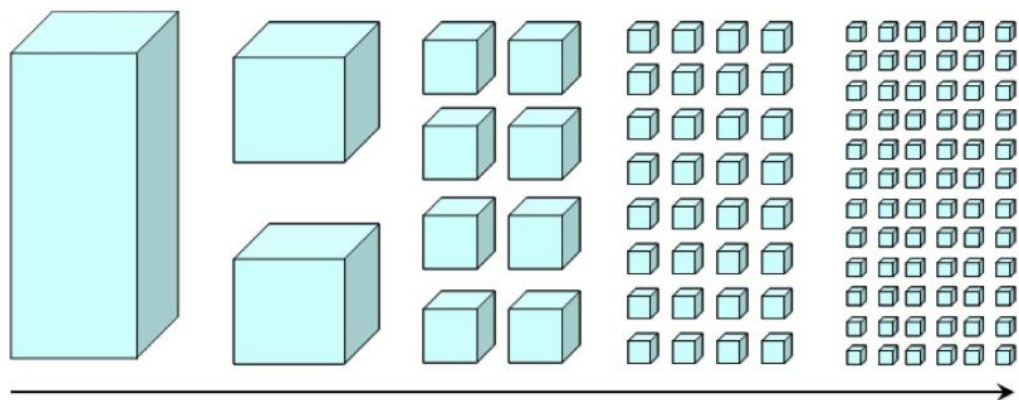


Figura 3. A menor diámetro de la nanopartícula, mayor será el área de superficie de la misma. (Imagen obtenida de <http://nuevatecnologiasymateriales.com/wp-content/uploads/2015/08/Incremento-de-superficie-relativa.jpg>)

- 2) Pueden integrar en su estructura más de un tipo de activo, lo que las convierte en nanoplataformas multifuncionales, propiedad fundamental para llevar a cabo diferentes funciones simultáneas.

- 3) Con la funcionalización de la superficie, como mencionamos anteriormente mediante la fijación de ligandos específicos, podemos lograr dirigirlas hacia las células y/o tejidos diana.
- 4) Además, el tamaño adecuado y la modificación superficial, podrían ser de utilidad para aumentar el tiempo de circulación de las NPs en sangre, reduciendo así la opsonización y retención del sistema retículo endotelial (RES).

4.1.1. Tipos de NPs

Son numerosas las categorías en las que se pueden clasificar las NPs, según diferentes criterios como: origen, tamaño, número de dimensiones, composición química, aplicación, etc...

- **Origen:** según cómo se originan las NPs (Lungu et al., 2015) puede hablarse de:
 - **NPs de origen natural:** en la naturaleza pueden encontrarse NPs en abundancia, es el caso de las NPs de erupciones volcánicas, las partículas de polvo del desierto, el polvo interestelar, o los fragmentos de desintegración de meteoritos, entre otros numerosos ejemplos.
 - **NPs originadas por la actividad antropogénica:** se refiere a aquellas procedentes de la actividad humana (explotación primaria de materiales de canteras, gases de escape, energía térmica, fuegos artificiales, etc...)
- **Tamaño:** atendiendo a su tamaño las NPs pueden clasificarse en (Lungu et al.,2015):
 - Sistemas de ultradispersión (1-50nm)
 - Sistemas de alta dispersión (50-100nm)
 - Partículas sedimentables (100-1000nm)

El tamaño de las NPs y la distribución de tamaño de las mismas, son las características más importantes, ya que pueden determinar el destino biológico, la toxicidad, la distribución in vivo y la capacidad de orientación como sistemas de suministro de activos.

- **Número de dimensiones en escala nanométrica:** según este criterio pueden diferenciarse NPs de una, dos o tres dimensiones respectivamente (Bhatia, 2016).

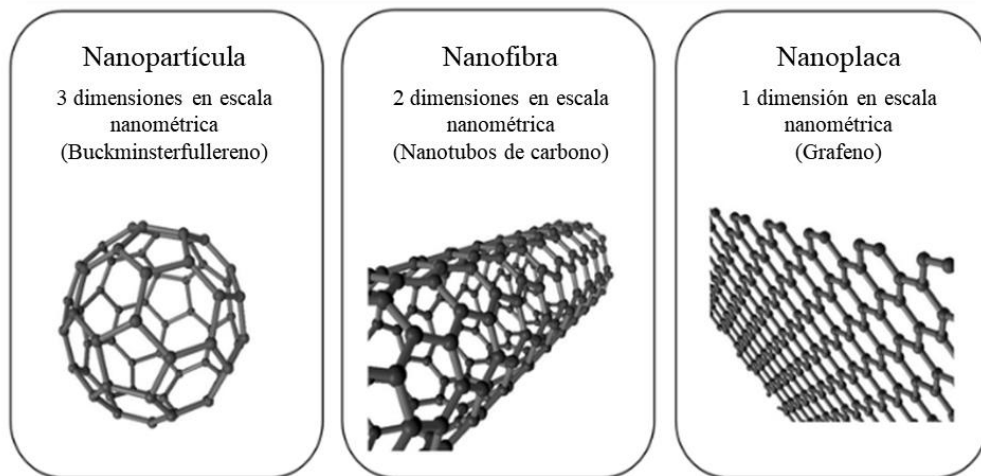


Figura 4. Clasificación de nanopartículas según número de dimensiones que posean en escala nanométrica. (Imagen modificada de Omlor et al., 2015).

- **Composición química:** en lo que a la aplicación farmacéutica se refiere, este criterio de clasificación es quizás una de las opciones más útil para clasificar las NPs ya que su composición química estará muy relacionada con su biocompatibilidad (Lee et al., 2012). Encontraremos dos grandes grupos: NPs orgánicas e inorgánicas (figura 5).

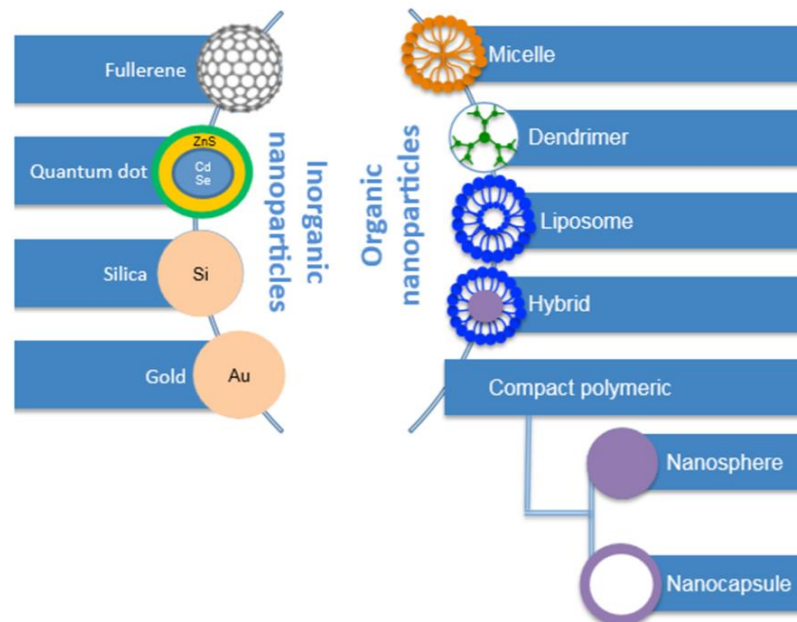


Figura 5. Esquema clasificatorio de nanopartículas según su composición química. (Obtenida de Luísa y Cartaxo, 2016)

- **NPs orgánicas:** micelas, dendrímeros, liposomas, NPs poliméricas híbridas y NPs poliméricas compactas

- **Micelas:** son nanoestructuras esféricas formadas por moléculas anfifílicas unidas por interacciones intermoleculares no covalentes que podrán ser orientadas en función del medio en el que se encuentren (normalmente con sus grupos hidrofílicos orientados hacia el exterior y un núcleo hidrofóbico, lo que las convierte en estructuras muy estables) (Luísa y Cartaxo, 2016).

