



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO:**

**LA ESPECTROSCOPIA AMPLIFICADA  
POR NANOESTRUCTURAS METÁLICAS EN  
EL DIAGNÓSTICO DE CÁNCER**

Autor: Patricia Madroñal Gómez

Fecha: Junio 2019

Tutor: María Paz Sevilla Sierra

# ÍNDICE

1	RESUMEN .....	3
2	ABSTRACT .....	3
3	OBJETIVOS .....	3
4	METODOLOGÍA.....	4
5	INTRODUCCIÓN.....	4
	5.1 Definición de Cáncer .....	4
	5.2 El cáncer en la sociedad española.....	5
	5.3 Tipos de exámenes para la detección del cáncer .....	6
	5.4 Espectroscopia Raman amplificada por superficie metálica (SERS, surface enhancement Raman scattering).....	7
	5.5 Características de la técnica SERS .....	8
	5.6 Aplicación de la espectroscopia SERS en la detección del cáncer.....	9
	5.7 Empleo de nanopartículas.....	10
	5.8 Ejemplo de fabricación de nanoestructura y diana de células cancerosas en la detección de cáncer gástrico .....	12
	5.9 El uso de SERS para detección de citidina en cáncer de colon.....	13
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
7	CONCLUSIONES.....	17
8	BIBLIOGRAFÍA.....	18
	8.1Bibliografía consultada y referenciada .....	18
	8.2 Bibliografía consultada y no referenciada .....	19

## 1 RESUMEN

A día de hoy, el cáncer es uno de los grandes retos de la medicina y la segunda causa de muerte por enfermedad. Los datos arrojados por La Sociedad Española de Oncología Médica y el Instituto Nacional de Estadística prevén un incremento del número de personas que padecerá cáncer a lo largo de su vida. Cuanto antes se detecte la enfermedad; mayores son las posibilidades de un tratamiento efectivo, es decir, con un diagnóstico precoz la probabilidad de superación de tumores se incrementa.

Numerosos estudios llevados a cabo permiten contemplar de cara a un futuro próximo, la incorporación de la espectroscopia Raman amplificada por superficie (SERS, siglas de Surface Enhancement Raman Scattering) como técnica de diagnóstico rápido y temprano para la detección del cáncer, convirtiéndose en rutinaria y conviviendo junto con las consideradas como clásicas. En este trabajo se expondrá la utilidad del SERS en la medicina diagnóstica del cáncer y el estado actual de la técnica.

## 2 ABSTRACT

Nowadays, the cancer is a big challenge to the health international community and the second cause of death. The data from Spanish Society of Medical Oncology and National Institute of Statistics will prevent the increase of people that will suffer from cancer throughout their life.

The earlier cancer is detected, the more easily and successfully it can be treated, basically with the early diagnosis the chance of being cured will be greater.

Many studies have reinforced that view.

In the near future, Surface enhancement Raman scattering (SERS), will be incorporate as routine fast and early diagnostic technique to detect cancer together with other classical techniques. Many studies have reinforced that view. In this paper will be present the SERS's utility in the diagnostic medicine of cancer and the current state of the technique.

## 3. OBJETIVOS

En esta memoria se presentará una valoración del cáncer en la sociedad actual, su incidencia en la población y el pronóstico del incremento del número de casos en los próximos años. También se comentarán las técnicas rutinarias de detección que se usan en los hospitales. A continuación, se expondrá una pequeña introducción del fundamento de la técnica SERS, y se finalizará exponiendo la aplicación de esta técnica a la detección precoz de tumores, incluso en las fases pre-cancerígenas.

- Se profundizará en la utilización de sistemas coloidales de nanopartículas destinados a aplicaciones médicas ya que todas las investigaciones se centran en el uso de estas nanopartículas para detectar cáncer.

- Se explicara a modo de ejemplo concreto la fabricación de un sistema nanoestructurado que sirve como diana de células cancerígenas y su uso para la detección de citidina en tumores de colon usando la técnica SERS.
- Se explicarán los resultados y discusión de este caso particular en la detección de citidina.

## 4 METODOLOGÍA

Para desarrollar este trabajo se ha procedido a una búsqueda bibliográfica en artículos científicos, en periódicos digitales de Salud y Ciencia y libros de Técnicas Instrumentales.

En la búsqueda se utilizaron las bases de datos: *Web of Science* y *MedlinePlus*, utilizando como palabras clave: “*nanoparticles*”, “*cancer*”, “*SERS*”, “*Au*” y “*Ag*”. Tras examinar numerosos artículos se seleccionaron los más indicados para el tema que se tratará en este trabajo.

