

COLECCIÓN PARANINFO  
PRIMA LECTIO



JESÚS SANTAMARÍA RAMIRO

# NANOMEDICINA: UNA VISIÓN DESDE EL DISEÑO DE NUEVOS MATERIALES

Jesús Santamaría Ramiro



NANOMEDICINA: UNA VISIÓN DESDE EL DISEÑO DE NUEVOS MATERIALES

STVDIVM  
GENERALE  
CAESARAV-  
GVSTANAE  
CIVITATIS



Universidad Zaragoza



Prensas de la Universidad  
Universidad Zaragoza

NANOMEDICINA:  
UNA VISIÓN DESDE EL DISEÑO  
DE NUEVOS MATERIALES

NANOMEDICINA:  
UNA VISIÓN DESDE EL DISEÑO  
DE NUEVOS MATERIALES

Jesús Santamaría Ramiro

PRENSAS DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

© Jesús Santamaría Ramiro

© De la presente edición, Prensas de la Universidad de Zaragoza  
1.ª edición, 2014

Prensas de la Universidad de Zaragoza  
Edificio de Ciencias Geológicas  
c/ Pedro Cerbuna, 12 • 50009 Zaragoza, España  
Tel.: 976 761 330. Fax: 976 761 063  
puz@unizar.es <http://puz.unizar.es>

Impreso en España

Imprime: Servicio de Publicaciones. Universidad de Zaragoza

ISBN: 978-84-16272-02-0

Depósito legal: Z 1310-2014



Las ideas no duran mucho. Hay que hacer algo con ellas.  
Santiago Ramón y Cajal



## INTRODUCCIÓN

El progreso en Medicina se nutre no solo de la investigación realizada por médicos, sino de las aportaciones realizadas desde otras ramas de la Ciencia, que a menudo se han traducido en avances espectaculares en el diagnóstico y terapia de numerosas enfermedades. La lista de ejemplos sería interminable, pero es probable que rápidamente nos vengán a la mente técnicas de diagnóstico como la ecografía Doppler, la tomografía axial computerizada o la resonancia magnética nuclear, así como el amplio arsenal terapéutico basado en tratamientos químicos y bioquímicos (pensemos en la quimioterapia en oncología, o en las terapias combinadas contra el SIDA) y las alternativas emergentes como la terapia génica y la ingeniería de tejidos. En realidad, existen pocos ejemplos de descubrimientos relevantes en Física, Química o Biología que no hayan tenido un impacto más o menos inmediato en Medicina.

Un campo tan novedoso como la Nanotecnología no podía quedar al margen de esta tendencia y de hecho ha tenido, casi desde su inicio, importantes implicaciones en el área de la salud, hasta el punto de originar una nueva subdisciplina: la Nanomedicina. El potencial de la Nano-

medicina es tal que, en opinión casi generalizada, se espera de ella que llegue a «producir una revolución en la forma en que los médicos diagnostican y tratan a sus pacientes y, en la mayoría de los casos, a rebajar de forma notable los costes sanitarios» [1]. A lo largo de este texto se exponen, de una manera sucinta por motivos de brevedad, algunas de las posibilidades que la Nanomedicina ofrece ya, u ofrecerá en un futuro muy cercano.

Dado el carácter divulgativo de esta lección, existe una primera parte dedicada a presentar aspectos generales de la Nanociencia y la Nanotecnología. Tras esta breve sección la exposición se centra en Nanomedicina, considerando sus tres vertientes principales: diagnóstico, medicina regenerativa y terapia nanoasistida, haciendo hincapié en ejemplos de nanomateriales que ya pueden usarse como herramientas en las tres áreas. Finalmente, se describe la terapia sin fármacos utilizando fenómenos de hipertermia mediados por nanopartículas, y se realizan unas breves consideraciones sobre posibles efectos tóxicos de los nanomateriales.

## **¿Qué es la Nanotecnología y por qué es importante?**

La definición convencional de Nanotecnología se recoge en la página web de la NNI (Iniciativa Nacional en Nanotecnología de los Estados Unidos) que la describe como «la ciencia, ingeniería y tecnología llevadas a cabo en la nanoescala, que a su vez se define entre 1 y 100 nanómetros» [2]. En realidad, esta puede considerarse una definición poco exigente, porque lo que de verdad interesa en Nanotecnología es que, precisamente por operar en esas dimensiones, aparezcan fenómenos nuevos, capaces de sustentar nuevas propiedades. Por eso, otros autores definen la Nanotecnología como «la explotación de la capaci-

dad para controlar la materia a dimensiones entre 0,1 y 100 nm, de forma que dé origen a funcionalidades únicas» [3]. Aunque consideramos a la Nanociencia una disciplina emergente, sus inicios se encuentran a mediados del siglo pasado. El crédito científico por haber desarrollado los primeros conceptos en Nanociencia y Nanotecnología suele atribuirse a Richard Feynman, quien en 1959 expuso en su famosa charla «There's Plenty of Room at the Bottom» algunas de las implicaciones que se derivaban de «manipular y controlar las cosas en una escala muy pequeña». En esa misma charla Feynman ofreció 1000 dólares de su propio bolsillo a quien consiguiese comprimir los 24 volúmenes de la *Enciclopedia Británica* en la cabeza de un alfiler, y vivió lo suficiente para ver realizada la «prueba de concepto» de la solución a su desafío por Tom Newman en 1985.

Se puede argumentar que los materiales a escala nanométrica siempre han estado presentes, y, efectivamente, son frecuentes las referencias a las nanopartículas que se hallaron al realizar un estudio de microscopía electrónica en los tejidos pulmonares del *Hombre del Hielo* encontrado en el Tirol, datado en el año 5300 a. C. [4], y en los nanomateriales presentes en las vidrieras de las catedrales medievales (nanopartículas metálicas) o en las espadas forjadas en Damasco (nanotubos de carbono) [5]. Sin embargo, estos materiales estaban presentes de forma accidental. Los artesanos vidrieros y los herreros fueron capaces de fabricar materiales con propiedades excepcionales y fijaron las recetas para reproducirlos, pero ignoraban el origen de esas propiedades. También se dice, con razón, que la nanofabricación de precisión extrema (átomo a átomo o molécula a molécula) es la forma habitual en que actúa la naturaleza. Pero de nuevo nos encontramos con que estos fenómenos, al igual que otros procesos espontáneos de autoensamblaje, escapan a nuestro control y no podemos

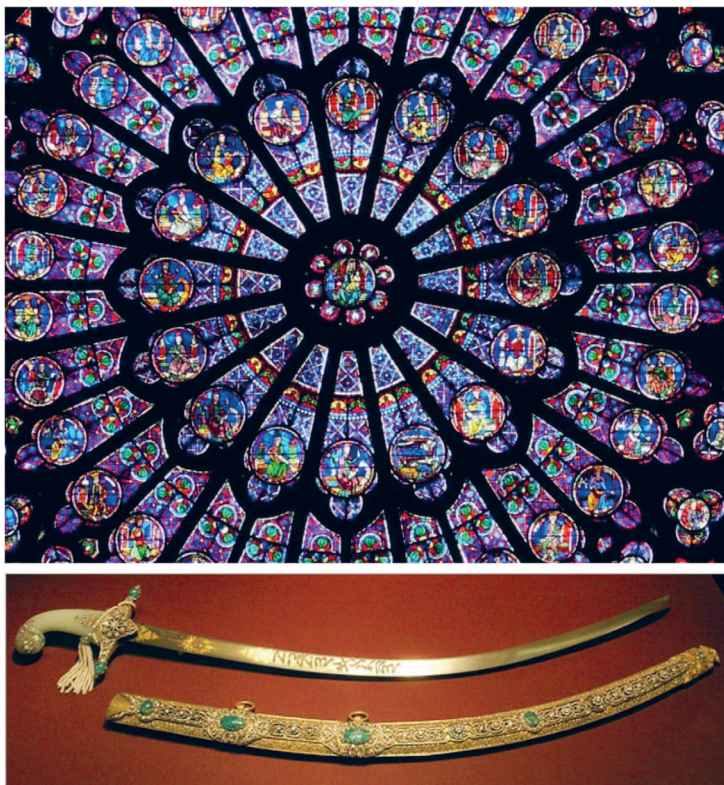


FIGURA 1. Dos elementos antiguos conteniendo nanomateriales. Imagen superior: rosetón norte de la catedral de Notre Dame de París. Imagen inferior: espada de Damasco.

modificarlos a nuestra conveniencia para alterar la estructura o las propiedades del material resultante.

La Nanotecnología en su concepción moderna, que implica tener la capacidad de diseñar nanomateriales para un fin determinado y de controlar los procesos de fabricación que permitan dotarles de las características deseadas (composición, tamaño, forma, características superficiales),

arranca en la década de los ochenta, con la invención del microscopio de efecto túnel (STM) por parte de Binnig y Rohrer, investigadores de IBM, lo que les valió el Premio Nobel de Física en 1986 [6]. Solo tres años más tarde, otro investigador de IBM, Don Eigler, demostró de forma espectacular las posibilidades de la nueva herramienta, utilizándola para escribir las letras «IBM» desplazando 35 átomos de xenón (figura 2). Otros hitos que han jalonado el desarrollo de la Nanotecnología han sido la aparición del microscopio de fuerza atómica (AFM), el extraordinario aumento en la resolución de los microscopios electrónicos de transmisión y el desarrollo de una plétora de métodos de fabricación de nanomateriales [7] propiciando un crecimiento casi exponencial en la disponibilidad de nanomateriales sintéticos y de sus correspondientes aplicaciones. Mención aparte merecen los nanotubos de carbono, cuyo descubrimiento generalmente se atribuye a Sumio Iijima en 1991 (aunque en la bibliografía existen precedentes de estructuras similares). Estos materiales de espectaculares propiedades (mecánicas, eléctricas, conductividad térmica) se aplican en múltiples campos, y constituyen el principal ejemplo de nanomaterial fabricado a gran escala, con varias compañías (Bayer, Arkema, CNano) propietarias de plantas capaces de producir cientos de toneladas al año de nanotubos de carbono de alta pureza.

Hoy en día la Nanotecnología está presente en una gran cantidad de productos que utilizamos cotidianamente, casi siempre sin ser conscientes de su contenido *nano*. El primer inventario de nanoprodutos se publicó en 2006 y contenía más de 300 productos de consumo [8]. El inventario de productos del Proyecto en Nanotecnologías Emergentes [9], que dista mucho de ser exhaustivo, contiene más de 1600 en categorías que van desde la cosmética y los utensilios de cocina hasta artículos depor-

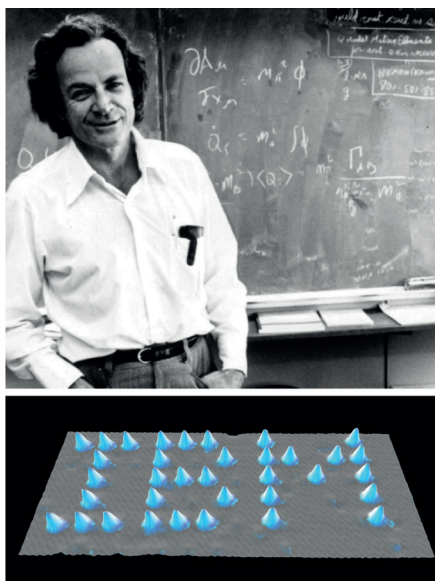


FIGURA 2. Hitos en el desarrollo de la Nanotecnología. Imagen superior: Richard Feynman, quien en 1959 pronunció la conferencia seminal «There's Plenty of Room at the Bottom». Imagen inferior: en 1989 científicos de IBM escribieron el logo de la compañía utilizando átomos.

tivos y alimentos. A la vista del número y diversidad de productos nanotecnológicos comerciales, no es de extrañar que su valor económico continúe creciendo. En un reciente estudio [10], los datos aportados por los analistas de Lux Research muestran un crecimiento intenso e ininterrumpido de los ingresos en el mercado de productos nanotecnológicos, desde los 339 000 millones de dólares en 2010 hasta más que duplicar esa cifra en 2012, cuando se alcanzaron los 731 000 millones. En el mismo informe se predice que los ingresos provenientes de productos nanotecnológicos alcanzarán un valor global superior a los 4 billones de dólares en 2018.



## LA NANOMEDICINA

Podemos definir la Nanomedicina como la aplicación de la Nanotecnología en el campo de la salud. Esta posibilidad ya estuvo presente desde los inicios de la Nanotecnología, y de hecho Feynman en su charla ya citada animaba a considerar, en relación con las células de los seres vivos, «la posibilidad de que podamos fabricar un objeto que maniobre a ese nivel», y llegó incluso a sugerir que «sería muy interesante en cirugía, poder tragar al cirujano», con el objeto de que viajara por la sangre inspeccionando y arreglando desperfectos [11].