Por tanto serán una buena opción para solubilizar fármacos poco solubles en medio acuoso. Los fármacos podrán estar en el interior de la estructura o adheridos en la superficie mediante enlaces covalentes.

Como ocurre con otras muchas NPs, su superficie puede modificarse con ligandos específicos para dirigir las NPs selectivamente al lugar de acción. Las micelas tienen la capacidad de eludir eficazmente al sistema inmunitario por lo que podrán circular durante largos períodos en sangre. Además, las micelas no producen efecto de acumulación del fármaco, ya que este viaja en el interior de las micelas y es liberado de forma gradual. También es importante el hecho de que las micelas son estructuras que se eliminan por completo mediante excreción renal. (Gaucher et al., 2005; Oropesa-Nuñez y Jáuregui-Haza, 2012).

- **Dendrímeros:** macromoléculas únicas altamente ramificadas a partir de uno o varios núcleos. El número de ramificaciones también conocidas como generaciones determinarán el tamaño final de la NP.

Los dendrímeros poseen múltiples grupos funcionales en su superficie, lo que les confiere una importante versatilidad de aplicación (Oropesa-Nuñez y Jáuregui-Haza, 2012; Luísa y Cartaxo, 2016).

- **Liposomas:** se trata de vesículas esféricas compuestas de colesterol y fosfolípidos que se autodisponen en bicapas para encapsular un interior hidrofílico. Dependiendo del número de bicapas, se clasifican en multilamelares o unilamelares, siendo los más comunes estos últimos.

Han presentado ventajas a la hora de transportar fármacos, ya que pueden incorporar a su estructura moléculas de cualquier naturaleza y presentan un contacto facilitado con la membrana de la célula diana para la entrega del fármaco transportado. Otras de sus grandes ventajas son el hecho de ser completamente biodegradables, compatibles, no tóxicas y no inmunogénicas (Oropesa-Nuñez y Jáuregui-Haza, 2012; Luísa y Cartaxo, 2016).

- **NPs poliméricas híbridas:** esta peculiar estructura se presenta bajo diferentes opciones.

La primera de ellas sería la de un núcleo polimérico hidrofóbico y biodegradable rodeado de una monocapa lipídica que en ocasiones puede verse sustituida por una bicapa lipídica.

La otra de las opciones sería la de un núcleo de carácter inorgánico, como podría ser un núcleo metálico, rodeado por una capa orgánica, como lo sería una capa de polímero (Luísa y Cartaxo, 2016).

- **NPs poliméricas compactas:** hay de dos tipos nanocápsulas y nanoesferas (figura 6).

La principal diferencia entre ambas es que en la primera, el fármaco se encuentra encapsulado en el interior de una membrana polimérica natural o sintética, mientras que en la segunda estructura, dicho fármaco se encontraría de forma dispersa, ya sea disuelto o suspendido en una matriz polimérica (Luísa y Cartaxo, 2016).

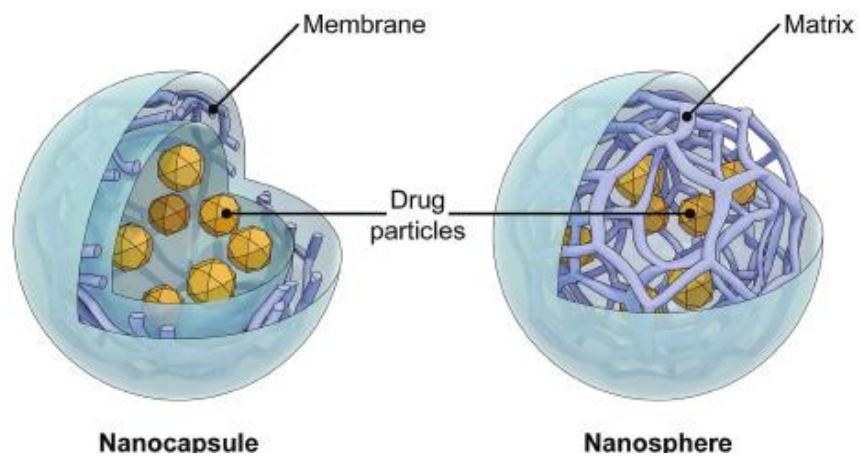


Figura 6. Diferencias entre Nanocápsula a la derecha de la imagen y Nanoesfera a la izquierda de la misma. (Imagen obtenida de Suffredini et al., 2013)

- **NPs inorgánicas:** Fullerenos/nanotubos de carbono, puntos cuánticos, NPs de metales pesados (oro, silicio, plata, etc...)

- **Fullerenos:** son NPs compuestas únicamente de moléculas de carbono dispuestas de forma simétrica (ya sea geométrica, esférica, elipsoide, o de tubo o anillo) y estable.

El Buckminsterfullereno de fórmula empírica C₆₀ es el fullereno más conocido, se trata de un icosaedro rígido también conocido como futboleno (por su semejanza estructural a un balón de fútbol).

Como se ha mencionado, los fullerenos pueden adoptar forma cilíndrica hueca, enrollando láminas de grafeno, obteniéndose así los nanotubos de carbono, estructuras con enorme potencial para el suministro de fármacos.

Aunque poseen desventajas como su baja solubilidad en disolventes orgánicos, estas se ven superadas por las ventajas que aportan sus propiedades ópticas, eléctricas y magnéticas, como por ejemplo la superconductividad. (Oropesa-Nuñez y Jáuregui-Haza, 2012; Luísa y Cartaxo, 2016).

- **Puntos cuánticos:** son nanocristales semiconductores luminiscentes de pequeño diámetro (2-10 nm). Los más utilizados basan su estructura en seleniuro de cadmio (CdSe), sulfuro de cadmio (CdS) y telurio de cadmio (CdTe); siendo el cadmio altamente tóxico, esto supone uno de los mayores inconvenientes de estas NPs, además de su inestabilidad, ya que sin el ligando adecuado los cristales podrían agregarse debido a su pequeño tamaño, perdiendo sus propiedades.

Por el contrario presentan numerosas ventajas como el hecho de que poseen una estructura compacta que les proporciona propiedades físicas y químicas únicas, como por ejemplo alta fotoestabilidad, un amplio espectro de absorción y un estrecho espectro de emisión en comparación con fluoróforos tradicionales, o una alta resistencia al fotoblanqueo, etc... (Oropesa-Nuñez y Jáuregui-Haza, 2012; Luísa y Cartaxo, 2016).

- **NPs de metales pesados:** estas NPs suelen estar formadas por metales como oro, plata, platino o sílice y están dispuestas en estructuras tridimensionales ordenadas y rígidas que presentan enlaces covalentes.

No es posible cargar fármacos en su estructura y presentan efectos negativos sobre la sangre.

Sin embargo, su elevada respuesta magnética es de grandísima importancia para ciertas aplicaciones sanitarias. (Luísa y Cartaxo, 2016).

4.1.2 Procesos de síntesis de NPs

Los métodos para sintetizar NPs pueden dividirse en dos clases (Zanella, 2012; Khan et al., 2017):

- **Métodos Bottom-up o de enfoque ascendente (de abajo hacia arriba):** se basan en una serie de métodos químicos en los cuales a partir de una molécula pequeña se crea una estructura mayor mediante un proceso de montaje.

