



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: APLICACIONES BIOMÉDICAS
DE NANOPARTÍCULAS DE ORO
EN EL CÁNCER**

Autor: Álvaro Castaño Casado

Fecha: Julio 2020

Tutor: M. Victoria Cabañas Criado

Resumen

Las nanopartículas de oro (AuNPs) existen desde el siglo XIX. Sin embargo, no fue hasta el siglo XX cuando se empezó a hablar de ellas, se consiguieron imágenes de estas nanopartículas y se pudo controlar su forma, su tamaño y sus propiedades. Desde entonces, debido a sus características estas han demostrado tener una amplia variedad de aplicaciones en la biomedicina. Particularmente, la gran superficie específica, sus propiedades cuánticas y la versatilidad de las AuNPs las hace especialmente interesantes para el tratamiento del cáncer. Estas nanopartículas una vez funcionalizadas y protegidas pueden ser usadas tanto en el diagnóstico como en el tratamiento del cáncer mediante una amplia gama de técnicas obteniendo resultados más positivos que mediante los métodos convencionales.

En este trabajo se recogen las propiedades y características de las AuNPs, los métodos más importantes de síntesis, diversas formas de protección y funcionalización, los tipos más utilizados de AuNPs, su toxicidad y las técnicas más importantes de diagnóstico y tratamiento del cáncer utilizando estas nanopartículas.

1. Introducción y antecedentes

La nanotecnología es una ciencia multidisciplinar en la cual se combinan la bioquímica, la física y la ciencia de materiales y que ha encontrado una amplia gama de aplicaciones a nivel de la biomedicina.¹ Fue en 1976 cuando en forma de nuevo adyuvante se habló por primera vez de las nanopartículas (NPs). Se definen las NPs² como aquellas partículas que presentan las tres dimensiones entre aproximadamente 1 y 100 nm (National Nanotechnology Initiative² y Royal Academy of Engineering³). A pesar de esto, es cierto que no todas las NPs que se definen como tal y que se usan en fines médicos cumplen con esta característica.³ De hecho no existe ninguna razón específica para usar los 100 nm como límite superior. Aunque es cierto que a partir de un micrómetro ya se habla de micropartículas.² El único principio para diferenciar las NPs de aquellas partículas que no lo son es que estas pueden presentar una serie de propiedades que los materiales en “*bulk*” normalmente no tienen.²

Entre estas propiedades podemos distinguir: la gran superficie específica⁴ y sus propiedades cuánticas, que las hace interesantes para las aplicaciones biomédicas.³ La gran superficie específica (relación superficie/volumen) permite a los nanomateriales, cargar fármacos, genes o cualquier otro resto biológico de manera que se aumentará su solubilidad, su estabilidad y sus parámetros farmacocinéticos⁴. Esta relación superficie volumen es además muy importante para entender el comportamiento de las NPs respecto a sus propiedades térmicas, mecánicas y químicas.⁵ Debido a su pequeño tamaño, estas pueden pasar de manera eficaz a través de los capilares para llegar a las células diana.⁴ Por otro lado, las propiedades cuánticas tienen una gran importancia en las características ópticas y magnéticas.⁵ También son interesantes, en el caso de las aplicaciones biomédicas la buena biocompatibilidad y su facilidad para ser funcionalizadas.⁶

Hay que tener en cuenta que la forma en la que se encuentren los nanomateriales influye en sus propiedades. Por ejemplo, si se encuentran presentes en suspensiones tienden a formar coloides, los cuales presentan además de una gran superficie específica, una mayor área de contacto entre la nanopartícula y el medio que le rodea, de modo que las interacciones se facilitan y aumenta la capacidad de catalizar reacciones. Es por esto que las NPs, en su forma coloidal son especialmente atractivas en la investigación y la ciencia aplicada.

Podemos clasificar a las NPs en función de su composición en inorgánicas (NPs de oro, de sílice mesoporosa, de óxidos de hierro y nanotubos de carbono) y en orgánicas (dendrimeros, micelas, liposomas y poliméricas). Aunque también es posible que se den algunas NPs que sean una combinación de ambos tipos, conocidas como NPs híbridas.⁷

En este trabajo nos vamos a centrar en las nanopartículas de oro (AuNPs) debido a que presentan un enorme potencial en el diagnóstico y en el tratamiento del cáncer. Además, en estos últimos años se ha dedicado un gran esfuerzo al desarrollo de la nanotecnología para aplicaciones biológicas y médicas.⁸

2. Objetivos

Debido a que las aplicaciones biomédicas de las AuNPs en el cáncer han sufrido un desarrollo muy rápido durante los últimos años y apuntan hacia un futuro prometedor, este trabajo tiene como objetivo recopilar mediante una revisión bibliográfica las aplicaciones de las mismas en la patología cancerígena, ya sea su diagnóstico o su tratamiento. Además de las propiedades y características que las hacen interesantes en este campo.

3. Materiales y métodos

Para elaborar este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica de los artículos relacionados con las características y propiedades de las AuNPs, así como sus aplicaciones en el cáncer, publicados en bases de datos como PubMed, Google Académico y Science Direct. Se ha hecho especial hincapié en aquellos publicados los últimos 10 años con el fin de obtener los resultados más actualizados que muestren los avances en la nanotecnología del oro para el tratamiento del cáncer en estos últimos años.

Como palabras clave en la búsqueda, caben destacar: gold nanoparticles, gold nanoparticles synthesis, gold nanoparticles and cancer diagnosis, gold nanoparticles and cancer therapeutic, gold nanoparticles and cancer theragnostic y gold nanoparticles toxicity and functionalization.

4. Resultados y discusión

4.1. Nanopartículas de oro

Las AuNPs existen desde que, en el siglo XIX, Michael Faraday publicó el primer artículo sobre su síntesis. Aunque no fue hasta finales del siglo XX que mediante las técnicas de microscopía electrónica de transmisión (TEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM) se obtuvieron imágenes de estas nanopartículas, además del control de sus diferentes propiedades y características.⁹

Una de las características ventajosas de las AuNPs frente a las demás NPs es la versatilidad sintética lo que permite un fácil control de la forma y el tamaño de estas, de modo que se pueden obtener AuNPs de diferentes morfologías que ofrecen propiedades eléctricas, químicas y ópticas únicas. Este es uno de los motivos por los que han sido utilizadas para una amplia variedad de aplicaciones biomédicas como pueden ser: diagnóstico y terapia.¹⁰

4.1.1. Síntesis

Los dos métodos más comunes de síntesis de AuNPs son: el método Turkevich y el método Brust – Schiffrin:⁹

- Método Turkevich: se basa en la reducción de una solución acuosa de HAuCl_4 con citrato y es el método preferido para la preparación de AuNPs que posteriormente serán funcionalizadas.¹¹
 - En este método, se calienta una solución acuosa de HAuCl_4 y después se añade una solución de citrato de sodio dihidrato agitando vigorosamente. Los iones citrato reducen los iones Au (III) para producir Au (0) y además actúan como un agente estabilizador cubriendo la superficie de las AuNPs evitando que se agreguen. Después de unos minutos se obtiene una suspensión coloidal de color rojo vino cuyas partículas de oro presentan un tamaño de alrededor de 20 nm. Podemos controlar el tamaño de las AuNPs al controlar la relación citrato/Au (III): si aumentamos la concentración de citrato las AuNPs serán de menor tamaño y viceversa. También controlando la temperatura y el pH podemos influir en el tamaño y la forma de las AuNPs obtenidas mediante este método.¹²
- Método Brust – Schiffrin: se trata de un método de reducción en dos fases que permite la preparación de AuNPs altamente estables y protegidas por alcanetioles.¹²
 - Este método tuvo un impacto considerable ya que permitió por primera vez la preparación de manera sencilla de racimos de oro estables térmicamente y al medio, con dispersión de tamaño reducido y control de tamaño en el rango de 1,5 a 5,2 nm.¹¹
 - La preparación de las AuNPs se basa en la reducción de HAuCl_4 por una solución acuosa de NaBH_4 en un sistema de dos fases (agua – tolueno) y en presencia de un agente de transferencia de fase (bromuro de tetraoctilamonio) y un grupo tiol.¹¹
 - En primer lugar, se mezcla una solución acuosa de un precursor del oro, el HAuCl_4 , con un disolvente orgánico, el tolueno, y posteriormente el precursor de oro se transfiere a la fase orgánica mediante el bromuro de tetraoctilamonio. Posteriormente, se agrega dodecanotiol a la fase orgánica como ligando protector para las NPs y una solución acuosa de NaBH_4 que actuará como agente reductor, de modo que los iones Au (III) se reducen obteniendo una solución de AuNPs de color marrón oscuro en el tolueno. Las NPs obtenidas son altamente estables y pueden manipularse permitiendo que se precipiten, que se redisuelvan, que se almacenen en forma de polvo y que puedan cromatografiarse sin cambios en sus propiedades.¹²
 - Este método de dos fases ha triunfado sobre muchas otras alternativas debido a su simplicidad, que permitió la preparación de AuNPs en cantidades relativamente grandes.¹³
- Además de estos dos métodos existen otros: electrosíntesis de AuNPs, el proceso mecano-químico en fase sólida¹², síntesis verde de AuNPs (ecológica) y la síntesis microbiana de AuNPs.¹⁴