La Nanomedicina intenta hacer realidad esta visión, aunque de una manera diferente a la imaginada por Feynman, utilizando características especiales de los nanomateriales que les confieren atributos de gran interés en Medicina. Así, propiedades generales como su tamaño nanométrico o su elevada relación superficie/volumen pueden usarse para facilitar su paso a través de membranas biológicas o para posibilitar su funcionalización con biomoléculas capaces de reconocer un marcador determinado, respectivamente. Pero, además, existen propiedades específicas como su comportamiento magnético, su conductividad eléctrica o su capacidad de interaccio-

nar con luz de una determinada longitud de onda, que pueden explotarse en escenarios médicos concretos. Unas y otras propiedades han provocado la irrupción acelerada de la Nanotecnología en el ámbito clínico: según Lehner y cols. [12], en septiembre de 2012 había 2283 nanoplataformas en ensayos clínicos, de los cuales aproximadamente un tercio estaban destinados a tratamientos oncológicos. Las cifras de negocio también son imponentes: de acuerdo con un reciente estudio [13] el mercado global de la Nanomedicina alcanzó los 63 800 millones de dólares en 2010, elevándose hasta los 72 800 millones en 2011. Se predice una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del 12,5%, lo que permitiría alcanzar un volumen de 130 900 millones de dólares en 2016. La contribución más importante corresponde a tratamientos oncológicos (28 000 millones en 2011), pero existen otras áreas en rápido crecimiento, como la de los productos destinados al sistema nervioso central, con 14 000 millones en 2011 y una predicción de CAGR del 16,1% para los próximos años, superior incluso a la elevada tasa de crecimiento prevista para la Nanomedicina en su conjunto.

La Nanomedicina es un campo emergente claramente multidisciplinar: integra, por supuesto, todas las ramas implicadas en Nanociencia, pero también la Biología Molecular y Celular, la Química (síntesis de nanomateriales y su funcionalización), la Física (fenómenos cuánticos) y la Ingeniería (diseño de dispositivos; procesos de transporte en la nanoescala), además, lógicamente, de la Medicina. La aportación de los profesionales médicos es especialmente importante, puesto que son ellos los que pueden definir los problemas a resolver y los escenarios de relevancia clínica, sentando así las bases del diseño funcional de los nanomateriales.

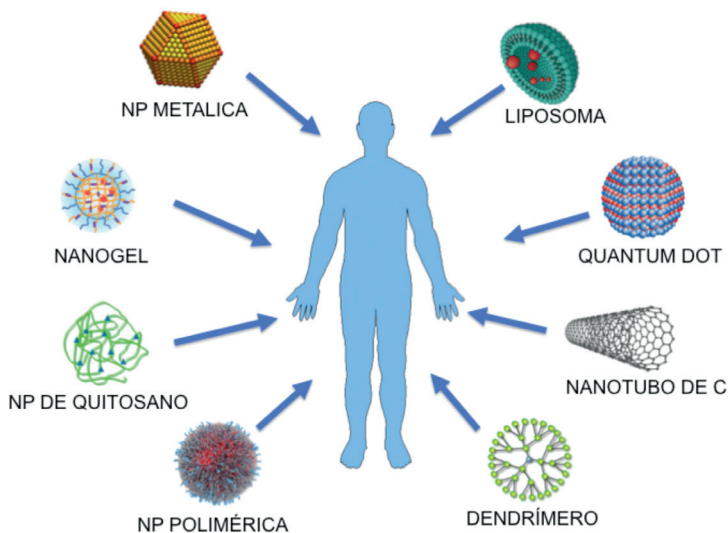


FIGURA 3. Representación esquemática de algunas plataformas nanoestructuradas en desarrollo preclínico (adaptado a partir de la ref. [12]). NP se ha utilizado como abreviatura de nanopartícula.

Europa, afortunadamente, tiene una posición destacada en el campo de la Nanomedicina, gracias a la inversión realizada tanto por los Gobiernos nacionales como a nivel europeo: dentro del VII Programa Marco (2007-2013) se financiaron 85 proyectos en el subprograma FP7-NMP y 31 proyectos en FP7-Health cuya temática versaba sobre aplicaciones nanotecnológicas en el ámbito sanitario, con una aportación europea total de 550 millones de euros [14]. A nivel empresarial también se constata la incorporación temprana de Europa al campo de la Nanomedicina: un estudio realizado en 2006 [15] asigna a Europa (EU-25) el 35% de las compañías operando en este ámbito, y un 37% de los productos comercializados. En algu-

nas áreas (diagnóstico *in vitro*, biomateriales e implantes activos), el liderazgo europeo era evidente en el momento de realizar el estudio, con más de la mitad de los productos en el mercado. Sin embargo, a pesar de esta buena situación inicial, parece probable que el predominio en Nanomedicina se decante del lado norteamericano en un futuro próximo, ya que los esfuerzos europeos en investigación palidecen al lado de los que se realizan en los Estados Unidos: solo en 2009, la inversión del NIH (Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos) en proyectos de Nanotecnología fue de 410 millones de dólares, a los que habría que sumar la financiación proveniente de otros organismos públicos como la National Science Foundation o el Departamento de Defensa. Las inversiones privadas, que no se conocen con precisión, se estiman mucho mayores que las europeas en este ámbito.

## DIAGNÓSTICO NANOASISTIDO

El objetivo primordial del diagnóstico médico es la detección temprana y fiable de enfermedades o de condiciones adversas que puedan llevar a una enfermedad. Un diagnóstico tardío, cuando los síntomas ya se han revelado y la enfermedad se ha desarrollado, puede impedir una acción terapéutica eficaz. Se pretende, por tanto, identificar una condición no deseada en el estadio más temprano posible, idealmente a nivel de una sola célula afectada [16]. En este aspecto, las herramientas de la Nanotecnología proporcionan una ventaja esencial, ya que las dimensiones de los nanoobjetos permiten una fuerte interacción con biomoléculas como enzimas, receptores y anticuerpos, tanto en la superficie como en el interior de las células.

Es habitual dividir las modalidades de diagnóstico en dos grupos: *in vitro* e *in vivo*. En la medicina tradicional, el diagnóstico *in vitro* típicamente se lleva a cabo mediante la extracción de una muestra del paciente (un fluido corporal, como saliva o sangre, o una muestra de tejido), que se envía para su análisis a un laboratorio clínico. El proceso puede llevar días o semanas, y conlleva riesgos ligados al posible deterioro o contaminación de la mues-

tra. Otros problemas por resolver tienen que ver con el coste, el tamaño de muestra requerido, la complejidad del análisis y los límites de detección de la instrumentación convencional. Lo que se espera de la Nanotecnología en este ámbito es un análisis altamente sensible y selectivo, que pueda llevarse a cabo en tiempo real, y que sea robusto, en el sentido de que sus resultados no se vean alterados por pequeñas diferencias debidas al operador o a los materiales utilizados. Existen otras ventajas importantes como el hecho de poder utilizar pequeñas cantidades de muestra (lo que resulta especialmente importante cuando se manejan cantidades de material muy escaso, como pueden ser muestras de ADN recogidas del ambiente), la mejora en la fiabilidad, al poder hacer múltiples análisis en un tiempo reducido (lo que ayudaría a eliminar falsos positivos), y la reducción de costes que implica el trabajar a pequeña escala con un proceso automatizado. En última instancia, se pretende poder llevar a cabo diagnósticos rápidos y altamente sensibles de forma descentralizada (*point of care diagnosis*), con una alta capacidad de procesado, lo que permitiría el análisis de múltiples pacientes (por ejemplo, con ocasión de una epidemia), o la obtención de múltiples parámetros en una muestra (por ejemplo, en el diagnóstico diferencial de distintas posibles condiciones en un solo paciente). Esto a su vez exige refinar el diseño de los nanomateriales que van a utilizarse en el diagnóstico para obtener vectores estables frente a su transporte y almacenamiento, de características (composición, forma, tamaño) controladas, y con un control preciso de su biofuncionalización.

Claramente se están dando pasos muy importantes en esa dirección, especialmente mediante el desarrollo de nuevos biosensores más sensibles y de *microarrays* (chips de ADN o proteínas). De forma general, un biosensor es

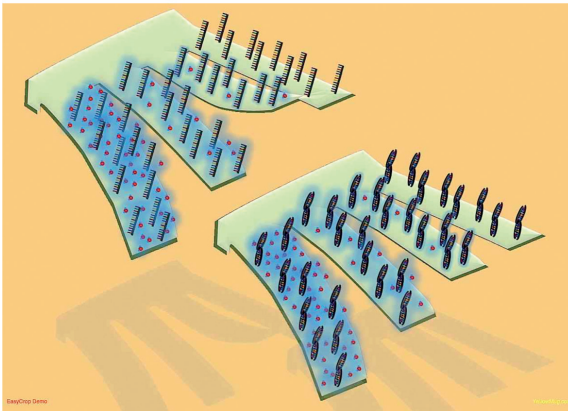
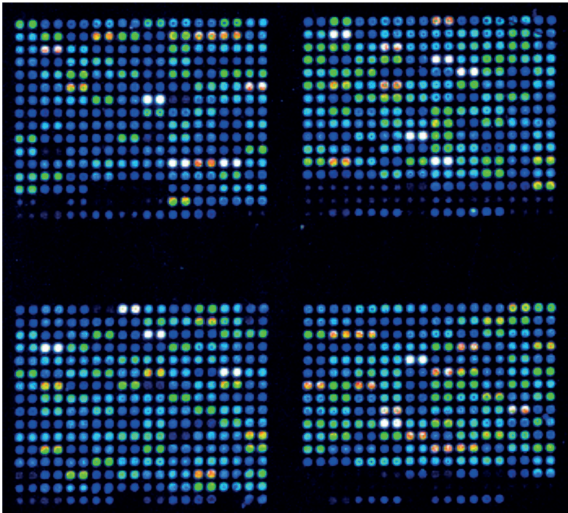


FIGURA 4. Dos ejemplos de biosensores para el análisis y detección de fragmentos de ADN. Imagen superior: microchip (<http://serc.carleton.edu/cismi/itl/bioinformatics/index.html>). Imagen inferior: microplacas funcionalizadas (del grupo de J. Tamayo, [www.icmm.csic.es/esisna](http://www.icmm.csic.es/esisna)).

un dispositivo capaz de reconocer un elemento biológico de interés (microorganismo, enzima, anticuerpo, fragmento de ADN...), a partir de un fenómeno físico o químico que depende de la presencia de dicha molécula. El sensor-transductor convierte el fenómeno en una señal cuantificable, que se relaciona con la concentración de la sustancia objetivo. Existe una amplia variedad de biosensores nanoestructurados [17]. Entre los desarrollos recientes cabe destacar los biosensores basados en micropalanca (*cantilevers*) funcionalizadas, los que utilizan nanopartículas, nanotubos de carbono o nanohilos de otros materiales, y los fundamentados en propiedades ópticas, como por ejemplo los que explotan el efecto SERS (*surface-enhanced Raman spectroscopy*). Estos sensores han demostrado su utilidad en numerosos escenarios que incluyen la detección y cuantificación de bacterias, hongos y virus, fragmentos de ADN y moléculas indicadoras de diabetes o de cáncer en aire exhalado o en orina.

Un *microarray* es una plataforma que contiene cientos o miles de sitios de detección, adecuadamente funcionalizados para reconocer un biomarcador de interés. Tras el reconocimiento se activa una señal (casi siempre de tipo fluorescente) que proporciona una indicación sí/no de la presencia del analito buscado. Aquí la aportación de la Nanotecnología consiste no solo en la reducción del área de detección para crear *microarrays* todavía más compactos, sino en la amplificación de la señal, generalmente utilizando nanopartículas metálicas o *quantum dots* (puntos cuánticos o QD de acuerdo con sus siglas en inglés) como etiquetas para obtener un extraordinario aumento en la sensibilidad del análisis. Se pueden combinar las propiedades de QD con varios niveles de intensidad y color para crear los llamados «nanocódigos de barras». Un



trabajo clásico en biocódigos de barras asociados a nanopartículas es el de Mirkin y cols. [18] que, además de las nanopartículas usadas como etiquetas, utilizaron las propiedades de micropartículas magnéticas para concentrar una muestra de antígeno prostático específico (PSA), obteniendo sensibilidades de detección de PSA un millón de veces superiores a las de los métodos convencionales.