Algunas de las técnicas bottom-up más representativas son:

- **Dispersión coloidal:** en este proceso se disuelve una sal del precursor metálico, o del óxido de interés, junto con un reductor y un estabilizante en una fase continua o dispersante. El tamaño de las NPs así sintetizadas puede ser controlado variando las concentraciones de los reactivos y la naturaleza del medio.
- **Reducción fotoquímica y radioquímica:** en esta síntesis se produce una modificación de sistemas químicos a base de sales metálicas en agua, alcohol o solventes orgánicos, por medio de la aplicación de energía. La fotólisis y la radiólisis difieren en el nivel de energía utilizado. Por este método se producen NPs de alta pureza.
- **Irradiación con microondas:** en este método, los solventes polares se calientan y las moléculas contenidas en ellos se ven obligadas a girar perdiendo energía en las colisiones. Es un método rápido, uniforme y efectivo.
- **Utilización de dendrímeros:** se trata de la fabricación de nuevas NPs mediante la alteración de la estructura de los dendrímeros.
- **Método sol-gel:** se basan en la creación de un gel polimérico (sistema coloidal de fase continua sólida y fase dispersa líquida) a partir de una solución precursora líquida o sol (suspensión coloidal de partículas sólidas en un líquido). A continuación, el gel es deshidratado parcialmente creándose un residuo elástico sólido (xerogel). Por último, este material es totalmente deshidratado y a veces tratado térmicamente para obtener las NPs finales.

- **Métodos Top-down o de enfoque descendente (de arriba hacia abajo):** se basan en métodos físicos mediante los cuales se produce una miniaturización de los materiales, es decir, moléculas más grandes se irán descomponiendo para dar lugar a otras más pequeñas.

Existen numerosos métodos, aunque los más representativos son (Zanella, 2012; Khan et al., 2017):

- **Evaporación térmica:** calentamiento en cámara de vacío hasta la evaporación del material que se pretende depositar.
- **Depósito químico en fase de vapor (CVD):** se trata de llevar a cabo la exposición de un sustrato a uno o más compuestos volátiles en el interior de un reactor, los cuales se descompondrán en la superficie de dicho sustrato para dar lugar a depósitos deseados.
- **Preparación de clusters gaseosos:** en este método, un láser de alta potencia producirá átomos metálicos que serán llevados por un gas inerte para su depósito sobre un sustrato en condiciones de vacío.
- **Implantación de iones:** en este caso, con ayuda de un acelerador, se implantan en un sólido los iones de un determinado material.
- **Molienda:** este proceso utiliza molinos de alta eficiencia para reducir el tamaño de las partículas macro o micrométricas, y por medios físicos se clasifican y recuperan las de tamaño nanométrico.

Como se puede observar, a excepción de la molienda, en su mayoría estos métodos requieren instrumentación especial y costosa por lo que son preferibles en muchas ocasiones los métodos de abajo hacia arriba.

Además de estos métodos, las NPs inorgánicas también pueden ser sintetizadas mediante el uso de agentes biológicos como son las bacterias, las levaduras, los hongos o las algas; estos microorganismos poseen enzimas reductasas que tienen la capacidad de reducir las sales de metal a NPs metálicas (Singh et al., 2016). Por ejemplo, para las NPs de oro y plata, es común el uso de *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, o *Escherichia coli*. Este método es más limpio y ecológico que cualquier otro químico pero presenta problemas de extracción y purificación de las NPs, ya que los residuos no deseados pueden producir reacciones adversas (Iravani, 2014).

4.2 Aplicación de las NPs en Salud

4.2.1 Diagnóstico

Las técnicas de imagen in vivo son un componente esencial en clínica para el diagnóstico no invasivo de pacientes, son herramientas poderosas para visualizar el estado anormal del cuerpo y monitorizar situaciones biológicas en el sitio objetivo. Aunque existen numerosas técnicas de diagnóstico no invasivas de gran utilidad, es cierto que presentan limitaciones intrínsecas como un bajo contraste en la imagen proporcionada, una distribución no específica a través del organismo del paciente y numerosos efectos colaterales indeseados. Es por esto que se diseñan NPs que actúan como agentes de contraste para las modalidades más comunes de obtención de imagen para diagnóstico que buscarán solucionar estas limitaciones (Ma et al., 2017).

Dependiendo de la patología a diagnosticar, será de mayor utilidad emplear una técnica de diagnóstico u otra. Algunas de las cuales son:

- **Tomografía computerizada (TC):** esta técnica mide la absorción de rayos X utilizando materiales de elevado número atómico.
- **Imagen de resonancia magnética (MRI):** las imágenes obtenidas mediante este método no requieren radioisótopos ni radiación, ya que son el resultado de la interacción entre un campo magnético producido por la maquinaria usada y los átomos de hidrógeno contenidos en el organismo del paciente.
- **Imágenes de ultrasonografía (US):** esta técnica consiste en la emisión de ondas sonoras a través del cuerpo que rebotan en los órganos y/o tejidos de los cuáles se desea obtener imagen devolviendo una señal que es transformada en señal eléctrica por un transductor.
- **Tomografía por emisión de positrones (PET):** para la obtención de imagen mediante esta técnica será necesaria la administración de un radiofármaco mediante vía intravenosa que emita positrones que al ser destruidos den lugar a fotones gamma que serán detectados por el tomógrafo.

A pesar de que todas estas técnicas de imagen son mejoradas mediante el uso de NPs, algunas poseen mayores ventajas que otras, siendo al final la técnica de diagnóstico por imagen más común en medicina clínica debido a su excelente resolución espacial, naturaleza no invasiva y no destructiva, la resonancia magnética. (De et al., 2008)

La imagen de diagnóstico obtenida mediante resonancia magnética se basa en la diferencia existente en los tiempos de relajación de los tejidos que se desean observar, proceso en el que los protones se realinean con el campo magnético después de ser excitados con un pulso de radiofrecuencia. Esta diferencia de tiempos de relajación, permite distinguir entre tejidos blandos, huesos, aire o líquidos corpóreos. A menudo la técnica puede presentar como inconveniente un insuficiente contraste de imagen; es aquí donde las NPs llevan a cabo su función actuando como agentes potenciadores de dicho contraste (AC) gracias a sus propiedades, (elevada magnetización, pequeño tamaño y estrecha distribución de tamaño de partículas) para mejorar la calidad de la imagen diagnóstica obtenida, permitiendo que sea menos difícil detectar la patología distinguiendo entre la señal del tejido afectado y la del tejido sano (De et al., 2008).

Las NPs empleadas como AC deben ser biocompatibles, no tóxicas y estables para aplicaciones in vivo, además requisitos ideales serían una rápida biodegradación y/o eliminación y estar desprovistos de actividad farmacológica y toxicológica, ya que debe tenerse en cuenta que dichos AC serán administrados también a pacientes sanos, incluyendo niños (Kiessling et al., 2014).

Algunas de las NPs más empleadas como AC son las NPs de óxido de hierro superparamagnéticas (SPION o USPION, siendo estas últimas de menor tamaño que las primeras), las NPs de gadolinio y las NPs de oro.

- **SPION:** existen dos formas principales, la magnetita, y su forma oxidada denominada maghemita. Esta última difiere de la primera en que todos o la mayoría de los átomos de hierro se encuentran en estado trivalente. Suelen ser empleadas en personas que sufren insuficiencia renal y por tanto no es conveniente el uso de NPs de gadolinio. Aunque el óxido de hierro se considera no tóxico y normalmente es metabolizado por el cuerpo en la hemoglobina, altas dosis de hierro aumentan la probabilidad de toxicidad por lo que será conveniente in vivo minimizar la carga de hierro. Existen AC orales aprobados actualmente por la FDA como *Gastromark*TM.
- **NPs de Gadolinio:** es el ión metálico más usado como AC en RM. Su principal característica es la presencia de siete electrones desapareados combinados con un largo tiempo de relajación del spin electrónico, lo que hace que sea una agente potenciador de la relajación clave en la RM muy eficiente. El principal desafío clínico presente del uso de NPs de este metal, es la toxicidad que presenta, ya que es muy tóxico en su forma iónica (interfiere con los canales de calcio y sitios de unión a proteínas, acumulándose además en hígado, bazo, riñón y huesos), por lo que no puede ser administrado de forma

directa, por lo que se combinarán con ligandos quelantes. Uno de los quelatos más comunes es el Gd-DTPA (DTPA = ácido dietilentriaminopentaacético), que se ha utilizado clínicamente como agente de contraste comercializado como Magnevist®. (Rosen et al., 2011)

- **NPs de Oro:** las NPs de este metal han demostrado ser un excelente sustituto del yodo para técnicas de diagnóstico en las que se empleaba este elemento (Yeh et al., 2012).