4.1.2. Protección y funcionalización.

Una vez formadas las AuNPs son inestables y pueden sufrir agregación para posteriormente precipitar como polvo de oro. Sin embargo, las AuNPs pueden estabilizarse mediante el uso de agentes protectores que las recubran y eviten la agregación manteniéndolas separadas entre sí. Entre los agentes estabilizadores más comunes encontramos: tioles, citrato, tensioactivos, polímeros y diferentes tipos de ligando quelantes. Estos agentes protectores presentan por norma general grupos polares que se unen a la superficie de las AuNPs y un componente voluminoso que proporciona el aislamiento espacial de la nanopartícula. Además de proporcionar estabilidad también mejoran la solubilidad y permiten un ensamblaje ordenado de las NPs.

Los alquiltioles son uno de los mejores agentes protectores para las AuNPs. Estas moléculas tioladas forman una monocapa autoensamblada en la superficie, al unirse al metal a través de un enlace tiol – oro. Se pueden poner una gran variedad de moléculas en la superficie de la AuNP, lo que se puede lograr durante la síntesis o mediante reacciones posteriores a la síntesis.

Además de los tioles existen otros agentes protectores que permiten que las AuNPs sean introducidas en el organismo sin causar efectos secundarios como por ejemplo: ácido fólico, poliacrilamida, polivinilpirrolidona, poli ácido acrílico o poli clorhidrato de alilamina.¹⁵

En muchos casos para poder utilizar las AuNPs además de requerir de los agentes estabilizantes, es necesario que se funcionalicen con compuestos o restos funcionales que permitan que las AuNPs realicen su función. En algunos casos el propio agente protector presenta restos funcionales adecuados para realizar la actividad específica que se requiere para la nanopartícula, pero en otros casos es necesario incorporar otras moléculas en la superficie de las NPs o bien en el agente protector. Por tanto, para que las AuNPs puedan realizar sus diversas aplicaciones es necesario que sean protegidas y funcionalizadas (*Figura 1*) con los agentes modificadores de la superficie adecuados.¹²

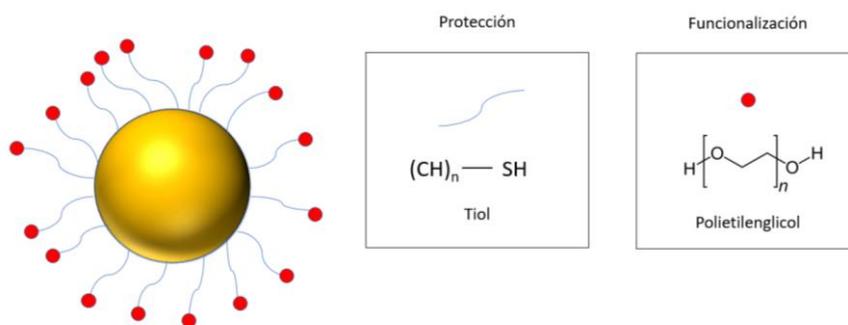


Figura 1. Nanopartícula de oro protegida y funcionalizada.

La funcionalización de las AuNPs es uno de los aspectos esenciales, junto con su tamaño y forma, que establece el destino de las partículas tras su administración. Las modificaciones de superficie proporcionan interacciones específicas con las células, biocompatibilidad mejorada y transporte y acumulación dirigidos en los órganos deseados. También pueden tener un gran efecto en la vida media de las AuNPs en la sangre, evitando su eliminación por las células del sistema fagocítico mononuclear, también conocido como sistema retículo endotelial (RES). Las modificaciones de la superficie tienen el potencial de “enmascarar” las AuNPs frente al RES,

lo que proporciona un mayor tiempo de circulación en sangre y les ayuda a llegar al sitio de acción. Hay que tener en cuenta que la funcionalización puede afectar a las propiedades ópticas de las AuNPs, de modo que debe considerarse al diseñarlas para aplicaciones específicas, por ejemplo, en terapia fototérmica o de radiofrecuencia. Esta funcionalización podemos conseguirla mediante la adsorción física o la unión covalente de ligandos en la superficie de las NPs, generalmente a través de enlaces de tiol.

Uno de los compuestos más utilizados para la funcionalización de AuNPs es el polietilenglicol (PEG), el cual se une covalentemente a los átomos de la superficie de las AuNPs. El PEG tiene un papel significativo a la hora de ayudar a las AuNPs a acumularse en los tumores frente a otros tejidos y además se ha demostrado su capacidad de provocar cierta actividad citotóxica en las células cancerosas humanas. Sin embargo, las AuNPs recubiertas con PEG pueden producir apoptosis e inflamación aguda de las células hepáticas lo que indica que el revestimiento mediante PEG no siempre garantiza la biocompatibilidad total.¹⁵

Además del PEG existen otros agentes funcionalizadores dirigidos como pueden ser anticuerpos monoclonales, proteínas, péptidos, ligandos de ácido nucleico (como los aptámeros) y pequeñas moléculas como el ácido fólico que también pueden ser usadas en la funcionalización de AuNPs.¹⁶

4.1.3. Propiedades

Las AuNPs presentan una serie de propiedades, al igual que el resto de nanomateriales, que son distintas a las que presentan los materiales en “bulk”. Entre estas propiedades podemos distinguir: las propiedades ópticas, la gran superficie específica⁴ y la facilidad para funcionalizarse con tioles y aminas.¹⁰

Dentro de las propiedades ópticas destaca principalmente la resonancia de plasmón de superficie (SPR) (Figura 2). Cuando una partícula metálica se expone a la luz, el campo electromagnético de la luz provoca una oscilación colectiva de los electrones del metal. Esta oscilación de electrones alrededor de la superficie de la partícula provoca una separación de carga con respecto a la red iónica, formando una oscilación dipolar a lo largo de la dirección del campo eléctrico de la luz. La amplitud de la oscilación alcanza el máximo a una frecuencia específica, llamada resonancia de plasmón superficie (SPR).¹⁷

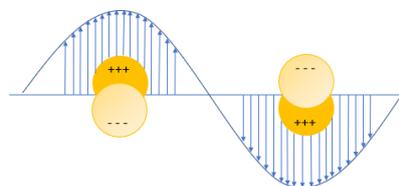


Figura 2. Representación de la resonancia de plasmón de superficie.

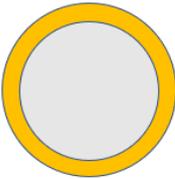
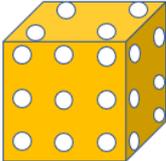
La longitud de onda en la que se dé el SPR puede variar desde la radiación UV hasta el infrarrojo cercano (NIR) pasando por la luz visible. En el caso de las aplicaciones biomédicas nos interesa que se dé con la luz NIR por lo que se podrán ajustar el tamaño (30 nm – 130 nm)¹⁰ y la forma de las AuNPs para que se de en ese rango.

Por otro lado, la gran superficie específica unida a la facilidad que tienen para funcionalizarse hace que sea también especialmente útil en el proceso conocido como “Drug delivery” (liberación de fármacos).¹⁰

4.1.4. Tipos de AuNPs

En la tabla 1 se recogen los tipos de AuNPs más importantes y que serán mencionados más adelante en el trabajo.