Pero, sin duda, los resultados más espectaculares en cuanto a diagnóstico nanoasistido se están obteniendo en aplicaciones *in vivo*. Hoy en día técnicas avanzadas como la resonancia magnética de imagen (MRI) o la tomografía computerizada de rayos X (CT), se han convertido en procedimientos de rutina en los hospitales de los países desarrollados. Sin embargo, a pesar de los avances logrados, estas técnicas siguen teniendo problemas de resolución cuando lo que se persigue es visualizar estructuras anómalas de pequeñas dimensiones, como puede ser un tumor en sus etapas iniciales. Esto ha impulsado una investigación muy activa dirigida a poner a punto agentes de contraste que aumenten la resolución de la imagen. En este aspecto hay que destacar la incorporación reciente de una extensa gama de nanopartículas capaces de interactuar con la radiación incidente, aumentando la sensibilidad hasta lograr, en determinadas circunstancias, la detección de masas anómalas de dimensiones submilimétricas. Así, en MRI son comunes las investigaciones que utilizan nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas (SPION) o diversas composiciones con Gd, mientras que para CT se usan las basadas en oro o en  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  así como nanopartículas poliméricas o liposomas conteniendo compuestos de yodo [19].

La imagen óptica mediada por nanopartículas también constituye un área muy prometedora en el campo

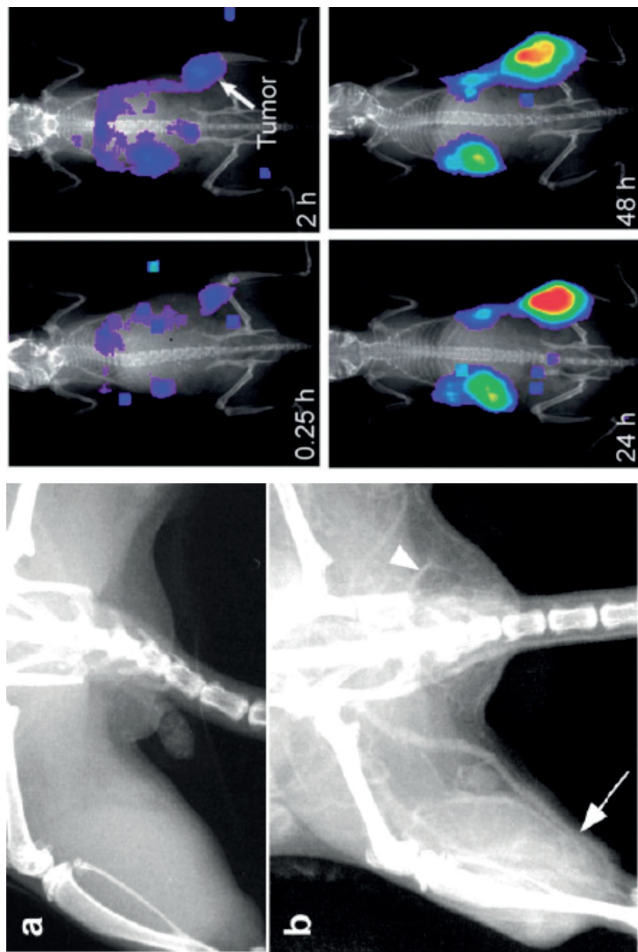


FIGURA 5. Ejemplos del aumento de resolución que puede obtenerse en imagen médica utilizando nanoestructuras de oro. Izquierda: imagen de tomografía computarizada mostrando la vasculatura de un ratón (relacionada en este caso con un crecimiento tumoral) antes (a) y dos minutos después (b) de la administración de nanopartículas de oro [60]. Derecha: bioluminescencia de tumores a distintos tiempos tras la inyección de nanocubos huecos de oro dopados con  $^{199}\text{Au}$  [61].

del diagnóstico *in vivo*. La principal desventaja a la hora de utilizar imagen óptica para visualizar regiones del interior del cuerpo humano es que los tejidos en el camino óptico absorben parte de la radiación incidente (usada para interrogar a los nanovectores), así como de la emitida en respuesta (que es la que proporciona la imagen útil del objetivo). Sin embargo, se sabe que la luz en el infrarrojo cercano puede penetrar los tejidos vivos más profundamente que la luz visible, ya que la sangre y los tejidos absorben menos luz en esta región del espectro. Nuevamente, los nanomateriales proporcionan una oportunidad excepcional, a la vista de, por un lado, su capacidad para penetrar en tejidos y células, permitiendo señalar las zonas de interés, y, por otro, de la posibilidad de diseñarlos para ajustar su emisión en la llamada *ventana del agua* (la zona del espectro infrarrojo cercano aproximadamente entre 650 y 950 nm donde la absorción por parte del agua, la hemoglobina y los tejidos es menor). De nuevo los QD (partículas de unos pocos nanómetros hechas de metales pesados como CdSe, CdTe, InAs...) presentan gran interés, por su capacidad para absorber luz de un amplio rango espectral, emitiendo en cambio a una longitud de onda muy definida, que depende de las características (tamaño y composición) de los QD. Esto permite un multiplexado óptico: distintos QD, funcionalizados para dirigirse a diferentes objetivos, se iluminan con la misma longitud de onda pero emiten en distintos colores [19]. Una alternativa a los QD es la creación de nanomateriales fluorescentes encapsulando un fluoróforo tradicional en una nanopartícula. Comparado con el uso de las moléculas fluorescentes en forma libre, la encapsulación en nanopartículas no solo aumenta su vida útil, sino que permite controlar su biodistribución y eliminación, así como dirigirlas preferente-

mente hacia el objetivo deseado. Un excelente ejemplo es el trabajo de Benezra y cols. [20] de la Universidad de Cornell, que constituye el primer caso de material inorgánico aprobado por la FDA para ensayo en humanos. Estos investigadores encapsularon un fluoróforo en el interior de nanopartículas de sílice, y además anclaron sobre su superficie un radionucleido apto para PET. La doble funcionalización permitió la visualización de tumores, canales y nodos linfáticos, incluso con luz blanca. De este modo, la imagen obtenida con nanopartículas es capaz de proporcionar una atractiva herramienta de visualización en tiempo real, como se demostró en el trabajo citado, donde posibilitó la detección de metástasis durante la intervención quirúrgica de los animales tratados con nanopartículas.

Por último, la imagen médica obtenida mediante nanopartículas puede convertirse en una poderosa ayuda a la hora de verificar la eficacia de un tratamiento. Así, en tratamientos oncológicos convencionales la monitorización de la respuesta (por ejemplo, tras la administración de un agente quimioterápico) se realiza midiendo la reducción de la masa tumoral por técnicas de imagen convencional (por ejemplo, mediante un PET-TAC), así como con un seguimiento de marcadores tumorales séricos. Esto a menudo implica un proceso de días o semanas para programar la prueba clínica, interpretar los resultados y en su caso corregir la dosis o cambiar de agente en los casos en que se concluye que el tratamiento no es efectivo. Con una adecuada funcionalización, las nanopartículas podrían llegar a permitir la monitorización casi continua de la eficacia al tratamiento, proporcionando además precisión espacial, lo que resulta útil, por ejemplo, si hay áreas de un tumor resistentes al tratamiento. Hace ya una década que se demostró *in*

*vivo* la posibilidad de este seguimiento [21], utilizando nanopartículas conjugadas a una molécula (Annexin V) capaz de reconocer marcadores de apoptosis (en este caso fosfatidilserina). De esta forma, las nanopartículas actuaban como indicadores subtumorales, revelando qué células sufrían apoptosis en respuesta al tratamiento y en qué localización concreta se producía esa muerte celular.

### **Consideraciones de diseño**

En los párrafos anteriores se han expuesto algunas posibilidades de los nanomateriales en cuanto a su uso en diagnóstico clínico, pero vale la pena detenerse brevemente a considerar cómo el diseño específico de estos nanomateriales permite satisfacer los requisitos esenciales para la función prevista. Para ello utilizaremos como ejemplo el trabajo ya citado de Benezra y cols. [20]. Cuando las aplicaciones tienen lugar *in vivo*, el primero de estos requisitos es su biocompatibilidad. Los nanomateriales que se introduzcan en el organismo deben presentar una toxicidad suficientemente baja y, en general, deben poderse eliminar del organismo por vías naturales. Esto representa un problema para el uso de determinados nanomateriales, como por ejemplo los QD y numerosos fluoróforos, que suelen provocar una respuesta tóxica considerable. Los investigadores de Cornell usaron una cubierta de sílice (material biocompatible de baja toxicidad). Sin embargo, la sílice no es biodegradable, por lo que se limitó el tamaño de las nanopartículas a 7 nm, para favorecer la excreción renal.

El segundo de los requisitos cuando se trata de diagnósticos *in vivo* es que los nanomateriales que se van a usar

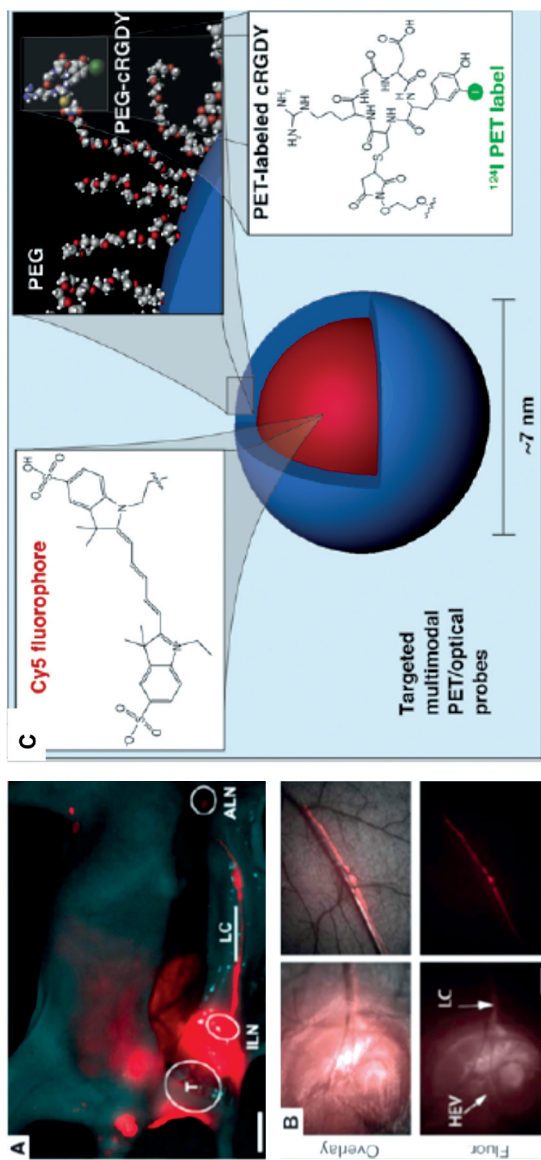


FIGURA 6. Localización nodal utilizando partículas multifuncionales. A: luminiscencia de cuerpo entero (ratón) mostrando el tumor y los nodos y canales linfáticos. B: imagen de fluorescencia (debajo) y conjugada (luz blanca + fluorescencia) en animales expuestos quirúrgicamente, mostrando el drenaje linfático de la región peritumoral. C: estructura de la nanopartícula multimodal. De la referencia [20].

como indicadores (en este caso nanopartículas) puedan llegar al órgano o tejido objetivo, lo que implica superar fundamentalmente dos obstáculos. El primero tiene que ver con la eficaz actuación del sistema inmune, que reconoce la nanopartícula como un elemento extraño y pone en marcha varios mecanismos de eliminación, de los cuales el principal consiste en la activación de los macrófagos del sistema reticuloendotelial. Estos a su vez identifican a las nanopartículas como resultado de un proceso denominado opsonización, consistente en la adsorción de proteínas en la superficie de las partículas. Para evitar este reconocimiento, se recurre a procedimientos de enmascaramiento (en inglés se utiliza el término *stealthing*, que literalmente significa ‘actuar de forma encubierta’), siendo frecuentemente utilizado el recubrimiento con polietilenglicol (PEG), que proporciona una cobertura que dificulta la adsorción de proteínas. Este enmascaramiento retrasa el reconocimiento de las nanopartículas por parte del sistema inmune, aumentando su tiempo en circulación en sangre entre uno y dos órdenes de magnitud, posibilitando así su llegada a la región de interés. El segundo obstáculo está relacionado con la necesidad de que las nanopartículas se acumulen en el tejido objetivo y, además, lo hagan con suficiente selectividad (es decir, que la acumulación en otros tejidos u órganos sea suficientemente baja para que no interfiera con el diagnóstico). La acumulación preferencial, cuando se trata de tumores, puede lograrse con un direccionamiento pasivo, mediante el llamado efecto EPR, del que se hablará más adelante, pero para ello el tamaño de las partículas debe estar dentro de un cierto intervalo. Debido a su diseño para facilitar la excreción renal, las partículas sintetizadas en este caso eran demasiado pequeñas como para beneficiarse de una acumulación por EPR, por lo que Benezra

y cols. recurrieron al direccionamiento activo, anclando en la capa de PEG péptidos especialmente seleccionados para reconocer las integrinas expresada por el tumor objetivo.