Aunque no todas las áreas del organismo son adecuadas para un eficiente uso de AC a base de NPs que mejoren la calidad de imagen de las técnicas de diagnóstico citadas anteriormente, el comportamiento biológico de las NPs mencionadas que actúan como AC, hace que sean excelentes candidatas a la fagocitosis por parte de los macrófagos del organismo, por lo que dichas NPs se acumularán en los tejidos que posean mayor concentración de macrófagos (hígado, bazo, ganglios linfáticos y lesiones inflamatorias como pueden ser las placas ateroscleróticas), haciendo de estos tejidos candidatos ideales para la obtención de imágenes diagnósticas.

Hasta ahora únicamente las NPs de óxido de hierro han sido empleadas para la toma de imágenes clínicas de los tejidos mencionados. En el hígado, la captación solo ocurrirá en áreas de tejido hepático sano (ya que posee una cantidad considerable de células de Kupffer, las cuáles contienen numerables macrófagos), por lo que en lesiones tan importantes como los tumores hepáticos malignos, las células tumorales desplazarán las células de Kupffer provocando que se delinee perfectamente al carecer de disminución de señal, lo que si ocurre en el tejido hepático normal (figura 7A). Se ha demostrado que para la detección de metástasis hepática, la RM potenciada con SPION es de gran utilidad. Como hemos mencionado, los ganglios linfáticos también absorben con facilidad las NPs que ejercen de AC (figura 7B). La linfografía mediante RM mejorada con contraste con estos agentes ha demostrado mejorar la detección de metástasis ganglionares y la diferenciación entre los ganglios linfáticos reactivos y metastásicos infiltrados en pacientes con cáncer de próstata, cáncer de mama, tumores de cabeza y cuello, y cáncer renal.

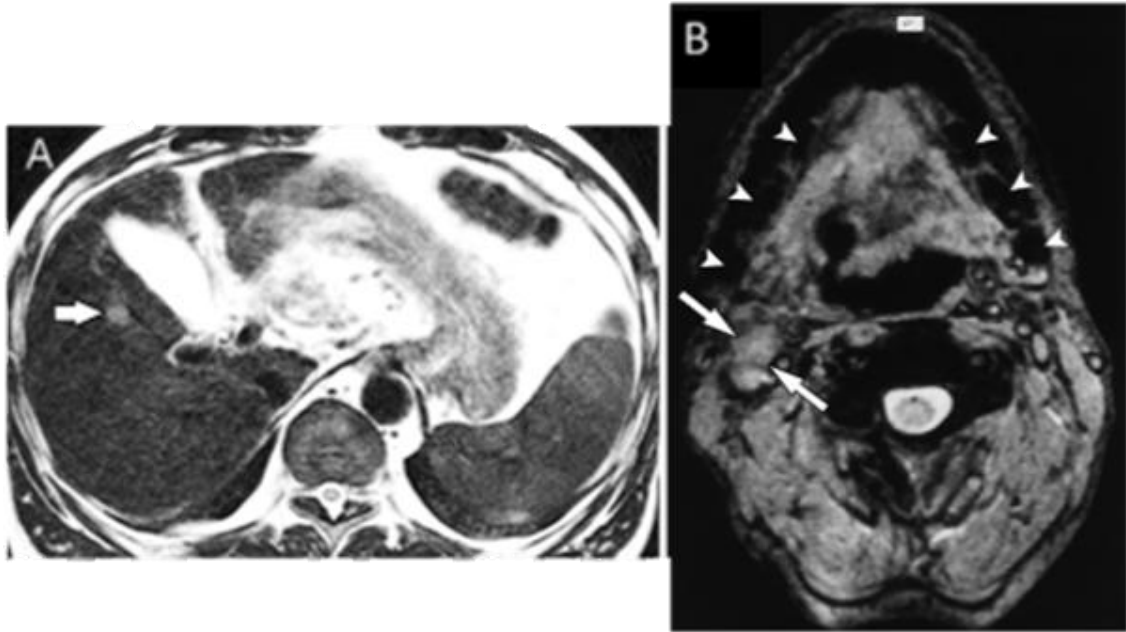


Figura 7. *Uso de nanopartículas para diagnóstico por imagen. A, delineación de carcinoma hepatocelular (flecha). B, ganglios linfáticos metastásicos (flechas) y sanos (cabezas de flecha) en pacientes con carcinoma amigdalino diferenciados. (Imagen obtenida y modificada de Kiessling et al., 2014).*

Además, otra de las recientes aplicaciones de diagnóstico por imagen mediante RM con NPs de óxido de hierro probada en animales y posteriormente en pacientes, ha sido visualizar la insulinitis como una manifestación temprana de diabetes tipo I, donde un proceso autoinmune conduce a una destrucción inflamatoria de las células de los islotes pancreáticos. (Kiessling et al., 2014)

Aunque como hemos visto las diversas técnicas de imagen junto con los AC han permitido diagnosticar una gran cantidad de patologías de manera mínimamente invasiva, todas estas técnicas de imagen presentan limitaciones: la MRI proporciona una buena resolución espacial de los tejidos blandos pero posee baja sensibilidad; la TC proporciona imágenes estructurales excelentes pero poca información funcional; la PET permite una evaluación cuantitativa de los procesos funcionales, pero debería mejorarse su resolución espacial, etc... Es por esto que surge el concepto de las denominadas imágenes multimodales, donde se combinan dos o más técnicas de imagen para adquirir de manera simultánea informaciones diferentes que proporcionen diagnósticos más precisos y detallados (Rosen et al., 2011). La selección racional de modalidades de imágenes para imágenes multimodales es muy importante, se deben seleccionar con el objetivo de compensar los puntos débiles de cada modalidad para maximizar el efecto sinérgico. Esta es la razón por la que las modalidades de imagen con alta sensibilidad (PET, óptica, etc...) se combinan frecuentemente con otras modalidades de imagen con alta resolución

espacial (MR, TC, etc...). Este hecho presentaría una nueva preocupación, esta vez por la sensibilidad diferente de cada modalidad. Por ejemplo, los AC para PET pueden usarse en concentraciones extremadamente bajas, mientras que los agentes RM y TC necesitan concentraciones relativamente elevadas (Lee et al., 2012).

4.2.2. Tratamiento

El uso de NPs para el tratamiento de diferentes patologías, es una de las aplicaciones más exitosas de las NPs, ya que estas pueden solucionar problemas frecuentes asociados con la solubilidad, biodisponibilidad, inmunocompatibilidad y citotoxicidad, presentes en los medicamentos de uso tradicional. Las NPs frecuentemente ejercen funciones como: mejorar la solubilidad y biodisponibilidad de fármacos poco solubles, actuar como vehículos de administración de fármacos para lograr mayor persistencia circulatoria o una liberación controlada, así como una liberación dirigida hacia tejidos o células diana. Por tanto, la focalización específica de las NPs, supone que un gran número de fármacos han mejorado su función terapéutica, reduciendo las dosis necesarias y las reacciones adversas debidas a su administración (Oropesa-Nuñez y Jáuregui-Haza, 2012; Zazo et al., 2016).