Por último, se ha empleado el modelo APA para elaborar la bibliografía.

## 5 INTRODUCCIÓN

La detección temprana del cáncer es un factor determinante para su curación. Por ello, el uso de nuevas técnicas para que trabajen en esa dirección, es determinante para el éxito en el tratamiento. Una de las vías en estudio, es el uso del SERS, técnica que permite detectar cantidades muy pequeñas de diversas sustancias. El ideal al que se aspira, es la posibilidad de que los médicos puedan administrar nanopartículas programadas para encontrar o tener como diana, células cancerígenas (algo que a día de hoy es imposible), pues se requieren estados más avanzados del cáncer y, por lo tanto, se necesitan mayores cantidades de células para su detección. Una vez localizado el tumor por SERS, se utilizarán otras técnicas clásicas para analizarlo y visualizarlo. Además, se cree también que se pondrá mejorar la eficacia de los tratamientos y así poder reducir el régimen de quimioterapia.

Todo esto se tratará en este trabajo de carácter bibliográfico. Con el fin de poder llegar a unos resultados que nos permitan concluir, si realmente esta técnica (hoy en estudio) permitirá, en un futuro, formar parte de nuestro sistema sanitario.

### 5.1 Definición de Cáncer

#### ¿Qué es el cáncer?

Esta terminología hace referencia a cuando algunas células del cuerpo, empiezan a dividirse sin detenerse y se diseminan a tejidos de alrededor (dando metástasis). Las células normales crecen, se dividen, maduran (hasta tener funciones específicas), envejecen y mueren. Sin embargo, en el cáncer esto no ocurre, ya que las células que deberían morirse siguen multiplicándose, evitando el proceso de apoptosis, dando lugar a masas de células denominadas tumores. En el proceso de cáncer también se produce

una sobreexpresión de receptores de superficie, los cuales van a ser utilizados a la hora de crear nanosistema para que sean exclusivos de esas células tumorales, usando este exceso como diana.

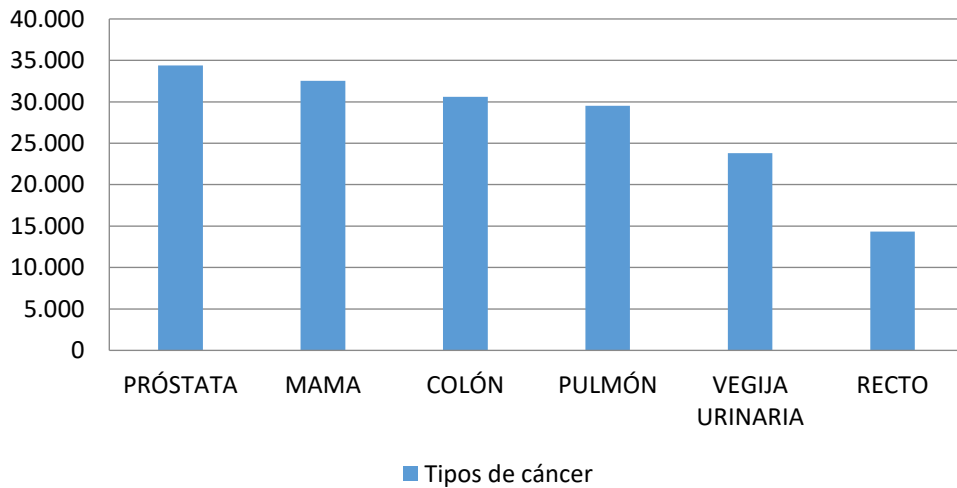
La rápida identificación de células cancerosas es crucial para el diagnóstico, pronóstico y monitorización del tratamiento. En este sentido, y con cara al futuro, un sistema de nanopartículas monodisperso que sea altamente sensible a la técnica SERS se convertirá en una buena posibilidad.

## 5.2 El cáncer en la sociedad española

Según la **Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN<sup>1</sup>)**, en 2019 se diagnosticarán en España unos 277.000 cánceres, 161.000 en hombres y 116.000 en mujeres.

Actualmente, se conoce la existencia de más de 200 tumores. Cada uno de ellos con sus propios signos, síntomas, pronósticos, evoluciones y tratamientos. A continuación, se adjunta una gráfica en la que se muestra una estimación de la incidencia del cáncer en España en 2019, en base al tipo de cáncer y a la población afectada. Siendo los de mayor incidencia: el cáncer de próstata, mama y colón.