Finalmente, una vez alcanzado el tumor, la partícula debe cumplir su doble función, que en este caso era servir como localizador fluorescente y, además, proporcionar una imagen en tomografía de emisión de positrones (PET). Para obtener una señal fluorescente a través de una capa delgada de piel y tejidos los investigadores encapsularon en el interior de la nanopartícula de sílice el fluoróforo Cy5, capaz de emitir en la *ventana del agua*, mientras que para posibilitar la imagen PET anclaron químicamente  $^{124}\text{I}$  en la capa de PEG. El resultado del proceso de diseño y síntesis fue una sofisticada nanopartícula capaz de evadir el sistema inmune durante un tiempo suficiente, de acumularse en zonas de crecimiento tumoral gracias a un reconocimiento activo, y una vez allí proporcionar una doble imagen de fluorescencia y PET, siendo prácticamente eliminada del organismo al cabo de 24 horas.



## NANOTECNOLOGÍA E INGENIERÍA DE TEJIDOS

La ingeniería de tejidos puede definirse como el uso de células y moléculas en construcciones artificiales para restaurar funciones corporales que se han perdido o deteriorado [16]. Como tal, la ingeniería de tejidos se engloba dentro el campo de la medicina regenerativa, aunque en muchos casos ambos términos se utilizan de forma indistinta. La primera generación de materiales artificiales para uso en el interior del cuerpo humano data de los años sesenta del siglo pasado, y el énfasis radicaba, sobre todo, en obtener materiales inertes desde el punto de vista biológico. La investigación en este campo evolucionó rápidamente hacia una segunda generación donde ya se buscaban materiales con componentes bioactivos, capaces de producir una respuesta positiva en el organismo. Así, hacia mediados de los años ochenta ya se disponía de cerámicas, vidrios y *composites* bioactivos para aplicaciones ortopédicas y dentales. Hoy estamos ante la tercera generación de biomateriales, que utiliza nuevas herramientas, como los polímeros «inteligentes», capaces no solo de promover el crecimiento celular y reabsorberse tras un periodo que puede programarse a voluntad, sino de liberar fármacos específicos de manera controlada [16].

La Nanotecnología ha encontrado un amplio campo de acción en esta tercera generación de biomateriales, desarrollándose a lo largo de dos líneas principales. Por un lado, el progreso en los procesos de nanofabricación permite garantizar un alto grado de control (dimensiones características de los elementos constructivos, periodicidad, porosidad) en estructuras que alcanzan dimensiones macroscópicas. Esto quiere decir que tanto la estructura interna como la textura superficial de andamiajes celulares y superficies de anclaje pueden definirse para facilitar la llegada de nutrientes y promover (o inhibir) la adhesión celular (figura 7). Igualmente, es posible desarrollar arquitecturas artificiales que constituyen una buena aproximación a la morfología de las matrices extracelulares presentes en distintos tejidos. Se han aplicado tanto procesos *top down* (electrohilado, litografía blanda y, más recientemente, la impresión 3D que ya alcanza resolución micrométrica, suficiente para múltiples aplicaciones actuales en andamios celulares) como *bottom up* (procesos de autoensamblado, especialmente sobre la superficie de prótesis e implantes). Las aplicaciones son numerosísimas y se extienden a campos tan diversos como la regeneración de hueso, músculo cardíaco, cartílago o células neuronales [22].

Por otro lado, también resulta ya posible controlar la composición química y la arquitectura interna de los materiales nanoestructurados para conseguir materiales «inteligentes», capaces de respuestas biomiméticas. Así, los polímeros reabsorbibles que se utilizan en estructuras para el crecimiento celular pueden diseñarse de forma que respondan a cambios en el entorno, liberando sustancias que estimulen la regeneración, que dirijan la proliferación y diferenciación

celular, etc. Existe todo un campo de investigación en síntesis de polímeros capaces de responder a cambios sutiles en factores ambientales como temperatura, pH, luz o concentración de determinados iones o enzimas [23,24]. Y la liberación de estas sustancias no tiene por qué ser simultánea, ya que manipulando la arquitectura del polímero (por ejemplo, usando nanofibras *core-shell*, o estructuras constituidas por polímeros de distinta velocidad de degradación), puede disponerse la liberación secuencial de sustancias como proteínas, péptidos y material genético, a semejanza de los procesos naturales.

También es posible incluir, dentro de los andamiajes celulares, elementos nanoestructurados (por ejemplo, nanopartículas) que respondan a una señal exterior al organismo, desencadenando un proceso regenerativo. Especialmente prometedores en este aspecto son los

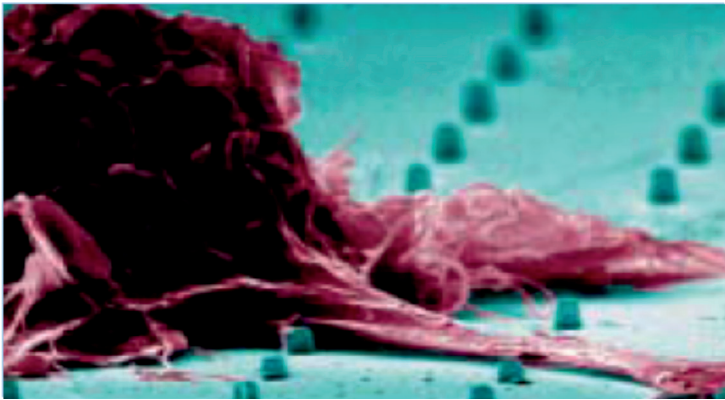


FIGURA 7. *Modificación de la adhesión celular en función de la topografía superficial. La microfotografía muestra un fibroblasto sobre una superficie nanoestructurada. De la referencia [16].*

procedimientos basados en la inclusión, dentro de los andamiajes celulares, de células genéticamente modificadas para secretar las moléculas deseadas (por ejemplo, factores de crecimiento) al recibir un estímulo adecuado. Si el estímulo puede localizarse con precisión (por ejemplo, mediante luz de una determinada longitud de onda [25], o un calentamiento localizado mediante nanopartículas [26]), resulta posible delimitar espacial y temporalmente la expresión de los factores deseados (figura 8).

No puede concluirse este apartado sin mencionar el gran impulso que la Nanotecnología está proporcionando al uso de células madre en medicina regenerativa. El enorme potencial de estas células en el tratamiento de multitud de lesiones y enfermedades degenerativas está ampliamente reconocido. Sin embargo, estamos lejos de comprender el complejo entramado de señales celulares que gobiernan su comportamiento, y más lejos aún de controlarlo. Aquí la Nanotecnología proporciona herramientas únicas para la investigación al permitir realizar un seguimiento preciso, *in vitro* e *in vivo*, de las migraciones de las células madre y de sus interacciones, mediante un marcaje con nanopartículas (por ejemplo, nanopartículas magnéticas o QD) [27]. Pero, además, los materiales nanoestructurados pueden ayudar a controlar el comportamiento de las células madre y en particular su adhesión a superficies, multiplicación y diferenciación en distintos tipos celulares. Existe abundante evidencia del papel central que la topografía de las superficies a nivel nanométrico juega a la hora de controlar el comportamiento de las células madre, y, en especial, su adhesión a la matriz extracelular, que es la clave de gran parte de su evolución posterior [28].

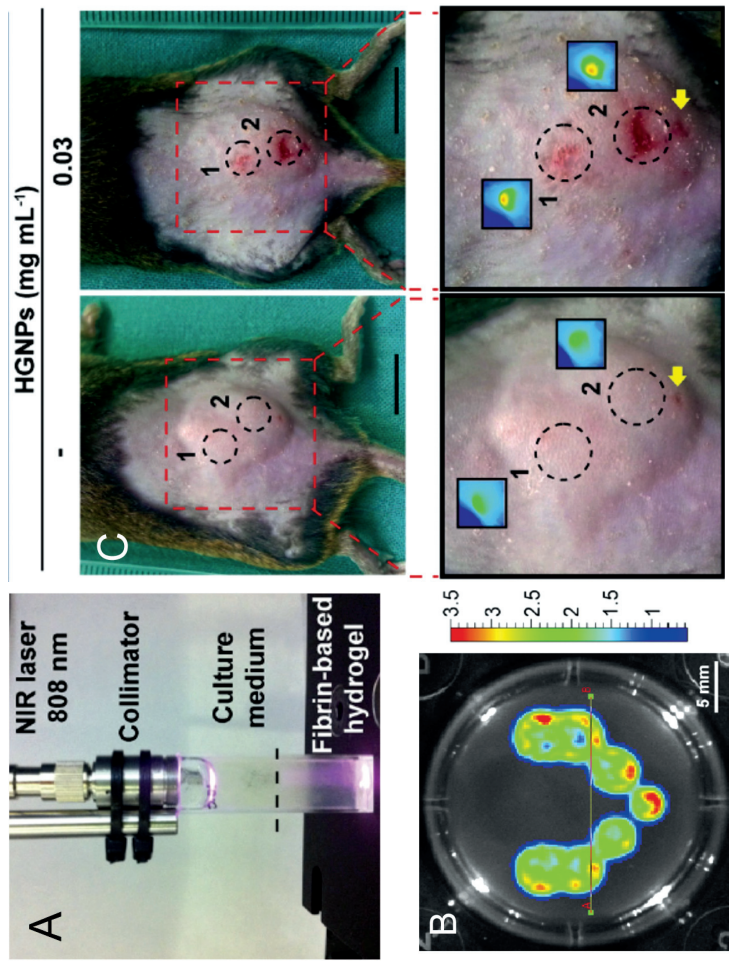


FIGURA 8. Control espacio-temporal de la expresión transgénica. A: iluminación con un láser de 800 nm de un hidrogel cargado con nanopartículas sensibles a radiación NIR. B: control de la expresión de luciferasa in vitro utilizando diferentes intensidades de irradiación. C: control de la expresión de factores de crecimiento vascular endotelial in vivo. De la referencia [26].

## Consideraciones de diseño

Desde el punto de vista morfológico, las dimensiones celulares son del orden de micras, mientras que muchas de las estructuras subcelulares pertenecen a la nanoescala, convirtiendo a los nanomateriales en vectores ideales para interactuar con ellas. Esta es la razón esencial por la que la Nanotecnología se está revelando como una herramienta eficaz para regular comportamientos celulares, en general, y, en particular, los relativos a ingeniería de tejidos y medicina regenerativa.

En Nanomedicina el escenario médico determina el diseño del nanomaterial, y en un campo como el de la ingeniería de tejidos, donde las aplicaciones tienen lugar *in vivo* (en contraste con el diagnóstico nanoasistido, en el que buena parte de los análisis se verifican sobre muestras *ex vivo*) la biocompatibilidad del nanomaterial constituye la primera e indispensable exigencia. Otros requisitos en cambio pueden variar dependiendo de la aplicación. Así, en muchos casos se exigirá la biodegradación progresiva del material implantado, pero en otros, por el contrario, lo que se persigue es un material duradero, capaz de permanecer en el organismo, integrándose y sirviendo como base al crecimiento de nuevos tejidos.

Por otro lado, no siempre se requiere una gran complejidad en la arquitectura interna y en la composición de los nanomateriales utilizados en ingeniería de tejidos. Por ejemplo, gran parte de la investigación que se realiza sobre recubrimientos nanoestructurados en prótesis lo que persigue es prolongar la vida útil del implante mejorando su resistencia mecánica y la adhesión al tejido circundante. Este objetivo puede lograrse utilizando recubrimientos cerámicos bioactivos poco exigentes desde el punto de vista de la complejidad química y topográfica.

En el extremo opuesto en cuanto a complejidad y sofisticación, estarían los andamiajes «inteligentes», capaces de responder a señales del entorno liberando determinadas biomoléculas, con una morfología definida en la nanoescala para controlar la adhesión y diferenciación celular, y conteniendo nanomateriales embebidos para modificar, en el momento deseado, la temperatura o la composición química ambiental. Muchas de estas tecnologías ya están disponibles a nivel de laboratorio (véase más adelante el apartado dedicado a consideraciones de diseño para el suministro controlado de fármacos), pero falta conocimiento para definir la nanotopografía que fomentará la adhesión de un determinado tipo de células, o la combinación óptima de fármacos para obtener el crecimiento celular deseado. A medida que nuestra comprensión de los mecanismos de regeneración tisular se incrementa, seremos capaces de diseñar los nanomateriales con la funcionalidad más adecuada para cada escenario clínico.