Son numerosos los tipos de NPs empleados en diversos tratamientos, pero los más comunes debido a las ventajas que aportan en dicha tarea son los siguientes (Oropesa-Nuñez y Jáuregui-Haza, 2012):

- **Liposomas:** los liposomas han demostrado ser útiles en la entrega de fármacos utilizando el contacto facilitado, que consiste en la unión o interacción con la membrana de la célula diana; esto permite un mayor contacto lípido-lípido, acelerando por tanto el flujo de fármacos lipofílicos que pueden ser idealmente encapsulados en el interior de la bicapa fosfolipídica que contienen estas NPs en su estructura. Además, también pueden contener en su interior fármacos hidrofílicos y anfifílicos.

Poseen un amplio espectro de utilidad ya que es posible su aplicación por vías intravenosa, oral o cutánea.

A pesar de presentar métodos de fabricación bien establecidos, los principales problemas que limitan la producción y el desarrollo de liposomas son su estabilidad, pobre reproducibilidad de lote a lote y dificultades en su esterilización.

Doxil® es un ejemplo de fármaco elaborado con liposomas, empleado de forma rutinaria en la clínica antineoplásica, ya que se emplea para tratar el sarcoma de Kaposi relacionado con SIDA, cáncer de mama, ovárico y otros tumores sólidos (Thornton et al., 2013; Kiessling et al., 2014; Romeo et al., 2018).

- **Micelas:** se trata de NPs utilizadas como solubilizantes en las formulaciones farmacéuticas. Pueden circular durante largos periodos de tiempo en sangre, evadiendo el sistema inmunológico del paciente, ventaja que se considera a la hora de formular fármacos de liberación gradual. Otra de las ventajas que este hecho aporta es que las micelas no sufren acumulación a largo plazo por lo que se evitará el efecto de toxicidad que ocasionaría esto.
- **Dendrimeros:** los dendrimeros poseen múltiples grupos funcionales en su superficie, lo que hace que sean ideales como transportadores de fármacos.
- **NPs poliméricas:** este tipo de NPs se encuentra entre las nanoformulaciones más comunes. Una de sus principales ventajas es que se puede preparar para llevar a cabo una liberación controlada del fármaco que transporta, además de que como muchas otras NPs puede ser modificada para llevar a cabo la administración dirigida de activos.
El quitosano es la sustancia más comúnmente utilizada debido a sus propiedades mucoadhesivas y antimicrobianas y a la facilidad con la que puede modificarse químicamente.
- **Nanotubos de carbono:** estas NPs de carbono actúan como excipientes en formulaciones farmacéuticas siendo de gran interés dada su capacidad para interactuar con macromoléculas, tales como las proteínas y el ADN, no obstante, poco se sabe acerca de la toxicidad de los nanotubos de carbono.
Los nanotubos de carbono presentan varias maneras de integrar los fármacos: la primera de estas es atrapar los activos en el interior de la malla, la segunda consiste en la funcionalización de las paredes por parte del compuesto de interés.
- **NPs metálicas:** las NPs metálicas como las de oro, plata, hierro, cobre, etc... pueden transportar grandes cantidades de fármaco. Son muy útiles para tratar enfermedades cuyo objetivo es el sistema reticuloendotelial (RES). Sin embargo, presentan problemas de agregación, metabolización y acumulación.

Una distribución específica de las NPs puede ser llevada a cabo de dos formas diferentes: orientación activa y orientación pasiva (Zazo et al., 2016).

- **Orientación activa:** esta estrategia está basada en el uso de ligandos específicos colocados en la superficie de las NPs para mejorar el reconocimiento de las mismas por parte de las células diana; por tanto, este ligando será seleccionado en función de su estabilidad y selectividad con respecto a las células objetivo.
- **Orientación pasiva:** esta estrategia por su parte está relacionada con la capacidad inherente de las células fagocíticas cuando reconocen sustancias extrañas en el organismo. Aunque puede darse fagocitosis, macropinocitosis o endocitosis, la más común debido al tamaño de las NPs es esta última. Otra estrategia de orientación pasiva es la propiciada por la mayor permeabilidad de los capilares de tejidos cancerosos.

La liberación del medicamento tendrá lugar gracias a un estímulo determinado, que puede ser tanto interno (pH del medio, fuerza iónica, presencia de moléculas específicas, etc...) como externo (presencia de electricidad, campos magnéticos, ultrasonidos, etc...).

Actualmente, la oncología es el área principal de las aplicaciones terapéuticas de las NPs; el segundo área corresponde a las enfermedades infecciosas, aunque también se están llevando a cabo investigaciones en otras áreas terapéuticas, como enfermedades del SNC, enfermedades cardiovasculares, patologías oculares como el glioma y la enfermedad del Alzheimer, entre otros (Kaur y Kakka, 2014; Lauzon et al., 2015).

Aunque como hemos mencionado, el campo de la oncología es aquel en el que más aplicaciones terapéuticas se han realizado mediante el uso de NPs, lo abordaremos más adelante en el apartado referido a teragnosis ya que es la patología más común en esta área.

4.2.2.1 NPs para el tratamiento de enfermedades infecciosas

Las infecciones han sido tratadas sin problemas durante décadas, sin embargo, se considera uno de los mayores problemas sanitarios actuales la aparición de cepas de microorganismos que han logrado hacerse resistentes a los tratamientos convencionales a través de múltiples mecanismos. Según la definición de la OMS, una cepa se considera resistente cuando ya no responde a los tratamientos estándares y, por lo tanto, la infección es muy difícil de tratar y de detener su propagación. Uno de los mecanismos considerados de mayor relevancia es el hecho de que muchos de los patógenos que causan estas enfermedades infecciosas, han aumentado su ciclo de vida intracelular, lo que dificulta el acceso de los medicamentos antiinfecciosos hasta

ellos, ya que la mayoría de fármacos permanecen en el espacio extracelular o una vez dentro de la célula no están en concentración suficiente para tener efecto terapéutico o son rápidamente degradados; todos estos problemas pueden ser solucionados con el uso de NPs.

A continuación se detallan algunas de las infecciones más comunes en las cuales son útiles las NPs por diferentes cuestiones (Zazo et al., 2016).

- **Infecciones óseas:** la osteomielitis es una enfermedad infecciosa que causa el deterioro de los huesos. Comúnmente es causada por *Staphylococcus aureus*, que se adhiere y penetra en los osteoblastos. El uso por tanto de NPs en este caso, facilita la penetración de antibióticos como la nafcilina, la vancomicina y la daptomicina a través de la membrana de los osteoblastos garantizando una mejor administración intracelular de los mismos. Además, el uso de alendronato o calcio como ligandos específicos unidos a la superficie de la NP favorece el proceso, ya que presentan una alta afinidad por el tejido óseo.

- **Infecciones pulmonares:** enfermedades como la fibrosis quística (causada por *Pseudomonas aeruginosa*) y la tuberculosis están aumentando el número de infectados debido a sus cepas resistentes.

Para dirigir fármacos hacia los pulmones, la inhalación es la ruta más efectiva. La eficacia de los fármacos administrados por esta vía dependerá no solo de las características de la formulación del mismo, sino también del paciente; la técnica de inhalación y la capacidad de flujo de aire (limitada normalmente en patologías obstructivas y restrictivas), son muy importantes.

Debido al pequeño tamaño de las NPs, estas podrían ser exhaladas durante la administración de las mismas, por lo que para resolver esta cuestión se han fabricado microagregados de NPs para principios activos como vancomicina, ciprofloxacina y rifampicina entre otros. Además, una estrategia que debe tenerse en cuenta a la hora de administrar agentes terapéuticos mediante inhalación, es poder evitar el aclaramiento mucociliar de las vías respiratorias, hecho que se podrá lograr con la adición de NPs mucoadhesivas (como las elaboradas a partir del quitosano).