**Estimación de la incidencia del cáncer en España en 2019**



<sup>1</sup> [http://redecn.org/es/noticia.cfm?id=448&title=segun-la-red-espanola-de-registros-de-cancer-\(redecn\),-en-2019-se-diagnosticaran-en-espana-unos-277.000-canceres,-161.000-en-hombres-y-116.000-en-mujeres.](http://redecn.org/es/noticia.cfm?id=448&title=segun-la-red-espanola-de-registros-de-cancer-(redecn),-en-2019-se-diagnosticaran-en-espana-unos-277.000-canceres,-161.000-en-hombres-y-116.000-en-mujeres.)

Por otro lado, el Instituto Nacional de Estadística<sup>2</sup>, ha publicado en febrero del 2019, un estudio en relación al incremento de las estancias hospitalarias entre los años 2016 y 2017. Los resultados obtenidos, han indicado que se produjo un incremento del 1,8% más con respecto al 2016, es decir, el número de personas que sufrieron cáncer aumentó.

Esta tendencia seguirá incrementándose en los próximos años, de ahí la importancia de investigar nuevas técnicas de diagnóstico, ya que se ha convertido en uno de los grandes retos que debe afrontar la medicina de nuestros días.

### 5.3 Tipos de exámenes para la detección del cáncer

La principal función de estos exámenes, es la identificación temprana del cáncer, así se conseguirá establecer un tratamiento con mayores probabilidades de éxito y supervivencia para el paciente.

Las características que debe reunir un buen sistema de detección son:

- Localizar el cáncer temprano.
- Reducir la posibilidad del paciente que se examina regularmente, muera por cáncer.
- Que los beneficios superen a los perjuicios. Algunos exámenes de detección pueden provocar hemorragias o algún otro daño físico, el ejemplo más claro lo encontramos con la biopsia.
- Que sea sencillo de aplicar.
- Buena aceptación por parte de los pacientes o la población en general.
- Mínimos efectos adversos.
- Económicamente sostenible.

Los principales análisis que actualmente forman parte del sistema sanitario son:

- Mamografía.
- Colonoscopia.
- Pruebas de heces de alta sensibilidad de sangre oculta en materia fecal y pruebas de ADN en materia fecal.
- Tac.
- Imágenes de resonancia magnética.
- Análisis de CA-125.
- Análisis de alfa-fetoproteína
- Biopsia

---

<sup>2</sup> [http://www.ine.es/infografias/infografia\\_enfermos\\_cancer.pdf](http://www.ine.es/infografias/infografia_enfermos_cancer.pdf)

De las pruebas anteriormente mencionadas, la **biopsia (muestra de tejido)** es la exploración por excelencia para la confirmación del cáncer. Consiste en un procedimiento médico, en el que se extrae y analiza una porción de tejido, que se toma de un organismo vivo, con el objetivo de realizar una evaluación definitiva. Después, esa muestra se lleva al microscopio para que el facultativo pueda establecer un dictamen.

La biopsia y el Tac son las pruebas que más se realizan. Si se comparan con el análisis por espectroscopia, esta última destaca en rapidez, sencillez y coste. No obstante, ambas requieren de los siguientes requisitos: personal especializado, una sala exclusiva para el equipo, además en el Tac el paciente estará expuesto a radiación.

Todos estos estudios requieren un elevado coste para el sistema sanitario en comparación con la espectroscopia SERS, de ahí el interés en aplicar esta herramienta al diagnóstico de cáncer.

En la actualidad, la lucha por encontrar técnicas de mayor rapidez en la detección del cáncer es una parte muy importante en los grandes avances que se han dado en el campo de la nanotecnología, para desarrollar análisis que cumplan las premisas que permitan considerarlos eficaces.

#### 5.4 Espectroscopia Raman amplificada por superficie metálica (SERS, surface enhancement Raman scattering)<sup>3</sup>

Al iluminar con una fuente de luz monocromática un determinado material, la mayor parte de la luz se dispersa y esta se conoce como la **línea Rayleigh o dispersión elástica**. Otra porción de luz cambia su energía a partir de la frecuencia de la luz incidente. Esto es debido a interacciones electromagnéticas o vibraciones dentro de las moléculas del material analizado. El resultado es que la frecuencia de parte de la luz emitida cambia y a esto se le llama **radiación Raman**. La espectroscopia Raman refleja los modos vibracionales de una molécula.