Tabla 1. Resumen de los principales tipos de AuNPs

Nanopartícula	Descripción	Forma
Nanoesferas	La nanoesfera es el tipo más simple de nanopartícula. Presenta únicamente un parámetro geométrico ajustable, el radio. ¹⁸	
Nanobarras	Es uno de los nanomateriales más utilizados para aplicaciones médicas debido a su alta absorción y dispersión de la luz en la región del infrarrojo cercano, que puede penetrar más profundamente en los tejidos biológicos, lo que permite su aplicación en terapias fototérmicas y fotodinámicas. ¹⁹	
Nanocapas	Se tratan de un tipo de AuNps compuestas normalmente por un núcleo de sílice recubierto por una fina capa de oro de unos pocos nanómetros. La longitud de onda de SPR de las nanocapas de oro se puede controlar cambiando el grosor de la capa externa de oro ¹⁷ . Son utilizadas principalmente en terapia fototérmica. ¹⁴	
Nanoceldas	Son un tipo de nanoestructuras de oro huecas y porosas. ²⁰ La dimensión y el grosor de la pared de estas nanoceldas de oro puede controlarse fácilmente durante la síntesis ²⁰ , de esta forma se podrá ajustar la longitud de onda de SPR ¹⁷ . Son utilizados principalmente para diagnóstico y terapia fototérmica. ¹⁴	

4.1.5. Toxicidad

A pesar de que la naturaleza inerte de las AuNPs las hace relativamente biocompatibles, es necesario tener en cuenta los posibles efectos adversos en la salud humana de estas NPs.⁴ La seguridad de los nanomateriales para aplicaciones “*in vivo*” es dudosa porque depende de varios parámetros, como el tamaño, la química de la superficie, la morfología, el objetivo biológico y la carga.

Las NPs cuando se encuentran en un medio biológico pueden adsorber proteínas de tal forma que se forme una capa alrededor de ella denominada “corona proteica”. Esto es importante debido a que esta corona proteica ejerce una influencia significativa en la absorción celular, la biodistribución y la toxicidad.⁵ Las opsoninas que se encuentran en su superficie serían

reconocidas por las células inmunes, de modo que estas actuarían sobre ellas. Para evitar que se forme la corona proteica se puede enmascarar la superficie de las AuNPs.⁴ Se han propuesto diferentes formas para enmascarar la nanopartícula aumentando la biocompatibilidad de las AuNPs. Entre las cuales encontramos el recubrimiento anfifílico, la unión de ligandos o la inclusión en una matriz portadora. Por un lado, el recubrimiento anfifílico lo hemos visto en el apartado de protección y funcionalización al hablar del recubrimiento mediante PEG y la unión de ligandos la hemos visto al hablar del uso del tiol. Por otro lado, la otra opción sería incorporarlas en una matriz portadora que puede estar hecha de polímeros o lípidos y puede ser liposomas, micelas, NPs de ácido glicólico y láctico (PLGA) o dendrímeros.²¹

Por último, para valorar la toxicidad es necesario tener en cuenta también que las AuNPs no son biodegradables⁴, por lo que hay que valorar el tiempo de exposición ya que, aunque estas NPs pueden parecer seguras para usos a corto plazo, su acumulación en exposiciones a largo plazo puede provocar efectos tóxicos.⁵

4.2. Aplicaciones de las AuNPs en el cáncer

Para que las AuNPs puedan ser utilizadas en el tratamiento y diagnóstico de tumores cancerígenos (*Figura 3*) es necesario que lleguen hasta el tumor. Existen dos métodos para que las AuNPs alcancen los tumores y que se queden retenidas en ellos: la vectorización pasiva y la vectorización activa.

- En la vectorización pasiva, las NPs circulantes llegan y se acumulan pasivamente en el tejido tumoral a través del “efecto mejorado de permeación y retención” (EPR). Este efecto se basa en las características patológicas típicas de los tejidos tumorales como son su vasculatura desorganizada y su permeabilidad y drenaje ineficaz. De esta forma las NPs se acumularán preferentemente en los tumores. Hay que tener en cuenta que el EPR es un fenómeno que varía de un tumor a otro y de un paciente a otro y además es necesario administrar una concentración alta de NPs para que se acumulen de manera suficiente en el tumor, lo que puede no ser clínicamente ideal ya que se pueden dar efectos adversos indeseados.¹⁶
- La vectorización activa se basa en la identificación específica de un ligando que se encuentra en la superficie de las NPs por los receptores que están sobreexpresados en las células tumorales. De hecho, estos ligandos dirigen las NPs hacia los receptores de superficie de las células cancerosas y consiguen una mayor absorción e internalización de las NPs a través de la endocitosis mediada por receptores.¹⁶ Por lo tanto el direccionamiento activo ofrece una mayor posibilidad de endocitosis que el direccionamiento pasivo.⁴ Un ejemplo de ligando para la liberación dirigida de productos terapéuticos en el tratamiento del cáncer sería el ácido fólico.¹⁶



Figura 3. Esquema de las principales aplicaciones de las AuNps en el cáncer.

4.2.1. Diagnóstico

El desarrollo de métodos para la detección temprana es importante para reducir el impacto de las enfermedades y mejorar las tasas de supervivencia,²¹ por lo que, el diagnóstico es esencial en la ciencia biomédica y en la práctica clínica para mejorar la atención médica.²²

Las AuNPs nos interesan en el diagnóstico debido a que pueden ser utilizadas en la fluorescencia, la fluorescencia mejorada en superficie (SEF) (también conocida como fluorescencia mejorada por metal [MEF]), en la tomografía computarizada¹⁶ y la dispersión Raman mejorada en superficie (SERS)²², debido a las propiedades comentadas anteriormente.²¹ La aparición de las AuNPs ha mejorado enormemente la sensibilidad, especificidad y tiempos de respuesta del diagnóstico molecular.⁶

4.2.1.1. Fotoimagen

La fotoestabilidad superior de las AuNPs en comparación con los tintes orgánicos las hacen extremadamente prometedoras para la imagen celular.¹⁷ Para realizar esta técnica se utilizan especialmente nanobarras, nanoceldas y nanocapas debido a su capacidad para proporcionar una mayor resolución espacial y temporal prefiriéndose NPs de mayor tamaño ya que la dispersión de la luz será mayor.⁴

Se trata de una técnica avanzada que puede ayudar a detectar tumores en la fase temprana y guiar a los cirujanos a la hora de realizar un tratamiento de precisión. La metodología consiste en inyectar millones de AuNPs funcionalizadas en el tumor, las cuales se podrán acumular ahí de manera pasiva o de manera activa. Por ejemplo, si presentan anti-EGFR se unirán a los receptores EGFR de las células cancerígenas de manera específica, y dispersarán la luz dando lugar a colores amarillos y verdes, facilitando el trabajo del cirujano a la hora de diferenciar las células cancerígenas de aquellas que no lo son.^{4,17}

Además de esto, las AuNPs son capaces de mejorar la fluorescencia de los agentes de contraste habituales en un proceso conocido como fluorescencia mejorada en superficie (SEF). La SEF ocurre como resultado de las interacciones entre el estado excitado de un emisor y el campo cercano de un metal que se excitará gracias a la acción de la radiación incidente sobre la (SPR). De esta forma, las nanoestructuras de Au pueden mejorar significativamente la fluorescencia de los fluoróforos cercanos.²² Tal es así que, se observa una fuerte fluorescencia con un rendimiento cuántico de hasta 10^{-3} en AuNPs (nanocapas y nanobarras), la cual se puede aplicar fácilmente en el campo biomédico puesto que se puede ajustar a la ventana del espectro infrarrojo cercano (NIR).²¹ Por ejemplo, se ha conseguido mejorar la fluorescencia de los fotosensibilizadores utilizando una nanoestructura con nanobarras de oro. La distancia de separación entre el núcleo de las nanobarras de oro y la molécula de porfirina se ajustó mediante el espesor de la cubierta de sílice. En las condiciones óptimas, se obtuvieron elementos de mejora de 2,1 y 11,8 para la fluorescencia de excitación de uno y dos fotones, respectivamente. Sin embargo, cuando un fluoróforo se encuentra demasiado cerca de los AuNPs, los beneficios de la excitación de SPR se eliminarán lo que da como resultado un apagado de la fluorescencia.²²