## NANOTECNOLOGÍA Y ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS

A la hora de suministrar fármacos, la Medicina moderna utiliza todas las rutas posibles de acceso al organismo. Aunque la más frecuente es la vía oral, la mayoría de nosotros hemos recibido también medicamentos presentados por vía parenteral, tópica, rectal o inhalada. Incluso formas menos comunes, como la percutánea (mediante parches transdérmicos o mediante iontoforesis), nos van resultando cada vez más familiares a medida que su uso se extiende. Es probable que estos métodos de administración de fármacos nos parezcan adelantos modernos, pero lo cierto es que la mayoría han estado presentes en formas similares a lo largo de la historia (figura 9). La ingestión de hierbas, polvos y extractos medicinales está bien documentada desde la Antigüedad, pero también lo están la absorción por vía dérmica, mediante el uso de ungüentos, emplastos y cataplasmas, o la inhalación de vapores. Incluso la administración parenteral mediante incisiones en la piel debió de utilizarse tan pronto como resultó evidente que la sangre proporcionaba el acceso más rápido de los remedios al organismo. Se dice [29] que la primera descripción de terapia intravenosa apare-



FIGURA 9. Fila superior: fármacos para administración oral en el siglo XVI y en la actualidad. Fila inferior: inhalación de medicinas en las culturas amerindias y un inhalador para asma actual.

ce en la clásica historia de los Argonautas, cuando la hechicera Medea rejuvenece a Esón extrayendo su sangre y reemplazándola por una poderosa poción (que incluía elementos como la sangre de una oveja negra, entrañas de lobo y alas de murciélago).

La eficacia de los fármacos modernos se debe, sobre todo, al formidable progreso alcanzado en la identificación de dianas terapéuticas y en el desarrollo de moléculas adaptadas a ellas. Pero incluso el fármaco óptimamen-

te diseñado debe superar numerosos obstáculos antes de alcanzar su lugar de acción. Consideremos el caso de la administración oral: la absorción del medicamento se produce principalmente cuando llega a entrar en contacto con la mucosa intestinal, para lo que previamente ha debido sobrevivir a su tránsito por el sistema digestivo, resistiendo un medio con bajo pH y la acción de diferentes procesos enzimáticos. Una vez que ha llegado a este punto, si consigue atravesar la pared intestinal y entrar en el torrente sanguíneo, puede alcanzar la zona de interés utilizando la circulación de la sangre. Pero para ello debe superar el metabolismo hepático (el «efecto de primer paso hepático») manteniendo una concentración suficiente de fármaco, salir del torrente sanguíneo, atravesar el fluido intersticial y, finalmente, llegar a las células diana. Lógicamente, las formulaciones actuales de medicamentos ya se enfrentan a estos problemas, y existen numerosos excipientes y recubrimientos diseñados para aportar estabilidad, para facilitar la absorción por la mucosa intestinal o para proporcionar la deseada hidro- o liposolubilidad [30]. Estas estrategias no consiguen evitar las pérdidas de fármaco «en ruta», lo que tiene dos efectos adversos principales: por un lado, reduce la eficiencia del tratamiento, resultando necesario suministrar una mayor cantidad de fármaco para alcanzar la concentración sistémica requerida. Por otro, la pérdida de fármaco en ruta implica que una proporción significativa del medicamento administrado termina en órganos o tejidos distintos del objetivo, dando origen a efectos secundarios que en determinados casos llegan a ser muy importantes.

Consideraciones similares a las realizadas para la ruta oral pueden realizarse respecto a las otras vías de administración: en todas ellas la cantidad de fármaco inalterado que alcanza su objetivo es inferior (a veces muy nota-

blemente) a la cantidad total suministrada, y la fracción que termina en otros órganos acarrea efectos colaterales indeseados. Debido a esto, en las últimas décadas se ha realizado un esfuerzo muy notable para aumentar el control sobre la farmacocinética en los medicamentos administrados.

### **Suministro controlado de fármacos**

El suministro controlado de fármacos (CDD, de acuerdo con las siglas de *controlled drug delivery* en inglés) se desarrolla como respuesta a la necesidad de mejorar la precisión (espacial y temporal) en la administración de medicamentos. Suele considerarse que el inicio del CDD se remonta a mediados de los años sesenta, cuando Judah Folkman, profesor de Harvard, hizo circular la sangre de un conejo a través de una tubería externa de silicona y se dio cuenta de que, si el exterior de la tubería se exponía a vapores anestésicos, el conejo entraba en un sopor inducido. En seguida encontró que la cantidad de anestésico que permeaba dependía de la longitud y el diámetro de la tubería, así como de su espesor. Manipulando esos parámetros podía obtener un flujo de anestésico constante, algo que hoy nos parece obvio, pero que hace cinco décadas supuso el primer ejemplo de sistema de liberación de fármacos de *orden cero*, inaugurando la era del suministro controlado de fármacos. Pronto llegaron los primeros dispositivos de CDD en diversas áreas de la Medicina: la liberación de fármacos antiglaucoma en implantes oculares, de anticonceptivos a partir de dispositivos intrauterinos o desde implantes subcutáneos, y productos antimareo desde parches dérmicos [31].

A mediados de los años setenta el propio Folkman y su antiguo *postdoc* Robert Langer, entonces ya profesor en el

MIT, publican un artículo pionero [32] en el que llevan a cabo la liberación controlada de proteínas a partir de matrices poliméricas. En ese momento, estas matrices son todavía macroscópicas y no biodegradables, pero el dispositivo demuestra por primera vez la posibilidad de utilizar una matriz polimérica para liberar una molécula «frágil» en una forma activa. Durante los años setenta y ochenta este campo se expande, utilizando fundamentalmente polímeros biodegradables como el PLA y el PLGA, y desarrollando métodos cada vez más eficientes de encapsulación de fármacos en las partículas poliméricas. Al mismo tiempo, se van reduciendo las dimensiones de las cápsulas de liberación hasta el nivel de micropartículas, lo que permite no solo su uso como dispositivos estáticos (por ejemplo, implantes subcutáneos o intravaginales), sino incluso su inhalación cuando sus características de tamaño y composición resultan adecuadas. El campo de la liberación controlada de fármacos estaba ya maduro para dar el salto a la escala nanométrica, tan pronto como los métodos de fabricación y caracterización estuviesen disponibles.

### **La «Bala Mágica» de Ehrlich**

Paul Ehrlich fue un médico y bacteriólogo alemán que realizó descubrimientos notables en los campos de la quimioterapia, la toxicidad y la inmunología, por los que recibió el Premio Nobel de Medicina en 1908. Pero el motivo por el que aparece en este texto es haber sido el primero en formular claramente un concepto de gran atractivo en Medicina. Ehrlich acuñó el término *magische Kugel* (bala mágica) para su agente terapéutico ideal, aquel que sería capaz de eliminar de manera selectiva el elemento patógeno, dejando intacto el resto del organismo.

Sin nombrarlo como tal, Ehrlich estaba definiendo el concepto moderno de *direccionamiento* o *targeting*, que ocupa un lugar central en Nanomedicina. El direccionamiento en CDD puede ser activo o pasivo, y en ambos casos lo que se persigue es crear las condiciones para que las nanopartículas que llevan el fármaco se acumulen preferentemente en el objetivo, dejando de lado las células sanas.

La Nanotecnología permite vislumbrar formas de hacer realidad simultáneamente la visión de la *bala mágica* de Ehrlich y la de Feynman, de *ingerir al cirujano*. Para ello pretende desarrollar nanodispositivos que serían capaces de: i) navegar sin problemas por el sistema circulatorio, incluso por sus capilares más finos (que, sin embargo, quedarían obstruidos si se utilizasen partículas de tamaños tan pequeños como 10 micras); ii) penetrar más fácilmente barreras celulares, en virtud de su tamaño nanométrico y de sus características superficiales; iii) llevar una carga terapéutica, ya sea almacenada en su interior, o conjugada en su superficie, y iv) reconocer a células malignas mediante la funcionalización de su superficie con suficientes elementos de reconocimiento activo (anticuerpos), lo que resultaría posible gracias a la elevada relación superficie/volumen de los nanomateriales. Como veremos, existen ya suficientes indicios de que la investigación en este campo está bien encaminada para lograr los objetivos anteriores y, por ello, la Plataforma Europea de Nanomedicina [16] se permite predecir un futuro en el que resultará posible el «diseño de un conjunto de nanopartículas para buscar, encontrar y destruir una sola célula maligna, acercándonos así a la meta última de la prevención de enfermedades». En la figura 10 se esquematizan los principales elementos que un nanovector debería poseer para llevar a cabo estas funciones.

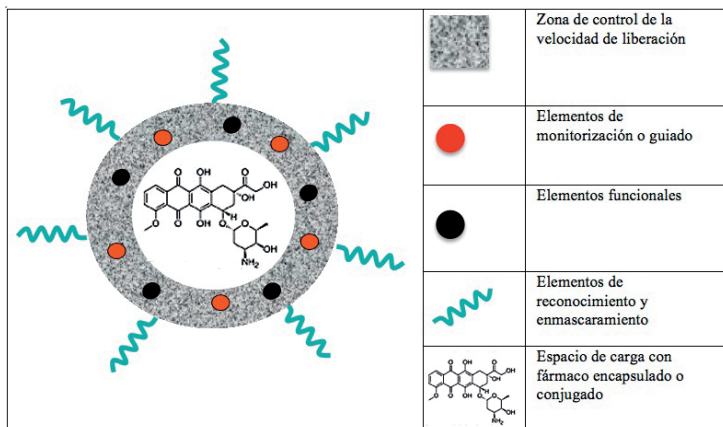


FIGURA 10. Esquema con los componentes de un nanovector inteligente para liberación de fármacos. La zona que controla la velocidad de liberación está constituida por un polímero biodegradable o por una barrera difusional porosa. Los elementos de monitorización permiten saber dónde está la partícula (por ejemplo, QD o radioisótopos) y los de guiado ayudan a concentrar el vector en una región determinada (por ejemplo, nanopartículas magnéticas). Hay una amplia variedad de elementos funcionales que pueden incluirse dependiendo del escenario (por ejemplo, nanopartículas de oro para posibilitar hipertermia local mediante irradiación NIR). En la capa más externa se localizan los elementos de reconocimiento (anticuerpos) y la cubierta externa para evadir el sistema inmune. Finalmente, la carga terapéutica (fármacos) se encapsula en el espacio interior o se ancla químicamente en la superficie.

## Consideraciones de diseño

### Vectores móviles

Resulta obvio para cualquiera que realizar la visión anterior (una nanopartícula *inteligente* cargada con fármacos, capaz de navegar a través de la sangre, acumularse en la región de interés, identificar fiablemente las células objetivo, acoplarse a ellas o penetrar en su interior y liberar entonces su carga terapéutica) implica superar una serie de obstáculos que representan un desafío formidable en el estado actual de la Medicina y la Nanotecnología.

Para entender lo que implica, supongamos que trabajamos en el desarrollo de partículas para tratamientos en oncología y que, tras meses de esfuerzos, hemos logrado preparar una dispersión estable de nanopartículas poliméricas biodegradables, con el tamaño adecuado, cargadas con el fármaco deseado y listas para ser inyectadas. Esto es, sin duda, un buen comienzo, pero dista mucho de cumplir con todos los requisitos necesarios. Para empezar, resulta más que probable que la dispersión, que era estable cuando estaba en el matraz, deje de serlo en cuanto se inyecte y se encuentre rodeada por un medio de distinta concentración salina y en el que hay proteínas y otras partículas en suspensión. Evitar la aglomeración de nuestras nanopartículas va a requerir modificaciones para aumentar su carga (y lograr repulsión electrostática entre ellas) o bien funcionalización superficial para mantenerlas separadas por impedimento estérico. También, como ya se ha indicado, resultará necesario recubrir la superficie con PEG u otros polímeros hidrofílicos para evadir o al menos retardar la detección por parte del sistema inmune, con la consiguiente eliminación de las nanopartículas de la circulación, antes de que hayan tenido tiempo de alcanzar la zona del objetivo. La avidéz de los macrófagos por las nanopartículas es notable, y las partículas sin la cobertura apropiada se eliminan de la circulación en pocos minutos (figura 11).