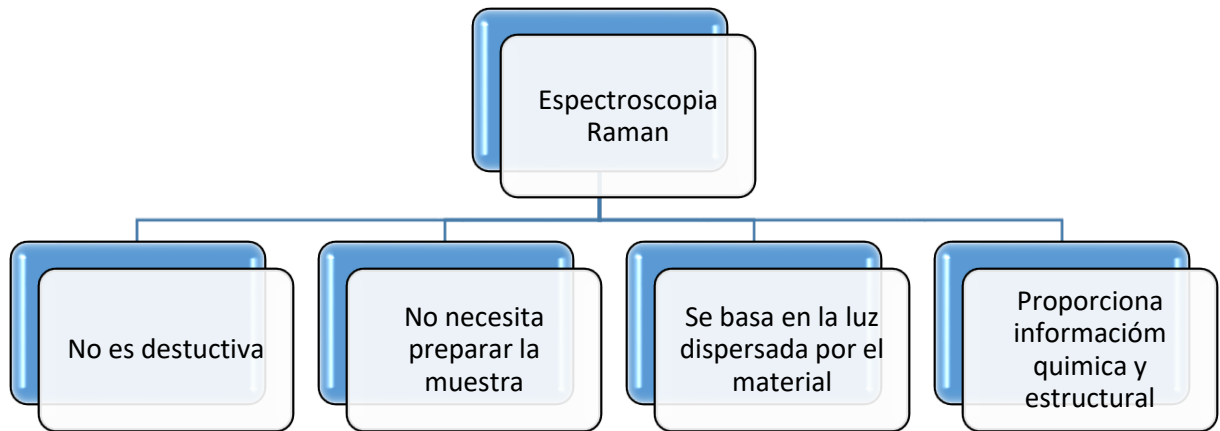
Lo que resulta interesante de esta técnica respecto a otras, es que se realiza directamente sobre el material sin necesidad de someter a la muestra a un tratamiento físico o químico antes de realizar un barrido. Además, no es destructiva, es rápida y nos proporciona información química y estructural de cualquier material. El instrumental utilizado, consta de tres partes:

- Fuente láser.
- Espectrómetro adecuado.
- Sistema de iluminación de la muestra.
- Cables de fibra óptica para el muestreo.

---

<sup>3</sup> R.F.Aroca, M. Campos Vallette, J.V. Garcia Ramos, S. Sánchez Cortés, J. A. Sánchez Gil, P. Sierra. Amplificación plasmónica de espectros Raman y de fluorescencia SERS y SEF sobre nanoestructuras metálicas, 2014, Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid.

## Esquema de las propiedades de la espectroscopia Raman:



## Tipos de espectroscopia Raman:

- Espectroscopia Raman de resonancia.
- Espectroscopia Raman no lineal.
- Espectroscopia Raman amplificada por superficie metálica, SERS.

**Espectroscopia Raman amplificada por superficie metálica, SERS** es en la que vamos a centrar este trabajo. Consiste en convertir las débiles señales Raman en otras mucho más intensas que pueden detectarse más fácilmente. Como consecuencia, se aumenta considerablemente la sensibilidad de la espectroscopia Raman.

Esto ocurre cuando sobre la superficie de una nanopartícula de metal noble se crea el plasmón superficial localizado (en inglés Localized Surface Plasmon, LSP), debido a las oscilaciones colectivas de los electrones de conducción. La interacción de la luz láser incidente con el plasmón superficial localizado da lugar a una nueva radiación de mucha mayor intensidad que la inicial y que al incidir en la muestra de material produce bandas SERS mucho más intensas que las Raman.

Los **sustratos nanométricos** más empleados en esta técnica son; películas de islotes metálicos, coloides de metal, electrodos cuya superficie es rugosa por la aplicación de varios ciclos de oxidación y reducción y nanopartículas litografiadas sobre una superficie.

### **5.5 Características de la técnica SERS**

Las características de la técnica SERS son:

- I. Determinación ultrasensible de sustancias químicas.
- II. Mejora la sensibilidad de la espectroscopia Raman clásica.
- III. Permiten producir la superficie SERS in situ durante la medición.



- IV. No produce destrucción de la muestra.
- V. Uso de sustratos más rentables.