4.2.1.2. Tomografía computarizada.

La tomografía computarizada (TC) presenta una gran resolución espacial, penetración profunda de tejidos, buena disponibilidad y rentabilidad razonable.¹⁶

Las imágenes de TC se generan utilizando un tubo de rayos X y un detector, ubicados en lados opuestos del paciente, que se van rotando. El haz de rayos X se irá atenuando por los órganos a medida que pasa a través del cuerpo del paciente. Estas atenuaciones se miden mediante una serie de detectores y a través de técnicas de reconstrucción de imagen se generarán las imágenes de TC. Los agentes de contraste se usan ampliamente en estas imágenes para mejorar la eficiencia del procedimiento de diagnóstico. Por ejemplo, se usa normalmente un compuesto a base de yodo molecular. Sin embargo, este compuesto suele tener graves inconvenientes, como un bajo número atómico (en comparación con el oro), baja densidad de electrones, alta toxicidad renal, corto tiempo de circulación y falta de vectorización.¹⁶ Sin embargo, las AuNPs, debido a su mayor densidad de electrones y a su mayor número atómico, conducen a una gran absorción de la irradiación de rayos X, superior a la de los agentes de contraste convencionales a base de yodo que se usan en la clínica lo que implica que se conseguirá un mayor contraste. Además, las AuNPs pueden dirigirse a lugares específicos y ofrecen tiempos de circulación más largos que los agentes convencionales, permitiendo imágenes más prolongadas.²¹

Estas propiedades, han resultado en la investigación de las AuNPs como agentes de contraste para técnicas de imagen basadas en rayos X.²¹

4.1.2.3. Espectroscopía Raman de superficie mejorada

Debido a que en los tejidos la luz se dispersa mucho, el suministro de luz a los órganos internos puede mejorarse mediante métodos que utilizan la fibra óptica.²³ La espectroscopía Raman es una técnica utilizada para estudiar vibraciones moleculares, rotaciones y otros procesos. Los espectros Raman son altamente complejos y pueden usarse como “huellas dactilares” de moléculas, dando así la composición química de una muestra. Esta técnica presenta una alta especificidad pero está limitada por su sensibilidad.²¹

Se ha demostrado que la absorción de las AuNPs aumenta la intensidad de los espectros vibracionales de las moléculas en varios órdenes de magnitud. Este descubrimiento ha llevado a la aparición de una nueva técnica llamada espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS).²¹ Esta, está determinada por el tamaño de partícula, la forma, la composición, la distancia y la orientación relativa de la partícula. Para conseguir grandes mejoras de Raman, las AuNPs asimétricas, que dan una superficie de alta curvatura, son más favorables, como por ejemplo las nanobarras frente a las nano esferas.¹⁷ Un ejemplo de esto es el siguiente estudio sobre el SERS utilizando nanobarras de oro con el fin de diagnosticar células cancerosas frente a células normales. Las nanobarras de oro se conjugaron con anticuerpos anti-EGFR y luego se unieron específicamente a las células cancerosas humanas. De esta forma se consiguió un espectro Raman que es muy fuerte, mejorado debido al campo de plasmón de superficie del conjunto de las nanobarras agregadas.¹⁷

En comparación con otras técnicas de imagen, incluido el Raman tradicional, SERS tiene una serie de ventajas: alta sensibilidad, alta precisión, sin daños y sin invasión para la identificación molecular.⁶ En la siguiente figura (*Figura 4*) podemos ver un esquema de un SERS en el que se usan nanobarras de oro.

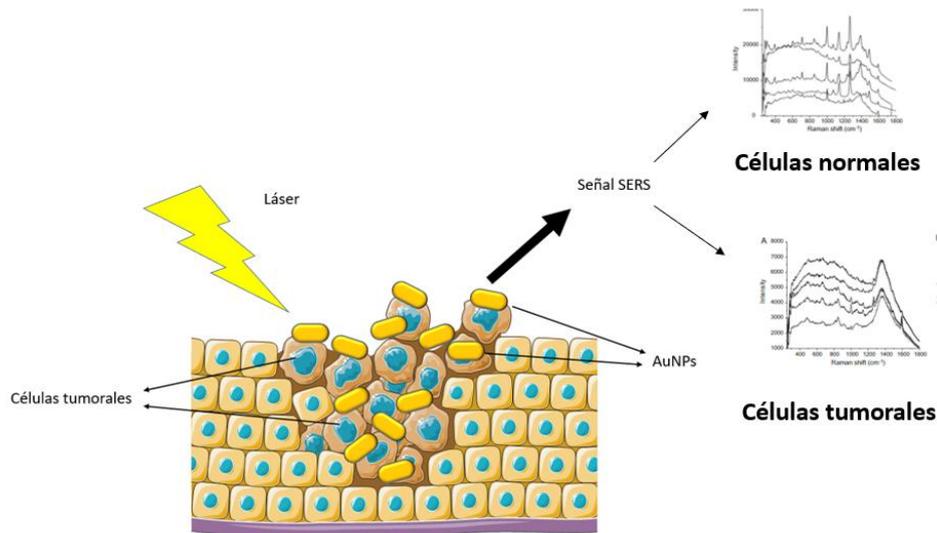


Figura 4. Esquema del SERS. Las AuNPs acumuladas en el tumor al recibir la energía del láser reflejan una señal que será captada por el detector.

4.2.2. Tratamiento

Actualmente, el tratamiento tradicional del cáncer está basado principalmente en medicamentos quimioterapéuticos que tienen como fin matar a las células cancerígenas. Sin embargo, estos tratamientos habitualmente presentan una serie de efectos adversos debido al daño causado a los tejidos sanos que rodean la zona en la que se encuentra el tumor y las células cancerígenas.⁴ Sin embargo, esto podría cambiar gracias a la aparición de las AuNPs.

4.2.2.1. Liberación de fármacos

Podemos definir la administración de medicamentos como un proceso de liberación de medicamentos biológicamente activos a cierta velocidad y en un lugar específico.⁶

Los métodos tradicionales de liberación de medicamentos quimioterapéuticos dan lugar a la diseminación del fármaco por todo el cuerpo de manera que solo una pequeña parte del fármaco llegará al lugar del tumor, lo cual puede causar efectos secundarios indeseados en órganos y tejidos sanos.⁴ Además, se puede producir una acumulación de los medicamentos en los órganos, debido a la escasa solubilidad y estabilidad de los mismos en la sangre, una circulación de vida media limitada y falta de unión específica del medicamento en aquellos sitios patológicos que nos interesan. De modo que lograr los efectos terapéuticos deseados implicaría la administración repetida y frecuente de grandes dosis, lo que lleva a una toxicidad inespecífica y a efectos secundarios adversos dependientes de la dosis.²³

Sin embargo, la conjugación de fármacos con nano-vectores presenta una serie de beneficios como son: una biocompatibilidad superior, circulación sanguínea prolongada, alta capacidad de carga de fármacos y potencial para superar la resistencia a distintos fármacos.¹⁶ Uno de los usos más prometedores de las AuNPs en la medicina es la liberación de fármacos²¹ (Figura 5), gracias a las propiedades de AuNPs anteriormente mencionadas. Las NPs pueden suministrar múltiples moléculas de fármacos, proteínas recombinantes, vacunas y nucleótidos en sus dianas y se puede controlar la liberación de fármacos a través de estímulos biológicos tanto internos (pH o glutatión) como externos (aplicación de luz).⁶ A la hora de llevar a cabo este

proceso de liberación hay que tener en cuenta que la eficiencia en el suministro depende del diámetro hidrodinámico de las partículas. El tamaño óptimo de las NPs para la administración de fármacos a los tumores es de aproximadamente 60 nm. Utilizando este tamaño es necesario $6,4 \times 10^{14}$ NPs cargadas de fármaco en su superficie para provocar el efecto terapéutico en humanos.²³ Estos fármacos o moléculas se conjugarán con AuNPs mediante enlaces iónicos, covalentes o bien mediante adsorción física.⁶ Se han ligado AuNPs con una gran variedad de sustancias antitumorales, tales como metotrexato, daunorubicina, 5-fluorouracilo, tamoxifeno, doxorubicina, entre otros.²³