- **Infecciones gástricas:** *Helicobacter pylori* es la causante de la infección más importante del tracto gastrointestinal, de ahí la gran importancia de elaborar una terapéutica efectiva para lograr su erradicación (Wang et al., 2014). El problema que encuentran los tratamientos tradicionales es cruzar la superficie gástrica para llegar a la bacteria; el uso de NPs como portadoras de fármacos ayuda a evitar este problema.

Serán de gran utilidad NPs con propiedades mucoadhesivas, ya que interactúan con la mucina y se infiltran mejor en los espacios intercelulares donde reside la infección.

Otro de los problemas que presenta combatir la infección por *H.pylori*, son las dos formas que puede adoptar la bacteria (coco y espiral), para las cuales se han diseñado liposomas linoleicos que han demostrado ser efectivos ante ambas e incluso en cepas resistentes al metronidazol.

El tratamiento convencional para *Helicobacter pylori* consiste en el uso concomitante de un inhibidor de la bomba de protones con claritromicina y amoxicilina (Yang et al., 2014), por lo que otra ventaja de las NPs a utilizar en este caso, sería la posibilidad de incorporar estos tres principios activos en una sola formulación (Zazo et al., 2016).

- **Otras infecciones:** algunos tipos de NPs, en su mayoría metálicas, han demostrado presentar un amplio espectro antimicrobiano (bacterias Gram +, Gram - y resistentes), en estudios tanto in vitro como in vivo (Ge et al., 2014).

Las más estudiadas son las NPs de plata (AgNPs). Estas AgNPs se unen a las células infectadas aumentando la porosidad de las mismas, liberan iones de plata en su interior que generan radicales libres y aumentan el nivel de especies reactivas de oxígeno (ROS). Todo esto inhibe las enzimas respiratorias, provoca inflamación y finalmente conduce a la apoptosis de la célula. Además de poseer una actividad antibiótica, al inhibir la unión con la célula huésped o destruyendo la membrana viral, han demostrado funcionar como antivirales para poxvirus, virus de herpes simple, virus de la gripe, rotavirus, virus de la hepatitis B (VHB) y virus de inmunodeficiencia humana (VIH), entre otros (Rai et al., 2016).

Se ha demostrado también que algunas combinaciones de NPs con fármacos como NPs de PLGA con ciprofloxacina, son capaces de cruzar y eliminar biopelículas o biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* en un 80% (Zazo et al., 2016).

Principios activos como aciclovir, lamivudina o anfotericina B, han demostrado reducir sus problemas hematológicos y nefrotóxicos al acoplarse a NPs orgánicas (Italia et al., 2009; Mishra et al., 2014; Ribeiro et al., 2014).

Los antivirales, antifúngicos y antiparasitarios también han demostrado beneficiarse de la relación de protección que le ofrecen las NPs al poder aumentar incluso más de dos veces su vida media debido a este hecho (Zazo et al., 2016).

4.2.2.2 NPs para el tratamiento del Parkinson

Las NPs poliméricas han demostrado potencial como tratamientos alternativos para la enfermedad del Parkinson, ya sea como nuevos tratamientos o aportando mejoras a los tratamientos convencionales reduciendo sus inconvenientes.

Existen estudios que demuestran que la administración sobre ratones lesionados con 6-hidroxi dopamina de NPs de PLGA (poliéster de ácido láctico y glicólico) cargadas con dopamina, alcanzan el tejido diana y alivian los síntomas tanto motores como no motores de la enfermedad. Estas NPs demostraron también aumentar considerablemente la semivida de la dopamina sin alcanzar los niveles neurotóxicos asociados a las altas concentraciones de dopamina en el SNC que presenta la terapia convencional con L-DOPA (Pahuja et al., 2015).

Otra estrategia que ha sido estudiada para el tratamiento del Parkinson se basa en administrar microARN-124 (MiR-124) con la ayuda de NPs de PLGA, ya que esta molécula por sí sola es inestable e incapaz de acceder al SNC.

La importancia terapéutica de esta molécula reside en su implicación en la regulación de la traducción de numerosos genes y en la diferenciación de células madre neuronales. Partiendo del conocimiento de que MiR-124 está infraexpresada hasta en un 25% en los enfermos que sufren esta patología, se administraron estas NPs por vía intracraneal a ratones tratados con 6-hidroxi dopamina. Tras dos semanas se observó recuperación parcial de los ratones tratados frente a los no tratados mediante la realización de un test de rotación.

A las cuatro semanas, se realizó un ensayo histológico que permitió observar como las NPs incrementaron la migración de nuevas neuronas hacia las zonas lesionadas (Saraiva et al., 2016).

A pesar de que las nuevas opciones terapéuticas que presentan el uso de NPs para tratar la enfermedad del Parkinson únicamente han sido probadas en animales de experimentación, a falta de realizar ensayos clínicos, los resultados aparentemente se muestran prometedores.

4.2.3 Teragnosis

Se entiende como teragnosis el revolucionario concepto de unir diagnóstico y tratamiento simultáneamente para su uso en patologías de elevada morbi-mortalidad como es el caso del cáncer. Se basa por tanto en la creación de agentes teragnósticos basados en NPs que combinan el poder de vehiculización de fármacos para una actividad terapéutica eficiente (antitumoral en la mayor parte de los casos) y su utilidad como AC en MRI.

Las NPs multifuncionales teragnósticas, poseerían las ventajas comunes de las NPs como transportadores de fármacos habituales (protegen al fármaco de la degradación, minimizan los efectos secundarios, aumentan la absorción del fármaco, mejoran la penetración y distribución intracelular, optimizan el cumplimiento terapéutico del paciente y su calidad de vida mediante la posibilidad de una liberación controlada, etc...), pero además contarían con la posibilidad de realización de un diagnóstico in vivo que permita guiar el fármaco hasta el lugar de acción y monitorizar dónde se produce la acumulación del mismo..

El área oncológica es una de las cuáles en las que la teragnosis podría ser de gran utilidad, ya que la enfermedad del cáncer evoluciona en respuesta a la terapia aplicada, por lo que es vital conocer la respuesta del paciente a la misma; por tanto, un análisis continuo del transporte del fármaco y de su efecto sería ideal para poder realizar ajustes que conllevaran a reconducir la estrategia a seguir en caso de que no estuviese funcionando la terapia actual (Sáez-Fernández et al., 2010).

Son numerosas las investigaciones y los estudios realizados con NPs (tanto orgánicas como inorgánicas) ejerciendo como agentes teragnósticos, ejemplo de ello es el estudio que se presenta a continuación.

Este estudio realizado por Kim et al., basa su investigación en la formulación de NPs de quitosano (CNP) aprovechando las cualidades que aporta esta molécula, como su estabilidad en el suero sanguíneo, su flexibilidad y la captación rápida que presenta por parte de células tumorales, cualidades que servirán para aumentar la especificidad antitumoral disminuyendo así la captación por parte de los tejidos sanos del paciente.

Para suministrar el poder terapéutico a estas NPs, fueron cargadas con paclitaxel (PTX), fármaco antineoplásico, para formar PTX-CNPs (figura 8).

Además, para dotarlas de habilidad diagnóstica, fueron marcadas con Cy5.5, un colorante fluorescente de infrarrojo cercano (NIRF), a base de cianina.

Finalmente estas NPs poseían un tamaño de 260 nm aproximadamente.