La principal razón para aumentar la vida media de las nanopartículas en circulación es dar tiempo para que actúe el efecto EPR. Este efecto de «aumento en permeabilidad y retención» (EPR proviene de las siglas en inglés: *enhanced permeability and retention*) es una consecuencia del crecimiento del tejido tumoral, tan rápido que no permite generar una vasculatura bien formada y da origen a un conjunto de vasos capilares con fenestraciones



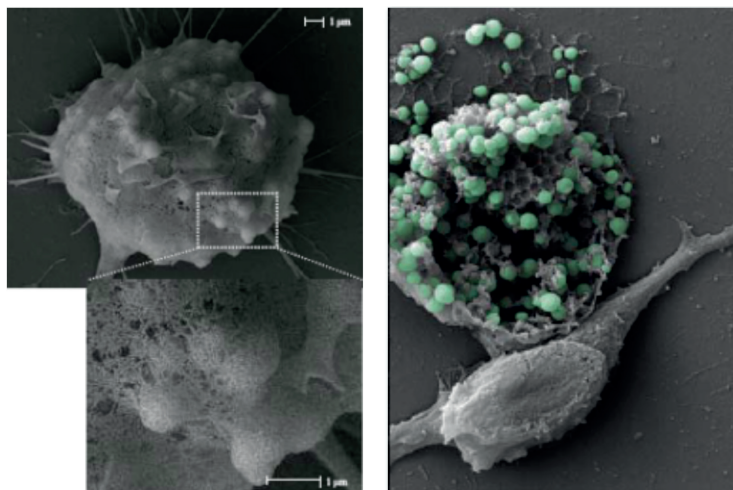


FIGURA 11. Un macrófago ha capturado nanopartículas de sílice, pudiendo apreciarse la forma redondeada de las que quedan cerca de su superficie. En la derecha, se observan las partículas (coloreadas artificialmente en verde) en un macrófago muerto. De la referencia [33].

de mayor tamaño, así como a un drenaje linfático deficiente. Como consecuencia de ambos factores, las nanopartículas con un tamaño suficientemente grande para evitar la extravasación en capilares sanos y la eliminación renal, pero al mismo tiempo suficientemente pequeño como para transitar por las fenestraciones de los vasos tumorales (es decir, un diámetro inferior a unos 400 nm) tienden a acumularse en el tejido tumoral [34] si se les da el tiempo suficiente para ello. A pesar de basarse en un mecanismo físico relativamente simple, el efecto EPR resulta un sistema eficaz para concentrar nanopartículas en tumores, y es utilizado por la mayoría de los nanovectores que están actualmente en ensayos clínicos. De hecho, el primer éxito clínico importante de la Nanomedicina fue

el Doxil, una reformulación de un fármaco anticancerígeno conocido, la doxorubicina, en el interior de nanopartículas lipídicas recubiertas de PEG, que utilizaban el efecto EPR para aumentar la selectividad en la administración del fármaco. Los pacientes que recibían Doxil presentaron solamente un tercio de las complicaciones comúnmente asociadas a la administración del preparado convencional [35].

A pesar de lo anterior, el efecto EPR tiene una selectividad limitada. Afortunadamente, es posible aumentar la fracción de nanopartículas que, finalmente, acaban en el tumor, utilizando alguno de los sistemas de direccionamiento activo. Así, cuando los vectores tienen carácter magnético (por ejemplo, nanopartículas poliméricas que contienen núcleos magnéticos, o nanopartículas magnéticas con fármacos anclados en su superficie), resulta factible utilizar un campo magnético para retener las partículas en el área donde está radicado el tumor [36]. Esto aumenta su tiempo de residencia en la región de interés y la probabilidad de que el efecto EPR actúe, acumulando las partículas en el tumor. El direccionamiento puede realizarse mediante la aplicación de un campo magnético externo o mediante implantes magnéticos internos, un concepto que se demostró experimentalmente [37] implantando un pequeño ( $4 \times 2$  mm) imán en uno de los riñones de un animal de laboratorio, lo que tras la inyección de ferrofluido condujo a una concentración de nanopartículas magnéticas mucho mayor en ese riñón que en el riñón exento.

No obstante, el sistema de direccionamiento activo por excelencia es el que utiliza anticuerpos anclados en la superficie externa del vector para reconocer alguno de los marcadores característicos de los tumores. Los anticuerpos presentan una especificidad exquisita, y actualmente pueden producirse para reconocer casi cualquier

sustancia y en suficiente cantidad, lo que les convierte en los elementos preferidos para proporcionar especificidad y bioactividad a las nanopartículas [38]. Sin embargo, la conjugación de anticuerpos a nanopartículas no es trivial, y es frecuente que pierdan parte de su actividad en el proceso. Afortunadamente, en los últimos años se han desarrollado estrategias sintéticas que anclan el anticuerpo a través de su región Fc, preservando la zona Fab para el reconocimiento específico del antígeno [39].

Los obstáculos últimos tienen que ver con las propias células, y los diversos mecanismos que pueden poner en juego para impedir la internalización de las partículas o para excretarlas una vez internalizadas. De nuevo el diseño de la nanopartícula es esencial [12] para facilitar la penetración de las partículas (por ejemplo, funcionalizando con péptidos de internalización), para implementar vías de escape endosomal (por ejemplo, mediante moléculas catiónicas que provoquen la ruptura osmótica) o incluso para conseguir el acceso directo al citosol celular [40]. Mención aparte merecen los mecanismos de resistencia múltiple a fármacos (MDR), particularmente importantes en los tratamientos quimioterápicos, para los que las soluciones propuestas desde la Nanomedicina representan alternativas superiores a los tratamientos convencionales [41]. Esto es posible gracias al nivel de sofisticación que han alcanzado los métodos de funcionalización superficial aplicados a nanopartículas. Un excelente ejemplo del control que actualmente puede obtenerse se recoge en la referencia [42], donde se realiza una múltiple funcionalización de nanopartículas de oro (siRNA junto a dos tipos de PEG dotados con distintos grupos funcionales, uno de los cuales se utiliza para anclar un péptido de direccionamiento). Estas partículas se utilizaron eficazmente para suprimir el crecimiento tumoral

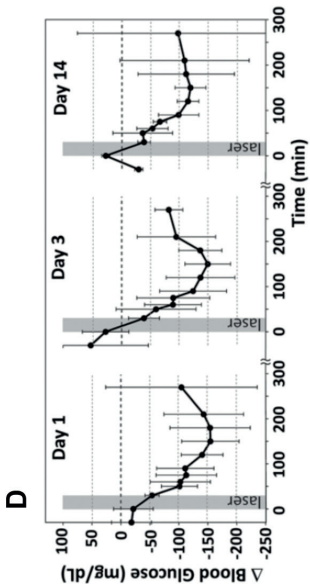
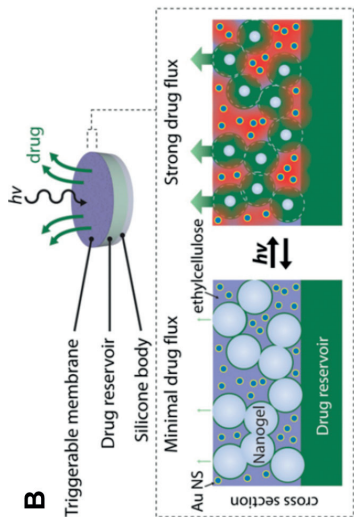
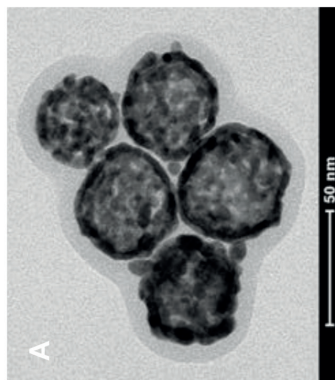


FIGURA 12. Liberación de fármacos (insulina) desde un reservorio activado mediante nanopartículas de oro. A: imagen TEM de nanopartículas de oro sensibles a la radiación NIR. B: principio de funcionamiento del dispositivo. C: aplicación del láser para activación de la liberación sobre animales de laboratorio. D: control de la glucosa a lo largo de dos semanas mediante liberación de insulina activada por láser NIR. De la referencia [45].

mediante el silenciamiento de genes en un modelo murino de cáncer pulmonar.

Finalmente, suponiendo que las nanopartículas que hemos sintetizado hayan conseguido llegar a las células objetivo y sean internalizadas por estas o al menos permanezcan en su vecindad inmediata, queda por definir la forma en la que la carga de fármaco se transfiere desde las partículas a las células. Podemos fiar este proceso a mecanismos pasivos, como la difusión o la degradación progresiva de enlaces químicos, pero evidentemente sería más atractivo disponer de un vector capaz de liberar su carga de fármaco en respuesta a un estímulo concreto, logrando lo que se conoce como liberación activada o *triggered release*. Se han utilizado muy diversos mecanismos [43], algunos ligados al microentorno de las células objetivo (pH, potencial redox, presencia de enzimas, iones y moléculas específicas) y otros independientes (luz, temperatura, campo magnético, campo eléctrico, ultrasonidos). Todos ellos permiten, con diversos grados de control, la descarga del fármaco en respuesta a una señal externa o a un factor del entorno, lo que proporciona una excelente oportunidad para reducir las pérdidas de fármaco en ruta y los consiguientes efectos secundarios.

### **Plataformas fijas**

La discusión anterior se ha centrado en el uso de nanovectores móviles para el suministro controlado de fármacos. Sin embargo, no debemos olvidar que existen numerosas situaciones donde la región objetivo de la terapia se conoce y, además, es accesible, por lo que no se requiere movilidad del vector, sino un control preciso de la liberación del fármaco. Escenarios clínicos relevantes serían, por ejemplo [44], la liberación de antibióticos desde implantes, de factores de crecimiento desde prótesis, de

analgésicos cerca de un foco de dolor o de quimioterápicos tras una resección tumoral.

De nuevo la Nanotecnología proporciona soluciones innovadoras para modular la velocidad de liberación. Aunque pueda obtenerse la regulación deseada mediante mecanismos clásicos de difusión a través de medios nanoporosos o de degradación de una barrera polimérica, es posible obtener un control mucho más preciso si se utiliza una liberación activada mediante estímulos externos. Particularmente atractiva resulta la combinación de un hidrogel termosensible con procedimientos nanoasistidos de calentamiento local. Así, se han diseñado plataformas fijas para efectuar una liberación de medicamentos activada remotamente a partir de reservorios de fármaco limitados por membranas termosensibles (figura 12). En el interior de estas membranas se incluyeron nanopartículas magnéticas [45] o metálicas [46] capaces de calentarse en respuesta a campos magnéticos o a radiación NIR, con el consiguiente cambio en la estructura del hidrogel que a su vez activa la liberación del fármaco. El proceso es reversible y pueden realizarse múltiples ciclos de liberación a lo largo de un periodo prolongado.

## TERAPIA NANOASISTIDA SIN FÁRMACOS

Los efectos secundarios de los fármacos, en general, y especialmente de los quimioterápicos utilizados en oncología han acrecentado el interés por alternativas terapéuticas cuyo uso de fármacos sea menos intenso, o que incluso los eviten por completo. Algunas de estas alternativas son la embolización quirúrgica para privar al tumor de irrigación, o el uso de medios físicos como campos eléctricos, ultrasonidos, oxigenación hiperbárica o hipertermia. Cabe señalar que su eficacia es limitada, por lo que casi todos estos métodos se combinan con formas de tratamiento clásicas, como quimioterapia o radioterapia.

En particular la hipertermia (es decir, el calentamiento selectivo de determinadas zonas del organismo hasta temperaturas de unos 44-45 °C) se ha convertido en una atractiva alternativa en oncología, por sí misma o en combinación con otros tratamientos. El calentamiento hasta estas temperaturas induce una serie de efectos biológicos adversos en las células expuestas, como la pérdida de estructura y agregación de proteínas, alteraciones en la transducción de señales biológicas, cambios en pH, reducción en la oxigenación e inducción de apoptosis [47]. La principal aportación de la Nanotecnología en este campo

es el desarrollo de nanopartículas que puedan infiltrarse en el tumor y, una vez allí, actuar como focos de calentamiento local en respuesta a señales externas, gracias a sus especiales propiedades. Esto permitiría calentar el tumor desde el interior, lo que, por un lado, proporciona una mayor eficacia en la eliminación de células cancerosas y, por otro, minimiza el daño al tejido sano circundante. Las perspectivas son tan prometedoras que, según una revisión reciente [48], la introducción de los nanomateriales en este campo ha supuesto «el rejuvenecimiento de un área que se había investigado como tratamiento anticancerígeno durante dos décadas con un éxito limitado».

Aunque también pueden obtenerse aumentos locales de temperatura mediante radiofrecuencia, microondas o ultrasonidos, los procedimientos nanoasistidos de mayor éxito hasta la fecha involucran el uso de campos magnéticos oscilantes para calentar nanopartículas magnéticas, o bien de radiación en el infrarrojo cercano (NIR), a la cual son sensibles determinadas nanopartículas metálicas.