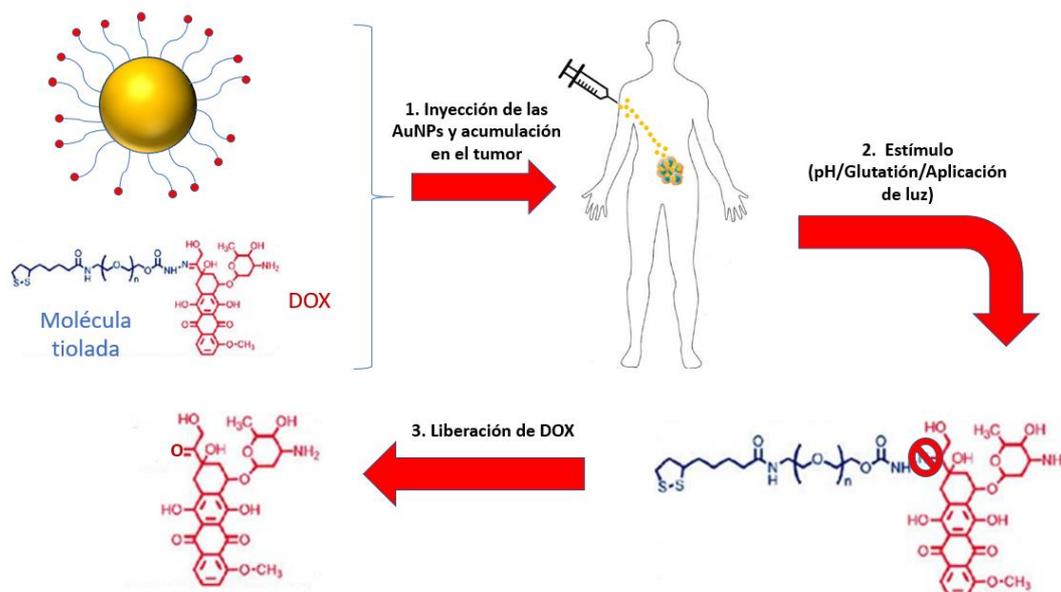


Figura 5. Ejemplo de liberación de doxorubicina (DOX) utilizando AuNPs.

Para finalizar, cabe indicar que esta terapia se puede combinar con métodos de diagnóstico en un proceso conocido como teragnosis. Por ejemplo, se ha desarrollado un bioconjugado formado por un aptámero cargado con DOX y una AuNP. Este conjugado se ha utilizado para realizar una combinación de imagen molecular mediante TC y tratamiento mediante liberación de fármacos.²⁴

4.2.2.2. Terapia fototérmica

El uso de la terapia fototérmica (PTT) para tratar el cáncer no es nuevo. El calor para tratar un tumor cancerígeno se lleva usando desde principios del siglo XX. En la terapia fototérmica tradicional, la región del cuerpo en la que se encuentra el tumor, se calienta de manera externa a aproximadamente entre 40 y 45°C, varios grados por encima de la temperatura fisiológica (37°C), utilizando instrumentos que producen campos electromagnéticos o ultrasonido.²⁵

Aprovechando las propiedades únicas que hemos visto anteriormente, la mayoría de los estudios de terapia contra el cáncer a base de AuNPs han utilizado la terapia fototérmica para la destrucción de células cancerosas o tejido tumoral, lo que puede ser potencialmente útil en el entorno clínico.²⁰ Esta técnica consiste en inducir radiación sobre AuNPs con una longitud de onda determinada provocando aumentos de la temperatura localizados, lo que conduce a la destrucción fototérmica de las células cercanas, ya que estos aumentos de temperatura causan la desnaturalización de las moléculas y daño celular.²¹ La muerte celular se producirá por apoptosis, o necrosis, o como últimamente sugiere la literatura, por un proceso

combinado. La principal diferencia con la terapia fototérmica tradicional es que gracias a las AuNPs las temperaturas locales pueden elevarse a decenas o cientos de grados por encima de la temperatura fisiológica en escalas de tiempo minúsculas y actuando únicamente en el área local. Gracias a esto, se consigue evitar los efectos secundarios producidos por la terapia fototérmica tradicional.²⁵

El proceso de calentamiento fototérmico en AuNPs consistiría en lo siguiente: la radiación del espectro infrarrojo absorbida por AuNPs excita electrones libres en la banda de plasmón, de modo que se crea un pulso de electrones a temperatura elevada. Este pulso de electrones calientes se enfriará rápidamente tras chocar con la red de oro, a través de interacciones electrón-fonón, calentando esta red a miles de grados en aproximadamente un femtosegundo.^{17,25} Una vez ha ocurrido esto, se pueden dar tres procesos distintos:

1. La red se enfría al pasar su calor al medio que le rodea a través de la relajación fonón-fonón. Este proceso conduce al calentamiento del medio circulante, por lo que sería el proceso que nos interesa.
2. La cantidad de calor que presenta la red es lo suficientemente grande como para que se produzca la fusión o la fragmentación de las NPs en nanosegundos.
3. El contenido de calor de la red es suficiente como para que se produzca la destrucción de las NPs en femtosegundos.¹⁷

En el caso de que ocurra la primera opción, el calor se transfiere de las NPs a su entorno a través de interacciones fonón-fonón en una escala de tiempo de aproximadamente cien femtosegundos, lo que resulta en un aumento de la temperatura del medio circundante de decenas de grados. Tras esto los electrones que se habían calentado inicialmente, se enfriarán volviendo a su temperatura habitual. Si utilizamos una fuente láser de onda continua, el calor que se genera en la red se disipará continuamente en el medio provocando que aumente su temperatura (*Figura 6*).

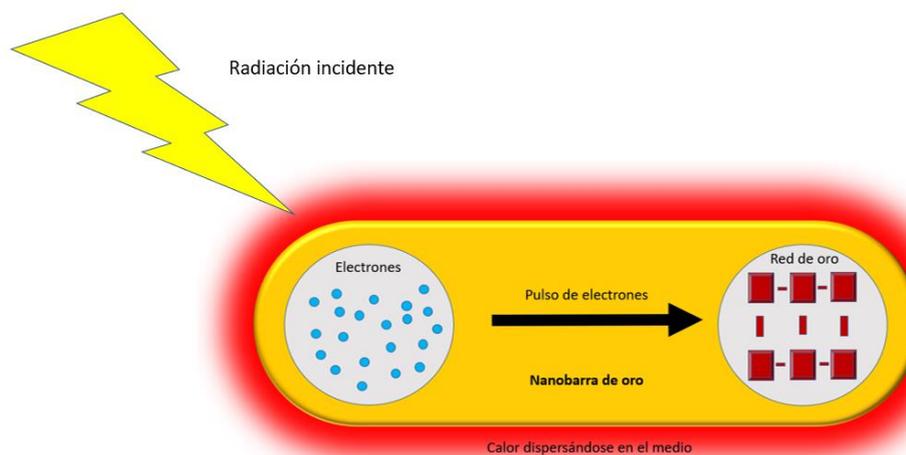


Figura 6. Esquema de la terapia fototérmica utilizando nanobarras de oro.

Debido a que este proceso requiere de la absorción de luz, el coeficiente de extinción de las NPs influirá en el cambio resultante en la temperatura ambiente. La absorbancia suele ser el mayor contribuyente al coeficiente de extinción y debido a que las AuNPs más pequeñas generalmente presentan secciones transversales de mayor absorbancia que las NPs más grandes, éstas serán más eficientes a la hora de calentarse a sí mismas y al medio.²⁵ De modo que se preferirían tamaños de partícula más pequeños ya que la luz así se absorbería más y se

transformaría en calor de manera más efectiva⁴. Por lo tanto, es recomendable considerar una serie de aspectos en el diseño de las NPs como la composición, la forma, el tamaño, el coeficiente de extinción, la carga superficial y su acumulación en el tumor. Pero no solo es importante centrarse en las características de las NPs, sino que también hay que incidir sobre aquellas que afectan a la irradiación como el tipo de láser, la longitud de onda, el tamaño del punto en el que se incide y la profundidad de la penetración de la luz. Todos estos factores pueden influir en la muerte de las células cancerosas “*in vitro*” e “*in vivo*”.