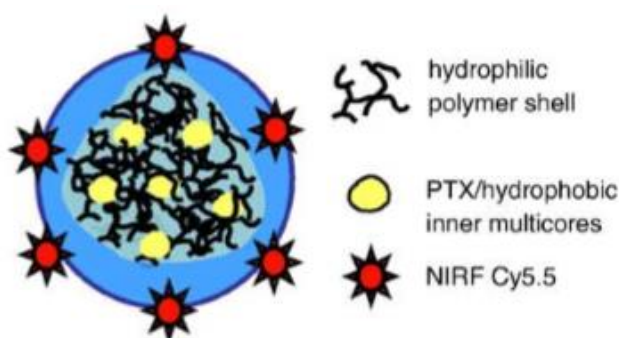


Figura 8. NPs de quitosano cargadas con paclitaxel y marcadas con colorante fluorescente para NIRF (Kim et al, 2010).

Curiosamente, a pesar de su tamaño mayor de 200 nm (tamaño ideal para NPs diagnósticas y terapéuticas), más del 95% de estas CNPs consiguieron pasar fácilmente a través de un filtro de membrana de 0.2µm, esto es debido a la capacidad de deformación que poseen las CNPs.

Para comprobar que las CNPs realmente podían ser dirigidas específicamente a los tumores in vivo, se emplearon ratones (atímicos desnudos) vivos, a los que se les inoculó pectoral y dorsalmente células de carcinoma escamoso (causantes de uno de los cánceres de piel más importantes). Tras ocho días de la inoculación, los ratones habían desarrollado tumores con vasos angiogénicos alrededor de sus regiones periféricas (distintivo de tumores en etapas tempranas).

Para proceder a la visualización de dichos tumores se administraron CNPs marcadas con Cy5.5 por vía intravenosa en la vena de la cola. Tras la inyección, los tumores se delinearon claramente del tejido normal circundante (figura 9). La señal NIRF que se observó, fue proporcional al tamaño del tumor.

Las imágenes de la figura 9, además de revelar que sí que era cierto que las CNPs se acumulaban en el tejido tumoral, demostraron que con el paso del tiempo (una hora, doce horas, un día y tres días), la intensidad NIRF se mantuvo en los ratones tratados con CNPs marcadas con Cy5.5 hasta 3 días, mientras que aquellos tratados únicamente con Cy5.5 o polímeros de glicol quitosano (GC) disminuyeron la señal mostrada pasado un día.

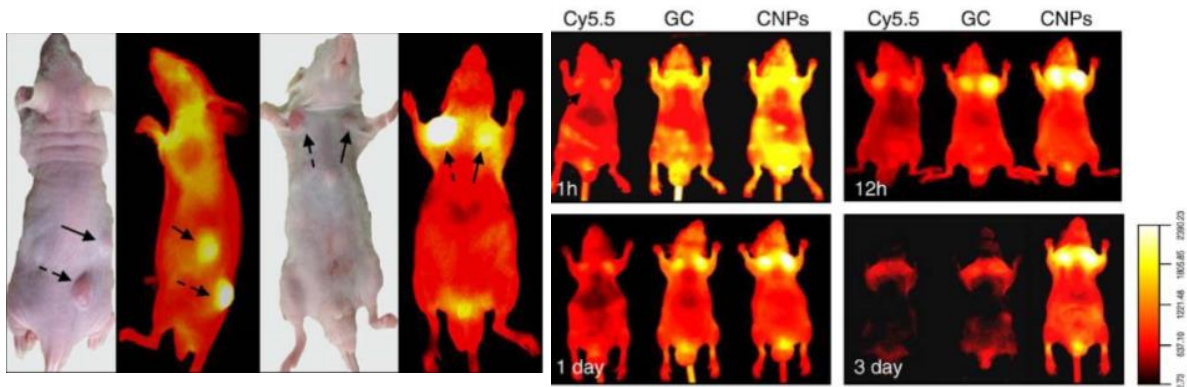


Figura 9. Intensidad de la señal fluorescente aumentada en las masas tumorales de los ratones (flechas) y la disminución de la misma con el paso del tiempo (Kim et al., 2010).

Para comprobar si al agregar un fármaco antitumoral este era de mayor eficacia, se realizaron cuatro grupos de análisis: tratados con solución salina, tratados con CNPs vacías, tratados con PTX libre y tratados con PTX-CNPs.

A todos ellos se les administraron inyecciones de las correspondientes sustancias cada tres días durante un total de dieciocho. Cuando el crecimiento tumoral se controló durante un período de dieciocho días, se examinó la eficacia terapéutica midiendo el volumen tumoral. Los resultados demostraron que la administración de PTX libre y de PTX-CNPs disminuyeron significativamente el crecimiento tumoral en comparación con los grupos control (solución salina y CNPs vacías).

Los grupos presentaron los siguientes volúmenes tumorales (figura 10):

1. Solución salina: 8000 mm³
2. CNPs vacías: 7900 mm³
3. PTX libre: 2400 mm³
4. PTX-CNPs: 1000 mm³



Figura 10. Masas tumorales presentadas tras 18 días de administración de las soluciones control y estudiadas (Kim et al., 2010).

Estos resultados sugieren que PTX-CNPs podrían haber mejorado la eficacia antineoplásica debido a una mayor especificidad tumoral, que ha producido un aumento de la concentración del fármaco terapéutico en los tejidos tumorales (Kim et al., 2010).

5. Conclusiones

A pesar de que existen numerosos estudios sobre NPs y las ventajas que las mismas pueden suponer para el ámbito sanitario, la mayor parte de estos estudios son de carácter in vitro, por lo que sería necesaria la investigación y el desarrollo de un mayor número de estudios in vivo.

Uno de los principales problemas que encuentra el uso clínico de NPs es la biocompatibilidad, debido a la toxicidad que generan en el organismo algunas formulaciones de NPs, en su mayoría de carácter inorgánico.

El uso de NPs como AC para su uso en el diagnóstico por imagen, aporta un aumento de contraste y por tanto una mejor visibilidad en aquellas imágenes dirigidas a órganos o tejidos con elevada población de macrófagos.

Es en oncología donde tienen actualmente mayor utilidad terapéutica las nanoformulaciones, a pesar de que cada vez se realizan mayor número de investigaciones en otros campos.

Aunque existen formulaciones basadas en NPs en el mercado como Doxil®, Abraxane® o Endorem® con uso en clínica, son escasas.

La teragnosis es una de las más recientes aplicaciones médicas de las NPs. A pesar de ser necesaria la ampliación de conocimientos sobre este campo debido al escaso tiempo que lleva siendo investigado, se plantea como solución útil para diagnóstico y tratamiento simultáneo de enfermedades de elevada morbi-mortalidad en un futuro.

6. Bibliografía

1. Bawarski WE, Chidlow E, Bharali DJ, Mousa SA. Emerging nanopharmaceuticals. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med* [Internet]. 2008;4(4):273–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2008.06.002>.
2. Bhatia S. Natural polymer drug delivery systems: Nanoparticles, plants, and algae. *Natural Polymer Drug Delivery Systems: Nanoparticles, Plants, and Algae*. 2016.
3. De M, Ghosh PS, Rotello VM. Applications of Nanoparticles in Biology. *Adv Mater* [Internet]. 2008;20(22):4225–41. Available from: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.200703183/abstract%0Ahttp://files/222/De i in. - 2008 - Applications of Nanoparticles in Biology.pdf%0Ahttp://files/223/abstract.html](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.200703183/abstract%0Ahttp://files/222/De%20i%20in%202008%20-%20Applications%20of%20Nanoparticles%20in%20Biology.pdf%0Ahttp://files/223/abstract.html).
4. Dowling A, Clift R, Grobert N, Hutton D, Oliver R, O’neill O, et al. Nanoscience and nanotechnologies : opportunities and uncertainties. *London R Soc R Acad Eng Rep* [Internet]. 2004;46(July):618–618. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Nanoscience+and+nanotechnologies+:+opportunities+and+uncertainties#0>.
5. E. Rosen J, Yoffe S, Meerasa A. Nanotechnology and Diagnostic Imaging: New Advances in Contrast Agent Technology. *J Nanomed Nanotechnol* [Internet]. 2011;02(05). Available from: <https://www.omicsonline.org/nanotechnology-and-diagnostic-imaging-new-advances-in-contrast-agent-technology-2157-7439.1000115.php?aid=2095>.
6. Faraday M. The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. *Philos Trans R Soc London* [Internet]. 1857;147(0):145–81. Available from: <http://rstl.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rstl.1857.0011>.
7. Feynman RP. There ’ s Plenty of Room at the Bottom - Republish of 1959 Speech. *J Microeleciromechanical Syst*. 1992;1(1):60–6.