Dentro de un campo magnético alterno, las nanopartículas magnéticas se calientan fundamentalmente gracias a dos mecanismos de disipación: la relajación de Néel (relacionada con el cambio en la dirección de magnetización) y la relajación Browniana (relacionada con el movimiento de las partículas en contra de las fuerzas viscosas del fluido). El calentamiento mediado por nanopartículas magnéticas es muy eficaz a la hora de producir la muerte celular, y está bien establecida la relación entre la intensidad del calentamiento y las características de las nanopartículas y del campo aplicado [49]. Afortunadamente, tanto los fluidos biológicos como las células que forman los tejidos del organismo son poco sensibles a los campos magnéticos externos, por lo cual puede obtenerse una elevada penetración del campo mientras que única-



mente se producen efectos de calentamiento en las zonas donde se han acumulado las nanopartículas magnéticas, es decir, en el tumor, si se ha conseguido una deposición selectiva de las nanopartículas por medio de los procedimientos anteriormente descritos. La hipertermia con nanopartículas magnéticas se encuentra en ensayos clínicos impulsados por diversas compañías (Magforce Nanotechnologies AG, Aspen Medisys LLC) para tratar pacientes con gliomas o con tumores de próstata [34].

Por otro lado, es posible calentar nanoestructuras metálicas gracias a los efectos de resonancia plasmónica superficial (un fenómeno ligado a la oscilación colectiva de los electrones en la nanopartícula) que se producen cuando estas estructuras tienen la composición y dimensiones adecuadas. Se han desarrollado especialmente los materiales plasmónicos basados en oro, debido en parte a su excelente biocompatibilidad y a la facilidad de su funcionalización, pero, sobre todo, al hecho de que, manipulando su morfología y sus dimensiones, es posible seleccionar frecuencia de la resonancia plasmónica, como ya demostraron experimentalmente en los años noventa Naomi Halas y cols. (véase, por ejemplo, [50]). Estos investigadores fueron capaces de modificar las características de la síntesis para situar el plasmón de sus *nanoshells* en la *ventana del agua*, que, como ya se ha indicado, es la zona del espectro donde el coeficiente de absorción es mínimo por parte del agua y la hemoglobina [51], lo que permite obtener penetraciones de varios centímetros, dependiendo del tejido iluminado. La hipertermia NIR con nanopartículas de oro se está utilizando, por tanto, sobre todo en el tratamiento de tumores relativamente superficiales, donde ya existen ensayos preclínicos en fase I (Nanospectra) [34]. Existen, además, estrategias que permiten extender la región donde se produce la muerte

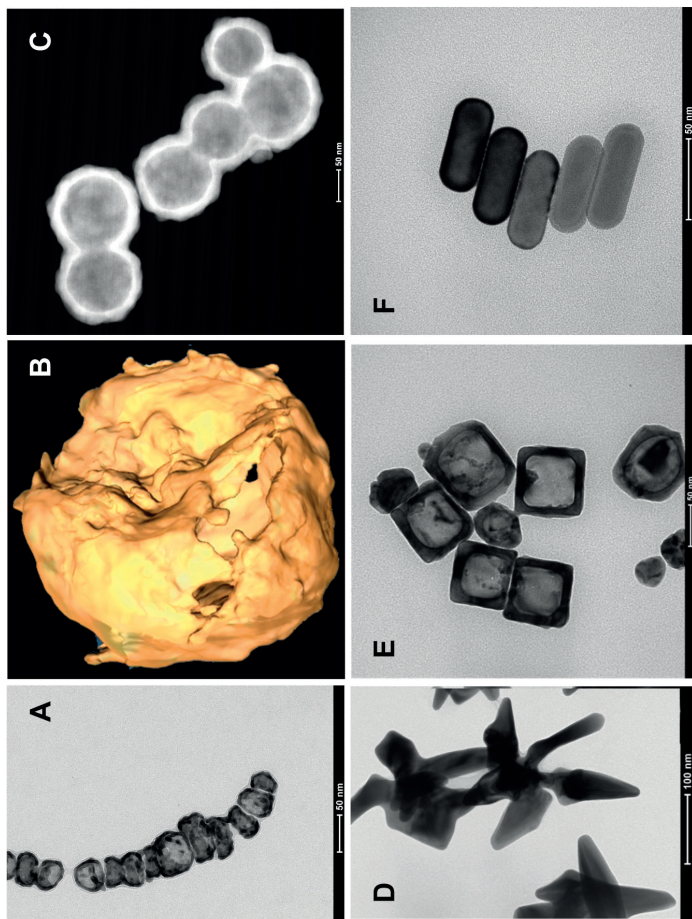


FIGURA 13. *Diversas nanoestructuras de oro con propiedades plasmónicas. A y B: nanoparticulas huecas. C: Nanoshells (carcasas) de oro sobre núcleo de sílice. D: Nanostars (estructuras dendríticas). E: nanocubos huecos. F: Nanorods (nanoestructuras en forma de barra).*

celular por hipertermia utilizando mecanismos asociados a proteínas de choque térmico, con el consiguiente aumento en la eficacia del tratamiento [52]. Otro factor importante de cara a la aplicación de terapias basadas en hipertermia NIR es el desarrollo de métodos de fabricación que permiten la producción a mayor escala de nanopartículas de oro con un estricto control de sus dimensiones [53], lo que resulta de vital importancia en vista de la fuerte dependencia de las propiedades plasmónicas de dichas partículas con sus características morfológicas.



## NANOTOXICIDAD

Esta breve introducción a la Nanomedicina no sería honesta si solo recogiese aspectos positivos y perspectivas prometedoras. Es obligado reconocer que las mismas propiedades excepcionales que hacen de los nanomateriales herramientas tan valiosas en Medicina (como su elevada reactividad y su capacidad de atravesar membranas celulares) también pueden dar origen a efectos indeseados, incluyendo riesgos para la salud y el medio ambiente. Precisamente porque las nuevas propiedades aparecen solo en la nanoescala, no es posible establecer la seguridad de un nanomaterial basándonos en su inocuidad cuando se encuentra en dimensiones macroscópicas. La evaluación completa de los riesgos no es sencilla, puesto que las propiedades de una nanopartícula (incluyendo su biodistribución, toxicidad o inmunogenicidad) varían fuertemente con pequeños cambios en su composición, funcionalización superficial o estado de agregación [54]. Por eso se requieren estudios específicos con cada nanomaterial, en condiciones lo más próximas posibles a las de su uso.

Ya se ha señalado que ciertas nanopartículas (sílice, carbono, etc.), omnipresentes en el ambiente, han coexis-

tido con la humanidad durante milenios. Pero también es cierto que hay nuevos materiales sintéticos (los *engineered nanomaterials* o ENM), que no existen en la naturaleza, y que tienen propiedades inéditas. Así, resulta razonable, por ejemplo, preguntarse si una nanopartícula que se ha diseñado para su uso en terapia génica y es capaz de transportar ADN hasta el núcleo de las células puede llegar a causar efectos adversos transportando material genético indeseado por accidente o por contaminación.

Aunque la mayoría de los nanomateriales ensayados hasta la fecha en estudios *in vivo* han mostrado una buena biocompatibilidad y «una toxicidad mucho menor que la de productos cotidianos de limpieza o de los insecticidas que utilizamos en los animales domésticos» [55], existen otros estudios que muestran indicios preocupantes en ciertos nanomateriales, como nanotubos de carbono [56] o nanopartículas y óxidos metálicos [57]. Preocupa especialmente la exposición a nanomateriales por vía respiratoria, ya que proporciona un acceso rápido al epitelio pulmonar, donde pueden desencadenarse reacciones adversas, y de ahí al torrente sanguíneo distribuyendo los nanomateriales sistémicamente. Como norma general, debe aplicarse el principio precautorio: mientras no exista certeza acerca de la seguridad de los nanomateriales deben utilizarse las mismas precauciones que con materiales tóxicos evitando, en lo posible, su manejo como sólidos pulverulentos [58], y siendo especialmente cuidadosos en su eliminación como residuos. En cuanto a su utilización en Nanomedicina, es urgente disponer de un marco regulatorio específico [59], con una batería de ensayos estandarizados y pautas claras en el proceso de aprobación de terapias nanoasistidas, similar al existente para nuevos fármacos.

## CONSIDERACIONES FINALES

Puede afirmarse con certeza que la Nanotecnología tiene el potencial de revolucionar la Medicina, tal y como hoy la conocemos. Las propiedades excepcionales de los nanomateriales permiten abordar de forma radicalmente nueva algunos de los problemas persistentes con los que la Medicina se ha enfrentado en campos como la traumatología o la oncología, por poner dos ejemplos evidentes. Al mismo tiempo, los procedimientos nanoasistidos prometen alcanzar cotas de eficiencia nunca vistas en diagnóstico, regeneración tisular y suministro controlado de fármacos. No hablamos de un porvenir remoto, sino, muy probablemente, del futuro próximo: hay, literalmente, miles de nanomateriales en ensayos clínicos, y algunos de ellos ya han obtenido aprobación para su uso.

Aunque los primeros éxitos se refieren, sobre todo, a reformulaciones en la nanoescala de fármacos ya aprobados, el mayor potencial para cambios profundos en los procedimientos médicos se encuentra en la aplicación de propiedades emergentes (como las ofrecidas por la hipertermia con nanopartículas) y en el aprovechamiento de las sinergias entre el fármaco y el nanomaterial, lo que requerirá un diseño específico no solo del nanovector,

sino del fármaco conjugado. Hay que concebir nuevos medicamentos capaces de utilizar plenamente las propiedades del nanomaterial que va a llevarlos hasta las células objetivo y será necesario replantear aspectos fundamentales de farmacocinética y farmacodinámica, pero, sin duda, el esfuerzo merecerá la pena.

Aunque resulte reiterativo, hay que resaltar que la Nanomedicina es un área intrínsecamente multidisciplinar. Integra, lógicamente, Nanotecnología y Ciencia de Materiales junto con Medicina, pero no puede progresar sin aportaciones de la Biología Molecular, la Fotónica o la Química de Superficies, por citar solo tres ramas del saber. Pocos campos ejemplifican tan claramente la confluencia de experiencias de distintos orígenes (y ya de paso, la obsolescencia de clasificaciones científicas basadas en áreas de conocimiento que se definieron hace décadas). Son numerosos los informes que apuntan a una preocupante falta de especialistas en este campo. Aunque no se han encontrado datos específicos para Nanomedicina, sí existen para Nanotecnología, donde se estima que, solo para Europa, se precisarán entre trescientos mil y cuatrocientos mil nanotecnólogos en los próximos años. Es urgente agilizar los procesos de aprobación de nuevos planes de estudio si queremos disponer de profesionales competentes en áreas emergentes con un alto impacto económico y social que, como la Nanotecnología, no quedan bien cubiertas en las carreras tradicionales.

Tampoco podemos descuidar el esfuerzo investigador, a nivel estatal y regional, en este campo. Dentro de la Nanotecnología existen varias líneas de investigación en las que España, y en particular Aragón, se han posicionado de forma destacada y ya pueden constatarse en nuestra región frutos tangibles en forma de empresas creadas, nuevos productos industriales y una creciente cartera de



patentes licenciadas. Pero es una ventaja efímera que puede perderse si no se mantienen las inversiones en equipos y en recursos humanos al ritmo requerido en un campo tan dinámico. Las regiones españolas con las que competimos en este ámbito (especialmente Cataluña y el País Vasco), los países europeos con los que España compete (fundamentalmente Alemania, Reino Unido, Holanda y Francia) y los competidores globales de Europa (Estados Unidos, Japón y China) así lo han entendido y, a pesar de la crisis, han mantenido o incluso aumentado sus esfuerzos inversores en Nanotecnología, en general, y particularmente en Nanomedicina.

No sabemos con seguridad lo que nos deparará el futuro, pero la Nanotecnología y la Nanomedicina serán parte de él. Y como dijo Alan Kay (a quien se atribuye la paternidad de las interfaces gráficas que hoy encontramos en computadores y teléfonos móviles): «La mejor manera de predecir el futuro es inventarlo».



## AGRADECIMIENTOS

Vaya en primer lugar mi agradecimiento al Rector Magnífico de nuestra Universidad, Profesor Dr. D. Manuel López Pérez por haber confiado en mí para pronunciar la Lección Inaugural del curso 2014-2015. Espero no haberle defraudado, pero, si así fuera, estoy seguro de contar con su benevolencia.