Se llevó a cabo un estudio mediante el que demostraron la destrucción fototérmica “*in vivo*” de tumores de colon murino. En este caso, se trataban de tumores pequeños (5,5 mm), y la irradiación con láser se realizó 6 h después de la inyección intraperitoneal de las nanocapas de oro para dar tiempo a que las NPs se acumularan en los tumores. La irradiación con láser NIR (808 nm, 4 W / cm², 3 min) dió como resultado temperaturas tumorales de aproximadamente 50°C, que fueron significativamente mayores que las de los tumores control sin nanocapas. Diez días después del tratamiento, los tumores desaparecieron y todos los ratones permanecieron sanos y sin tumores durante 90 días. Por el contrario, todos los controles demostraron un crecimiento tumoral relevante y tuvieron un tiempo medio de supervivencia de tan solo 10 días.

Actualmente el único sistema de tratamiento fototérmico a base de AuNPs que ha progresado en los ensayos clínicos, se basa en nanocapas de oro de 150 nm funcionalizadas con PEG–tiol, las cuales inyectadas por vía intravenosa circulan por la sangre acumulándose en los tumores a través del efecto EPR. Tras esto se utiliza un láser NIR de fibra óptica el cual se inserta a través de la piel dentro o cerca del tumor para que las radiaciones actúen sobre las AuNPs causando la muerte de las células cancerígenas y la regresión del tumor.

Esta terapia frente al cáncer resulta atractiva por una serie de características: la escalabilidad en la producción, la penetración tumoral, la destrucción efectiva del cáncer y la demostración de toxicidad “*in vivo*” a largo plazo entre baja y nula.²⁵ Aunque a pesar de eso deben resolverse varios problemas importantes antes de que la PTT pueda usarse en la práctica oncológica como por ejemplo, mejorar la especificidad de la acumulación de las AuNPs funcionalizadas en los tumores disminuyendo su acumulación en el sistema reticuloendotelial, así como, mejorar la vectorización eficiente a los tumores.²³ Además de estos, también existen otros problemas importantes asociados al uso de la PTT con AuNPs como, por ejemplo, en los estudios con AuNPs factores como el tamaño, la forma, el recubrimiento de la superficie, la dosis inyectada, el modelo animal y el modelo de cáncer son diferentes y pueden hacer que la comparación entre los estudios sea complicada. Además la síntesis de nanomateriales es irreproducible y no existen dos lotes de NPs iguales, por lo que la variación en la estructura y composición de NPs puede afectar a la capacidad de penetración en el tumor y a la eficiencia del calentamiento fototérmico.²⁵

A pesar de los problemas mencionados, se puede usar junto con otros tratamientos frente al cáncer como la quimioterapia, la radioterapia e incluso la inmunoterapia para mejorar la destrucción del tumor ya que el calentamiento sensibiliza a las células cancerosas frente a otros tratamientos.^{10,25} Por ejemplo, se pueden utilizar agentes de PTT como vehículos de liberación de fármacos. Se desarrollaron nanoceldas de oro cargadas con doxorrubicina para realizar PTT y quimioterapia combinadas lo cual fue más efectivo que cualquier tratamiento por si solo “*in vivo*” y además redujo la toxicidad sistémica de la doxorrubicina.²⁶ Así mismo, la PTT puede provocar una respuesta inmune, la cual se puede combinar con inmunoterapia

obteniendo mejores resultados. Por ejemplo, se descubrió que tras usar la PTT con nanocapas de oro en el tratamiento de un tumor esta fue seguida por un aumento sistémico en las citocinas inflamatorias, como IL-6 e IL-1 β , lo que sugiere que la PTT puede producir efectos inmunoestimulantes. Para probar esto, se transfirieron células T tras la PTT. La combinación de la PTT junto a estas células T provocó la inhibición de la recurrencia del tumor primario después de la ablación e inhibió el crecimiento tumoral en sitios distantes.²⁶ Además, se puede usar en técnicas de teragnosis. Por ejemplo, se usaron unas nanobarras de oro conjugadas con un anticuerpo anti-EGFG las cuales tras acumularse en el tumor fueron usadas para la PTT. Gracias a la luz que se dispersaba las nanobarras eran claramente visibles de modo que las células cancerígenas se podían distinguir de las células no cancerígenas.²⁴

Por último, cabe mencionar que existe una técnica cuyo proceso es parecido a la PTT, denominada radiofrecuencia térmica. Las AuNPs generarán calor con el fin de destruir las células tumorales, pero en este caso la diferencia es que para generar el calor en lugar de utilizarse el NIR se utilizará la radiofrecuencia.²⁵

4.2.2.3. Terapia fotodinámica

Se trata de una forma de tratamiento del cáncer que utiliza luz, fotosensibilizadores y oxígeno de los tejidos. A diferencia de la PTT, que es independiente del oxígeno, la terapia fotodinámica (PDT) depende completamente de la disponibilidad de oxígeno en los tejidos.

El proceso consiste en inyectar vía intravenosa en los tejidos tumorales un agente fotosensibilizante, el cual se excita mediante longitudes de onda específicas consiguiendo una transferencia de energía que genera especies reactivas de oxígeno (ROS) y provoca la muerte celular por apoptosis (*Figura 7*). PDT tiene sus propias ventajas debido a su invasividad mínima, la ausencia de toxicidad acumulativa y la reducción de la morbilidad. Además, la probabilidad de la PDT de causar mutaciones es muy baja debido a que las ROS no se acumulan en los núcleos celulares. Sin embargo, el mayor inconveniente de la PDT es que los fotosensibilizadores no son fácilmente absorbidos por los tejidos enfermos, ya que generalmente no son solubles en el entorno fisiológico. Sin embargo, algunos estudios muestran que estos fotosensibilizadores se pueden conjugar con las AuNPs, lo que facilita su absorción y entrega a los tejidos cancerosos.

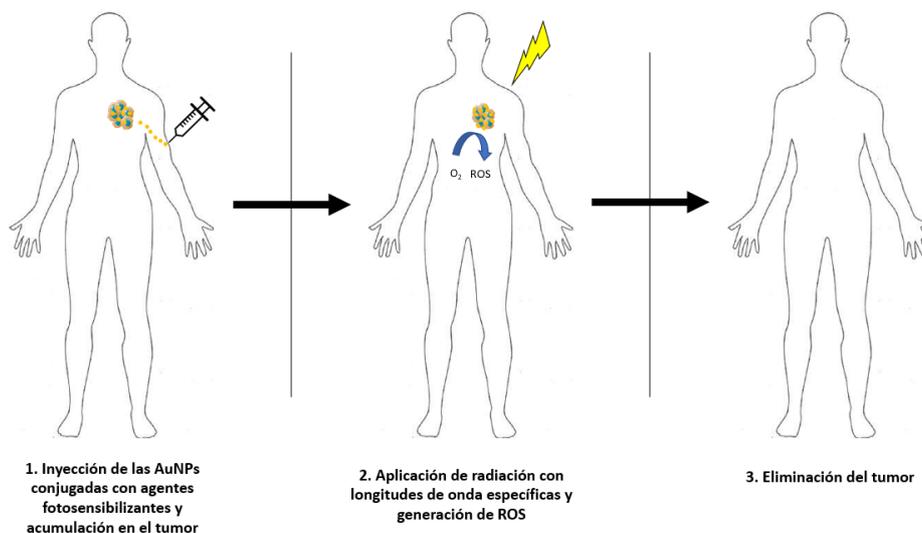


Figura 7. Ejemplo de terapia fotodinámica.

Además, se ha demostrado que el ambiente hipóxico causado por la PDT no afecta a la PTT ya que la PTT es una terapia independiente del oxígeno, de modo que la PDT y la PTT se pueden combinar para tener una terapia dual efectiva.⁴ También se ha comprobado que se puede usar en teragnosis. Por ejemplo, se han desarrollado nanobarras de oro recubiertas con ácido poliestireno/maleico, un fotosensibilizador (verde de indocianina) y anti-EGFR que sirven como agentes dirigidos a tumores para destruir células malignas mediante terapia fotodinámica (PDT), y como agentes de contraste óptico para monitorear simultáneamente las células mediante imágenes en la región NIR.²⁴

4.2.2.4. Radioterapia

La radioterapia (RT), sola o en combinación con cirugía y/o quimioterapia, es uno de los principales métodos para el tratamiento del cáncer. Tal es así que, más de la mitad de los pacientes con cáncer se someten a radioterapia.¹⁶

En la radioterapia es la radiación (rayos X, rayos γ y partículas cargadas de movimiento rápido como iones, electrones y protones) la que induce daños en el ADN matando a las células cancerosas. En esta técnica se utilizan dispositivos especiales que irradian el tumor desde varios ángulos, con el objetivo de maximizar la dosis de radiación en el tumor y minimizarla en tejidos sanos.²¹ Lo que ocurre es que, tras la exposición a la radiación ionizante (IR), los sistemas biológicos se someten a una serie de procesos que se pueden dividir en tres etapas: física, química y biológica.