8. Gaucher G, Dufresne MH, Sant VP, Kang N, Maysinger D, Leroux JC. Block copolymer micelles: Preparation, characterization and application in drug delivery. *J Control Release*. 2005;109(1–3):169–88.
9. Ge L, Li Q, Wang M, Ouyang J, Li X, Xing MMQ. Nanosilver particles in medical applications: Synthesis, performance, and toxicity. *Int J Nanomedicine*. 2014;9(1):2399–407.
10. Iravani S. Bacteria in Nanoparticle Synthesis: Current Status and Future Prospects. *Int Sch Res Not [Internet]*. 2014;2014:1–18. Available from: <https://www.hindawi.com/archive/2014/359316/>.
11. Italia JL, Yahya MM, Singh D, Ravi Kumar MNV. Biodegradable nanoparticles improve oral bioavailability of amphotericin B and show reduced nephrotoxicity compared to intravenous fungizone®. *Pharm Res*. 2009;26(6):1324–31.
12. Kaur IP, Kakkar S. Nanotherapy for posterior eye diseases. *J Control Release [Internet]*. 2014;193:100–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.05.031>.
13. Khan FA. *Biotechnology Fundamentals*. CRC Press. 2011;598.
14. Khan I, Saeed K, Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab J Chem [Internet]*. 2017; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.
15. Kiessling F, Mertens ME, Grimm J, Lammers T. Nanoparticles for Imaging: Top or Flop? *Radiology [Internet]*. 2014;273(1):10–28. Available from: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.14131520>.
16. Kim K, Kim JH, Park H, Kim YS, Park K, Nam H, et al. Tumor-homing multifunctional nanoparticles for cancer theragnosis: Simultaneous diagnosis, drug delivery, and therapeutic monitoring. *J Control Release [Internet]*. 2010;146(2):219–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.04.004>.
17. Lauzon MA, Daviau A, Marcos B, Faucheux N. Nanoparticle-mediated growth factor delivery systems: A new way to treat Alzheimer’s disease. *J Control Release [Internet]*. 2015;206:187–205. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.03.024>.

18. Lee DE, Koo H, Sun IC, Ryu JH, Kim K, Kwon IC. Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis. *Chem Soc Rev.* 2012;41(7):2656–72.
19. Lim EK, Jang E, Lee K, Haam S, Huh YM. Delivery of cancer therapeutics using nanotechnology. *Pharmaceutics.* 2013;5(2):294–317.
20. Luísa A, Cartaxo P. Nanoparticles types and properties – understanding these promising devices in the biomedical area. 2016;1–8.
21. Lungu M, Neculae A, Bunoiu M, Biris C. Nanoparticles’ promises and risks: Characterization, manipulation, and potential hazards to humanity and the environment. *Nanoparticles’ Promises Risks Charact Manip Potential Hazards to Humanit Environ.* 2015;(January 2015):1–355.
22. Ma YY, Jin KT, Wang SB, Wang HJ, Tong XM, Huang DS, et al. Molecular imaging of cancer with nanoparticle-based theranostic probes. *Contrast Media Mol Imaging.* 2017;2017.
23. McNeil SE. Nanotechnology for the biologist. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2005;78(3):585–94. Available from: <http://www.jleukbio.org/cgi/doi/10.1189/jlb.0205074>.
24. Mishra D, Jain N, Rajoriya V, Jain AK. Glycyrrhizin conjugated chitosan nanoparticles for hepatocyte-targeted delivery of lamivudine. *J Pharm Pharmacol.* 2014;66(8):1082–93.
25. Mohammad NS. Understanding quantum confinement in nanowires: Basics, applications and possible laws. *J Phys Condens Matter.* 2014;26(42).
26. Oropesa-nu R, Italiano I. Las nanopartículas como portadores de fármacos : características y perspectivas Nanoparticles as drug carriers : characteristics and perspectives Las nanopartículas como portadores de fármacos : características y perspectivas Nanoparticles as drug carrier. 2012;43(August 2016).
27. Rai M, Deshmukh SD, Ingle AP, Gupta IR, Galdiero M, Galdiero S. Metal nanoparticles: The protective nanoshield against virus infection. *Crit Rev Microbiol.* 2016;42(1):46–56.

28. Ribeiro TG, Franca JR, Fuscaldi LL, Santos ML, Duarte MC, Lage PS, et al. An optimized nanoparticle delivery system based on chitosan and chondroitin sulfate molecules reduces the toxicity of amphotericin B and is effective in treating tegumentary leishmaniasis. *Int J Nanomedicine*. 2014;9:5341–53.
29. Romeo C, Joly F, Ray-Coquard I, El Kouri C, Mercier-Blas A, Berton-Rigaud D, et al. Non-pegylated liposomal doxorubicin (NPLD, Myocet®) + carboplatin in patients with platinum sensitive ovarian cancers: A ARCAGY-GINECO phase IB-II trial. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2018;(xxxx). Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090825818313581>.
30. Sáez-Fernández E, B P-A, Gi M-S, Gallardo V, JI A. ARTÍCULO ORIGINAL Teragnosis: un nuevo concepto en el tratamiento del cáncer Theragnosis: a new concept in cancer treatment. *Ars PharmSuplemento* [Internet]. 2010;51(3):177–81. Available from: <http://farmacia.ugr.es/ars/>.
31. Saraiva C, Paiva J, Santos T, Ferreira L, Bernardino L. MicroRNA-124 loaded nanoparticles enhance brain repair in Parkinson's disease. *J Control Release* [Internet]. 2016;235:291–305. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.005>.
32. Shin W-K, Cho J, Kannan AG, Lee Y-S, Kim D-W. Cross-linked Composite Gel Polymer Electrolyte using Mesoporous Methacrylate-Functionalized SiO₂ Nanoparticles for Lithium-Ion Polymer Batteries. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6(1):26332. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep26332>.
33. Singh P, Kim YJ, Zhang D, Yang DC. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends Biotechnol* [Internet]. 2016;34(7):588–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.02.006>.
34. Sutherland LF and D. *Nanotechnologies: Principles, Applications, Implications and Hands-on Activities*. European Commission. 2012.
35. Thornton KA, Chen AR, Trucco MM, Shah P, Wilky BA, Gul N, et al. A dose-finding study of temsirolimus and liposomal doxorubicin for patients with recurrent and refractory bone and soft tissue sarcoma. *Int J Cancer* [Internet]. 2013;133(4):997–1005. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13569-018-0107-9>.

36. Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. Helicobacter pylori-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett* [Internet]. 2014;345(2):196–202. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2013.08.016>.
37. Yang JC, Lu CW, Lin CJ. Treatment of Helicobacter pylori infection: Current status and future concepts. *World J Gastroenterol*. 2014;20(18):5283–93.
38. Yeh YC, Creran B, Rotello VM. Gold nanoparticles: Preparation, properties, and applications in bionanotechnology. *Nanoscale*. 2012;4(6):1871–80.
39. Zanella R. Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *WwwMundonanoUnamMx* [Internet]. 2012;5(1):69–81. Available from: www.mundonano.unam.mx.
40. Zazo H, Colino CI, Lanao JM. Current applications of nanoparticles in infectious diseases. *J Control Release* [Internet]. 2016;224:86–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.01.008>.