También quiero dar las gracias a todos los investigadores y personal técnico y administrativo del Instituto de Nanociencia de Aragón, pero de una manera especial a aquellos que desarrollan su trabajo en áreas próximas al objeto de esta lección y con los que mantenemos colaboraciones, especialmente a Ricardo Ibarra, Jesús Martínez de la Fuente, Gerardo Goya y Clara Marquina.

Dentro de nuestro propio grupo de investigación, la línea de Nanomedicina no sería lo que es sin el esfuerzo y el conocimiento de Manuel Arruebo, o sin los materiales que desarrolla junto con Víctor Sebastián, Silvia Irusta, Jose Luis Hueso, Gema Martínez y Paco Balas. No puedo dejar de nombrar con agradecimiento a los demás doctores del grupo, Reyes Mallada, Pilar Pina, Nuria Navascués, Miguel Urbiztondo, Pilar Lobera, Ismael Pellejero, Adela Eguizábal y Carlos Bueno, y a la imprescindible

Marta Giménez. Gracias a todos por vuestra amistad, entusiasmo y trabajo.

Los investigadores que sintetizamos nanomateriales para Medicina no tendríamos ningún impacto si no hubiese otros investigadores dispuestos a probarlos en aplicaciones biológicas. Por eso quiero expresar mi reconocimiento a los grupos del ámbito biomédico con los que colaboramos, ya sea dentro de la Universidad de Zaragoza (los dirigidos por Miguel Ángel de Gregorio, Luis Luján y Pilar Martín Duque), en el CIBER-BBN (en especial los grupos de Nuria Vilaboa en el Hospital La Paz, Carles Arús en la Universidad Autónoma de Barcelona y Pilar Marco del CSIC) o fuera de España, donde merece una mención destacada el grupo del Prof. Robert Langer en el MIT.

## NOTA METODOLÓGICA

A lo largo de este texto se ha procurado dar una visión general, aunque necesariamente simplificada, de los aspectos principales de la Nanomedicina, entendida desde la perspectiva de la aplicación de los nanomateriales en el ámbito médico. Aunque esta Lección Inaugural está dirigida a un público general, en algunos casos ha sido inevitable recurrir a términos especializados, que se han explicado solo sucintamente o no se han explicado en absoluto, en aras de la brevedad del texto. Tampoco se han podido eludir determinados términos en inglés, (que en el texto aparecen en cursiva), allí donde se han convertido en el término habitual para designar un concepto específico en Nanomedicina. Las abreviaturas se han definido en el momento de su primer uso, y además se ha incluido un apartado específico de nomenclatura al final del texto, donde también se recogen los términos en inglés con su correspondiente traducción.

En cuanto a la bibliografía citada, se ha tratado de dar preferencia a revisiones críticas recientes que puedan dar una idea al lector interesado del estado de un tema concreto. Para mantener el número de referencias dentro de límites razonables, a la hora de ilustrar con ejemplos un

desarrollo concreto casi siempre se ha citado un solo trabajo representativo. Por razones de conveniencia, una parte significativa de los ejemplos que se citan se han tomado de nuestro propio laboratorio, o de investigaciones realizadas por colegas del Instituto de Nanociencia de Aragón (INA). Se ha utilizado una notación simplificada, con las abreviaturas habituales de los nombres de las revistas y solo la página inicial del artículo. Los nombres de los autores se citan hasta un máximo de tres, sustituyéndose por el nombre del primer autor seguido de «y cols.» en artículos de cuatro o más autores.

## NOMENCLATURA

- AFM: microscopio de fuerza atómica (*Atomic Force Microscope*).
- CAGR: tasa compuesta de crecimiento anual (*Compound Annual Growth Rate*).
- CDD: suministro controlado de fármacos (*Controlled Drug Delivery*).
- CIBER-BBN: Centro de Investigación Biomédica en Red-Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina.
- CT: tomografía computerizada de rayos X (*Computerized Tomography*).
- EPR: permeabilidad y retención aumentada en tumores (*Enhanced Permeability and Retention*).
- FDA: Agencia Federal de Medicamentos de los Estados Unidos (*Federal Drug Agency*).
- FP7-NMP: subprograma de Nanociencia, Nanotecnologías, Materiales y Nuevas Tecnologías de Producción dentro del 7.º Programa Marco de la Unión Europea.
- MDR: mecanismos de resistencia múltiple a fármacos (*Multiple Drug Resistance*).
- MIT: Instituto Tecnológico de Massachusetts (*Massachusetts Institute of Technology*).
- MRI: resonancia magnética de imagen (*Magnetic Resonance Imaging*).

- NIH: Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos (*National Institutes of Health*).
- NIR: radiación con una longitud de onda correspondiente a la región del infrarrojo cercano (*Near Infrared Radiation*).
- NNI: Iniciativa Nacional en Nanotecnología de los Estados Unidos (*National Nanotechnology Initiative*).
- PEG: polietilenglicol.
- PET: tomografía de emisión de positrones (*Positron Emission Tomography*).
- PLA: ácido poliláctico (*Poly[lactic acid]*).
- PLGA: ácido poli(láctico-co-glicólico) (*Poly(lactic-co-glycolic acid)*).
- PSA: antígeno prostático específico (*Prostate Specific Antigen*).
- QD: punto cuántico (*Quantum Dot*).
- siRNA: ARN pequeño de interferencia (*small interfering RNA*).
- SPION: nanopartícula de óxido de hierro superparamagnética (*Super-Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticle*).
- STM: microscopio de efecto túnel (*Scanning Tunneling Microscope*).
- TAC: tomografía axial computerizada.



## REFERENCIAS

- [1] M. C. Roco, C. A. Mirkin, M. C. Hersham. Nanotechnology Research Directions for Societal Needs in 2020. Retrospective and Outlook. National Science Foundation/World Technology Evaluation Center report, Springer (2010).
- [2] <http://www.nano.gov/nanotech-101>
- [3] M. Gleiche, H. Hoffschulz, S. Lenhert. Nanotechnology in consumer products. Nanoforum report (2006). Publicado por nanoforum.org, European Nanotechnology Gateway.
- [4] L. E. Murr. *Materials Characterization*, 60 (2009), 261.
- [5] M. Reibold y cols. *Nature*, 444 (2006), 286.
- [6] G. Binnig, H. Rohrer. *IBM Journal of Research and Development*, 30 (1986), 4.
- [7] V. Sebastián, M. Arruebo, J. Santamaría. *Small*, 10 (2014), 835.
- [8] A. Maynard. *Nature*, 444 (2006), 267.
- [9] <http://www.nanotechproject.org/cpi/>
- [10] H. Flynn, D. Hwang, M. Holman. Nanotechnology Update: Corporations Up Their Spending as Revenues for Nano-enabled Products Increase. Lux Research Report (2014).
- [11] R. A. Freitas. *Nanomedicine*, 1 (2006), 2.
- [12] R. Lehner y cols. *Nanomedicine*, 9 (2013), 742.

- [13] Nanotechnology in medical applications: the global market. BBC Research ([www.bccresearch.com](http://www.bccresearch.com)). Report HLC069B, (2012).
- [14] <http://www.etp-nanomedicine.eu/public/about-nanomedicine/european-funding>
- [15] <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/2859>. V. Wagner, B. Hüsing, S. Gaisser. Nanomedicine-Drivers for development and possible impacts. JRC Publication JRC46744 (2008).
- [16] [ftp://ftp.cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/nanomedicine\\_visionpaper.pdf](ftp://ftp.cordis.europa.eu/pub/nanotechnology/docs/nanomedicine_visionpaper.pdf). European Technology Platform on Nanomedicine. Nanotechnology for Health - Vision Paper and Basis for a Strategic Research Agenda, (2005).
- [17] R. Roszek, W. H. de Jong, R. E. Geertsma. Nanotechnology in medical applications: state of the art in materials and devices. RVIM report, National Institute for Public Health and the Environment. Holanda (2005).
- [18] J. N. Nam, C. S. Thaxton, C. A. Mirkin. *Science*, 301 (2003), 1884.
- [19] J. E. Rosen y cols. *J. Nanomed. Nanotechnol.*, 2:5 (2011).
- [20] M. Benezra y cols. *J. Clin. Investig.*, 121 (2011), 2768.
- [21] H. I. Jung y cols. *Bioconjug. Chem.*, 15 (2004), 983.
- [22] J. D. Kingsley y cols. *J. Pharm. Res.*, 7 (2013), 200.
- [23] S. Eliyahu-Gross, R. Bitton. *Rev. Chem. Engng.*, 29 (2013), 159.
- [24] P. Lavalle y cols. *Adv. Mater.*, 23 (2011), 1191.
- [25] X. Wang, X. Cheng, Y. Yang. *Nature Methods*, 9 (2012), 266.
- [26] F. M. Martín-Saavedra y cols. *Biomaterials*, 35 (2014), 8134.
- [27] A. Solanki, J. D. Kim, K. B. Lee. *Future Medicine*, 3 (2008), 567.
- [28] K. C. Wu y cols. *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 14 (2013), 054401.
- [29] N. Barsoum, C. Kleeman. *Am. J. Nephrol.*, 22 (2002), 284.
- [30] R. Soltero, N. Ekwuribe. *Innov. Pharm. Technol.*, 106, Nov. (2001).
- [31] A. S. Hoffman. *J. Contr. Release*, 132 (2008), 153.
- [32] R. Langer, J. Folkman. *Nature*, 263 (1976), 797.
- [33] B. Díaz y cols. *Small*, 4 (2008), 2025.

- [34] M. L. Etheridge y cols. *Nanomedicine*, 9 (2013), 1.
- [35] K. Bourzac. *Nature*, 491 (2012), 558.
- [36] M. Arruebo y cols. *Nano Today*, 2 (2007), 22.
- [37] R. Fernández Pacheco y cols. *J. Magn. Magnet. Mater.*, 311 (2007), 318.
- [38] J. M. Montenegro y cols. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 65 (2013), 677.
- [39] S. Puertas y cols. *ACS Nano*, 5 (2011), 4521.
- [40] B. Pelaz y cols. *ACS Nano*, 6 (2012), 8468.
- [41] J. L. Markman y cols. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 65 (2013), 1866.
- [42] J. Conde y cols. *Biomaterials*, 34 (2013), 7744.
- [43] E. Fleige, M. A. Quadir, R. Haag. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 64 (2012), 866.
- [44] M. Arruebo, N. Vilaboa, J. Santamaría. *Expert Opin. Drug. Deliv.*, 7 (2010), 1.
- [45] T. Hoare y cols. *Nano Lett.*, 11 (2011), 1395.
- [46] B. P. Timko y cols. *Proc. Natl. Acad. Sci USA (PNAS)*, 111 (2014), 1349.
- [47] J. Verma, S. Lal, C. J. F. Van Noorden. *Int. J. Nanomed*, 9 (2014), 2863.
- [48] J. S. Murday y cols. *Nanomedicine*, 5 (2009), 251.
- [49] G. F. Goya, L. Asín, M. R. Ibarra. *Int. J. Hyperthermia*, 29 (2013), 810.
- [50] S. J. Oldenburg y cols. *Chem. Phys. Lett.*, 288 (1998), 243.
- [51] R. Weissleder. *Nature Biotechnol.*, 19 (2001), 316.
- [52] V. Cebrián y cols. *Nanomedicine*, 9 (2013), 646.
- [53] L. Gómez y cols. *Lab Chip.*, 14 (2014), 325.
- [54] A. J. Thorley, T. D. Tetley. *Pharmacol. Therapeut.*, 140 (2013), 176.
- [55] <http://nano.cancer.gov/learn/now/safety.asp>
- [56] J. P. Ryman-Rasmussen y cols. *Nature Nanotech.*, 4 (2009), 747.
- [57] J. K. Limbach y cols. *Env. Sci. Technol.*, 41 (2007), 4158.
- [58] F. Balas y cols. *Nature Nanotech.*, 5 (2010), 93.
- [59] N. Desai. *AAPS J.*, 14 (2012), 282.
- [60] J. F. Hainfeld y cols. *Br. J. Radiol.*, 79 (2006), 248.
- [61] Y. Wang y cols. *Nanolett.*, 13 (2013), 581.



# ÍNDICE

Introducción .....	9
La Nanomedicina .....	15
Diagnóstico nanoasistido .....	19
Nanotecnología e ingeniería de tejidos .....	31
Nanotecnología y administración de fármacos .....	39
Terapia nanoasistida sin fármacos .....	53
Nanotoxicidad .....	59
Consideraciones finales .....	61
Agradecimientos .....	65
Nota metodológica .....	67
Nomenclatura .....	69
Referencias .....	71



*Este libro se terminó de imprimir  
en el Servicio de Publicaciones  
de la Universidad de Zaragoza  
el 10 de septiembre de 2014*