- Durante los primeros nanosegundos de exposición tiene lugar la fase física, en la cual la IR interactúa con las biomoléculas generando radicales libres.
- Posteriormente comienza la fase química en la cual los radicales generados anteriormente experimentan reacciones rápidas tratando de eliminarles para así reparar el daño generado y restablecer el equilibrio de la carga celular.
- Por último, en la fase biológica se activan una serie de procesos celulares para reparar el daño inducido por la radiación. En el caso de que se dé un fallo en los procesos de esta última fase es cuando tendrá lugar la muerte celular.¹⁰

Para lograr que la dosis sea máxima en el tumor y mínima en los tejidos sanos se pueden utilizar agentes radiosensibilizadores o materiales potenciadores de la dosis. Las AuNPs se han introducido como un eficaz radiosensibilizador con grandes ventajas, debido a su mayor número atómico y su mayor sección transversal de absorción frente a otros materiales radiosensibilizantes como el yodo, el carbono, el platino y el gadolinio.¹⁶ Esto se basa en que la probabilidad de que la radiación interactúe con el material depende del número atómico (Z) del material de tal modo que cuanto mayor sea, mayor interacción habrá. El Au presenta un $Z = 79$ mientras que los tejidos blandos orgánicos se componen de átomos con un Z menor al del oro de modo que se puede explotar esta diferencia para entregar una cantidad significativamente mayor de energía por unidad de masa a las AuNPs aumentando la dosis local de radiación depositada en el tumor.¹⁰ Resumiendo, en términos terapéuticos, si un material con un Z elevado está presente en concentraciones más altas en el tumor que en el tejido normal, se debe lograr una mejora en el índice terapéutico,⁹ de modo que el objetivo será que las AuNPs se acumulen preferentemente en el tumor y emitan la radiación, la cual será absorbida por las células cancerosas matándolas.²¹

4.2.2.5. Inmunoterapia

La inmunoterapia se considera uno de los métodos más efectivos para tratar los tumores, y las NPs inmunoterapéuticas se están convirtiendo en una opción de tratamiento eficaz contra el cáncer debido a su alta especificidad, eficacia, capacidad de detección y efecto terapéutico.

Las AuNPs son prometedoras para la inmunoterapia del cáncer por varias razones. Las AuNPs en esta terapia se pueden usar para construir células artificiales presentadoras de antígenos las cuales pueden funcionalizarse mediante moléculas y proteínas coestimuladoras del complejo mayor de histocompatibilidad.²³ Además, se ha demostrado que las AuNPs por sí solas son capaces de estimular el sistema inmunitario.²⁶ Por ejemplo, mostraron una tendencia significativa a interactuar con las células dendríticas, con la posterior secreción de citocinas inmunoestimulantes (IL-1, IL-6, IL-12 y TNF- α) y la regulación negativa de las quimiocinas inmunosupresoras (TGF- β 1 e IL-10). Estas NPs mostraron un aumento 15 veces mayor en la cantidad de TNF- α secretado, lo que muestra que las NPs solas, pueden ser más efectivas para inducir respuestas inmunitarias que el antígeno libre asociado al tumor. Por lo tanto, pueden servir como adyuvantes que actúan junto a las células dendríticas y estimulan la producción de citocinas. En muchos casos se usan las AuNPs, principalmente nanoesferas, funcionalizadas con oligodesonucleótidos CpG.²³ Las moléculas de CpG son secuencias cortas de ADN que imitan el ADN bacteriano y estimulan las células inmunes a través de la interacción con TLR9. Por ejemplo, en un estudio se tomó AuNP de 15 y 30 nm y formó una capa autoensamblada de CpG tiolado para investigar los efectos inmunoestimuladores de las partículas de AuCpG. El grupo descubrió que las AuCpG inducían la producción de TNF α e IL-6. Además, descubrieron que utilizar como portador a las AuNPs hace que el sistema sea mucho más eficiente, con 15 veces más secreción de TNF estimulada por 30 veces menos CpG.²⁶ También, se han usado AuNPs con otras moléculas como inmunoterapia frente al cáncer como: el TNF- α , α PDL1, agonista de TLR7, inhibidor de TGF- β , anticuerpos específicos y otros factores de muerte de células tumorales y / o inmunoestimulantes obteniendo buenos resultados.

Por otro lado, los estudios con células dendríticas humanas mostraron el efecto de las AuNPs sobre la absorción e internalización celular, la maduración de las células dendríticas y la posterior diferenciación de las células T y su citotoxicidad. Las AuNPs recubiertas con antígenos tumorales y administradas en forma de vacunas, facilitan la maduración de las células dendríticas, y activación/maduración, migración - coestimulación de células T junto con la secreción de citocinas, que se conoce como ajuste de células dendríticas inducido por AuNPs o acción adyuvante en las células dendríticas.²³ Por ejemplo, en un trabajo se utilizaron AuNP funcionalizadas con PEG y péptidos antigénicos asociados a tumores como plataforma de vacuna contra el cáncer (AuNVac). Las AuNVac se probaron "in vitro" para determinar su capacidad para estimular los esplenocitos, la cual se midió mediante un ensayo de inmunosorción ligada a enzimas IFN- γ (ELISPOT). El ensayo evaluó la secreción de IFN- γ , CD8 + y CTL específica de Ag, que se correlaciona altamente con la inmunogenicidad antitumoral. Descubrieron que las partículas de AuNV podían estimular las células T con una eficiencia de aproximadamente cuatro veces mayor en comparación con el antígeno libre.²⁶ Un esquema del uso de las AuNPs como vacunas frente a tumores se recoge en la *figura 8*.

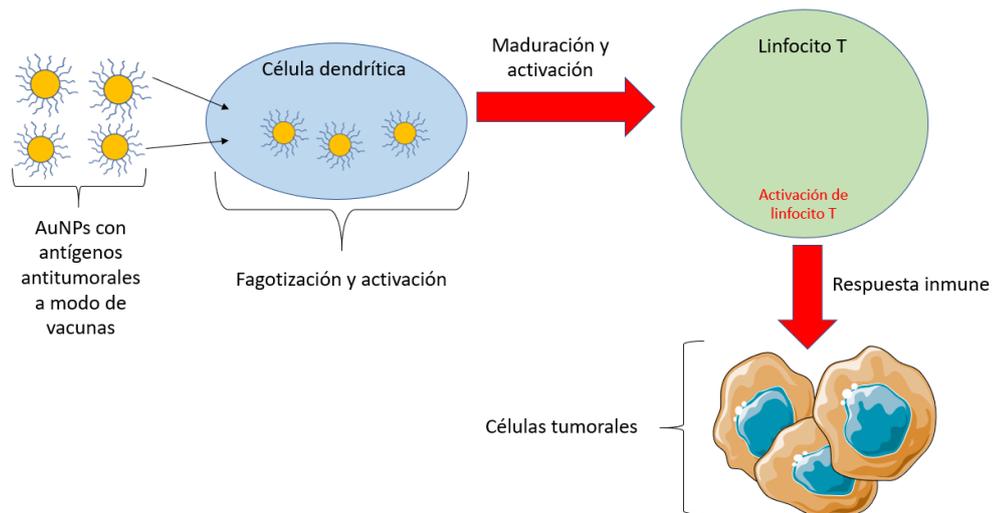


Figura 8. Esquema del uso de AuNPs como vacunas frente a tumores. Los AuNPs con antígenos antitumorales serán fagocitados por la célula dendrítica, lo que provocará su activación. Esto causará posteriormente la maduración y activación de los linfocitos T que generarán una respuesta inmune frente a las células tumorales.

Además, la administración conjunta de adyuvantes y vacunación ha demostrado ser un enfoque altamente eficaz y sinérgico. El objetivo de esta doble terapia es provocar una fuerte respuesta CTL específica para el antígeno y la inducción de respuestas mediante anticuerpos y frente a tumores existentes.²⁶

Sin embargo, en la actualidad la inmunoterapia contra el cáncer necesita mucho más trabajo para pasar de los primeros ensayos clínicos exitosos a la tecnología aprobada. Especialmente, la interacción de las células del sistema inmune con las AuNPs todavía se entiende poco y requiere un estudio más profundo.²³

5. Conclusiones

Las AuNPs presentan un futuro prometedor en la biomedicina y han demostrado su potencial especialmente en el campo de las aplicaciones en el cáncer. Todo ello gracias a su gran superficie específica, su resonancia de plasmón de superficie, su versatilidad sintética y su facilidad para funcionalizarse, es decir, gracias a sus propiedades.

Por un lado, en el diagnóstico pueden ayudar mediante diferentes técnicas a localizar y diagnosticar el cáncer de una manera más eficaz y segura que los métodos convencionales. Por otro lado, en el tratamiento se ha demostrado que, gracias a la acción de las AuNPs, se pueden realizar tratamientos más localizados, efectivos y seguros obteniendo, por tanto, resultados más beneficiosos, tanto por el aumento de la efectividad como por la disminución de los efectos secundarios.

Es importante destacar las terapias combinadas, ya que como se ha demostrado se pueden combinar tratamientos distintos e incluso diagnóstico y tratamiento en una sola sesión. De esta manera se pueden obtener resultados de manera más rápida y eficaz, lo cual es esencial en el tratamiento del cáncer. Sin embargo, los estudios realizados con ellas han sido únicamente en animales de modo que, a pesar de los buenos resultados en estos, sería necesario realizar también estudios en seres humanos. Esto es necesario con el fin de saber la

biocompatibilidad real, su distribución, toxicidad a largo plazo y hasta qué punto son viables las técnicas de diagnóstico y tratamiento que se usan en animales, para poder así extrapolar estas aplicaciones a la práctica clínica.

Es necesario, por tanto, que se invierta una gran cantidad de tiempo, dinero y esfuerzo en estudios sobre la aplicación de estas AuNPs que sin duda marcarán el futuro del tratamiento de enfermedades tan importantes como el cáncer. Es en este punto donde el farmacéutico debido a sus conocimientos en la biología, la patología y la farmacología puede intervenir, de modo que sería importante contar con él durante el desarrollo de estos estudios para garantizar su excelencia.

6. Anexo: Aplicación de las AuNPs en el COVID-19

Durante el desarrollo del TFG se ha producido una pandemia mundial causada por el virus SARS-CoV-2, de modo que he decidido recoger una de las posibles aplicaciones de las AuNPs en el diagnóstico de la enfermedad. Esta técnica, aún por desarrollar, consistirá en un sensor que permita detectar secuencias específicas del ARN del coronavirus, de una manera eficiente y sencilla. La técnica empleará AuNPs funcionalizadas mediante cadenas de ADN, capaces de detectar el gen RdRP presente en el virus SARS-CoV-2 y el gen E común a todos los coronavirus. Para realizar la prueba se usará un vial con una disolución acuosa de color rojizo debido a la presencia de las AuNPs funcionalizadas. Si a este vial se le incorpora el ARN del coronavirus, las AuNPs se agregarán y precipitarán, produciendo una disminución del color de la disolución. Esta precipitación se produce debido a que el ADN presenta colesterol en el extremo y al unirse al ARN del virus el colesterol se expone al medio dando lugar a una estructura insoluble en el agua que provoca que las AuNPs precipiten.²⁷

7. Bibliografía

1. Singh R. Nanotechnology based therapeutic application in cancer diagnosis and therapy. *3 Biotech*. 2019;9(11):1-29.
2. Lee BK, Yun YH, Park K. Smart Nanoparticles for Drug Delivery: Boundaries and Opportunities. *Chem Eng Sci*. 2015;125:158-164.
3. De Jong WH, Borm PJA. Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *Int J Nanomedicine*. 2008;3(2):133-149.
4. Singh P, Pandit S, Mokkalapati VRSS, Garg A, Ravikumar V, Mijakovic I. Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer. *Int J Mol Sci*. 2018;19(7):1979-1994.
5. Freitas de Freitas L, Varca GHC, Dos Santos Batista JG, Benévolo Lugão A. An Overview of the Synthesis of Gold Nanoparticles Using Radiation Technologies. *Nanomaterials (Basel)*. 2018;8(11):939-961.
6. Kong FY, Zhang JW, Li RF, Wang ZX, Wang WJ, Wang W. Unique Roles of Gold Nanoparticles in Drug Delivery, Targeting and Imaging Applications. *Molecules*. 2017;22(9):1445-1457.
7. Ganta S, Devalapally H, Shahiwala A, Amiji M. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. *J Control Release*. 2008;126(3):187-204.
8. Crucho CIC. Stimuli-responsive polymeric nanoparticles for nanomedicine. *ChemMedChem*. 2015;10(1):24-38.

9. Jain S, Hirst DG, O'Sullivan JM. Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *Br J Radiol.* 2012;85(1010):101-113.
10. Her S, Jaffray DA, Allen C. Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: Mechanisms and recent advancements. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;109:84-101.
11. Araki K, Mizuguchi E, Tanaka H, Ogawa T. Preparation of very reactive thiol-protected gold nanoparticles: Revisiting the Brust-Schiffrin method. *J Nanosci Nanotechnol.* 2006;6(3):708-712.
12. Alex S, Tiwari A. Functionalized gold nanoparticles: Synthesis, properties and applications- A review. *J Nanosci Nanotechnol.* 2015;15(3):1869-1894.
13. Liz-Marzán LM. Gold nanoparticle research before and after the Brust-Schiffrin method. *Chem Commun.* 2013;49(1):16-18.
14. Sudhakar S, Santhosh PB. Gold Nanomaterials: Recent Advances in Cancer Theranostics. *Advances in Biomembranes and Lipid Self - Assembly.* 2017;25:161-180
15. Sztandera K, Gorzkiewicz M, Klajnert-Maculewicz B. Gold Nanoparticles in Cancer Treatment. *Mol Pharm.* 2019;16(1):1-23.
16. Beik J, Khademi S, Attaran N, et al. A Nanotechnology-based Strategy to Increase the Efficiency of Cancer Diagnosis and Therapy: Folate-conjugated Gold Nanoparticles. *Curr Med Chem.* 2017;24(39):4399-4416.
17. Huang X, El-Sayed MA. Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *J Adv Res.* 2010;1(1):13-28.
18. Ahmadvand A, Karabiyik M, Pala N. Plasmonic Photodetectors. *Photodetectors: Materials, Devices and Applications.* 2016:147-193
19. Cancino-Bernardi J, Marangoni VS, Besson JCF, Cancino MEC, Natali MRM, Zucolotto V. Gold-based nanospheres and nanorods particles used as theranostic agents: An in vitro and in vivo toxicology studies. *Chemosphere.* 2018;213:41-52.
20. Cai W, Gao T, Hong H, Sun J. Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology. *Nanotechnol Sci Appl.* 2008;1:17-32.
21. Mieszawska AJ, Mulder WJ, Fayad ZA, Cormode DP. Multifunctional gold nanoparticles for diagnosis and therapy of disease. *Mol Pharm.* 2013;10(3):831-847.
22. Ou J, Zhou Z, Chen Z, Tan H. Optical Diagnostic Based on Functionalized Gold Nanoparticles. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4346-4368.
23. Dykman LA, Khlebtsov NG. Gold nanoparticles in chemo-, immuno-, and combined therapy: review. *Biomed Opt Express.* 2019;10(7):3152-3182.
24. Kim D, Jon S. Gold nanoparticles in image-guided cancer therapy. *Inorganica Chim Acta.* 2012;393:154-164.
25. Abadeer NS, Murphy CJ. Recent Progress in Cancer Thermal Therapy Using Gold Nanoparticles. *J Phys Chem C.* 2016;120(9):4691-4716.
26. Almeida JPM, Figueroa ER, Drezek RA. Gold nanoparticle mediated cancer

immunotherapy. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med.* 2014;10(3):503-514.

27. Agencia SINC. Test colorimétrico con nanopartículas de oro para detectar el coronavirus. <https://www.agenciasinc.es/Noticias/Test-colorimetrico-con-nanoparticulas-de-oro-para-detectar-el-coronavirus>. 17/4/2020