Antes de que se analice la luz dispersa, la señal más intensa es debido a la dispersión de Rayleigh. Se filtra para evitar que la señal Raman se sature. Las bandas SERS de las moléculas que se absorben en la superficie del metal, permiten la detección de concentraciones muy bajas de las sustancias. La señal SERS es suficientemente capaz de detectar una molécula aislada (single molecule SM), y está reconocida como una técnica de detección extremadamente sensible con altos niveles de especificidad molecular. En todos los casos el tamaño del metal debe ser nanométrico. Se utiliza en general, una suspensión en forma coloidal del metal y es aquí cuando entra en juego la nanotecnología. Los metales más comúnmente usados son **la plata y el oro**. El resultado final de un espectro SERS y la amplificación de sus bandas respecto de las bandas Raman depende de: la naturaleza de las moléculas del material a analizar, del tipo de sustrato, de la longitud de onda de la línea láser y de las condiciones experimentales para realizar el espectro.

Estudios publicados de análisis realizados a muestras séricas con SERS, indican que se ha conseguido detectar el cáncer cervical, en presencia de nanopartículas<sup>4</sup>. Esto combinado con la capacidad de direccionar el nanotransporte para identificar únicamente, las células cancerosas hacen que se considere una línea óptima de investigación en el diagnóstico del cáncer y por lo tanto no es de extrañar que exista una gran demanda para el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico en la detección del cáncer que tienen una alta sensibilidad y especificidad.

## 5.6 Aplicación de la espectroscopia SERS en la detección del cáncer

La mayoría de los estudios realizados, basan sus resultados en los datos obtenidos de un análisis multivariado por espectroscopia Raman.

Todos ellos siguen un patrón común:

- Utilizaron como diana de receptores, proteínas que muchas veces, se ven sobreexpresadas en las células cancerosas respecto a aquellas sanas, las cuales se usaron como control negativo.
- Se usaron sistemas coloidales de nanopartículas de metal.
- Obtuvieron espectros Raman, a partir de los cuales se elaboraron los resultados.
- Realizaron un análisis multivariante.

---

<sup>4</sup> <https://www.webconsultas.com/noticias/salud-al-dia/cancer-de-cuello-de-utero/desarrollan-nanoparticulas-eficaces-contra-el-cancer>

Los materiales a nanoescala nos permiten interactuar con células, proteínas y otras moléculas, que se pueden aprovechar como fármacos, agentes de imágenes en objetivos concretos del cuerpo y que también pueden integrarse en dispositivos para su uso en aplicaciones de detección y caracterización de enfermedades, es decir, tienen una gran versatilidad.

## 5.7 Empleo de nanopartículas

Una **nanopartícula** es aquella que mide menos de 100nanómetros (nm). Este tamaño permite su circulación por el torrente sanguíneo, y su acceso a cualquier tejido, aprovechando los procesos físicos y químicos del cuerpo. Además es el tamaño necesario para que exista amplificación de la señal Raman y se produzca SERS.

El objetivo al que se quiere llegar es conseguir nanopartículas dirigidas para detectar y mejorar el tratamiento del cáncer, es decir, que sean selectivas a las células enfermas y así evitar el daño de las células sanas del paciente. Su tamaño las hace idóneas para llegar hasta las células cancerígenas.

La quimioterapia utiliza medicamentos que se distribuyen por todo el cuerpo y carecen de selectividad frente a los tumores, destruyendo tanto células sanas como cancerosas, provocando daños y efectos secundarios importantes al paciente.

A día de hoy se utilizan como nanotransportadores: liposomas, polímeros, dendrímeros y nanopartículas metálicas. Aunque los ensayos se encuentran en fase I, los resultados son esperanzadores.

La síntesis de nanopartículas monodispersas con actividad de SERS, suponen un gran reto para la ciencia. Las nanopartículas se usan en forma de coloides líquidos, ya que es una forma rápida y fácil de obtener, es decir, son económicas y no tóxicas. En el futuro, permitirán detectar eficazmente en fases tempranas y eliminar selectivamente las células afectadas. Se usa mucho en la medicina, nanomateriales plasmónicos con base de oro y plata. Las nanoestructuras son las que presentan propiedades ópticas y físicas específicas debido a la oscilación de los electrones libres dentro de ellos. Esta oscilación depende a su vez de la forma y las dimensiones de las nanopartículas.

Las nanopartículas plasmónicas (como las de la plata y el oro) exhiben fuertes resonancias de plasmón de superficie localizadas (LPSR) en el rango de longitud de onda visible e infrarroja, otorgándoles una fuerte mejora de la señal Raman.

Las características más destacadas de los dos metales más empleados son:

### **Nanopartículas de Plata:**

- Son conocidas desde la antigüedad, pero se ha demostrado que también matan células tumorales, lo que hace idónea para ser usada en esta técnica.
- La Plata ataca a determinadas estructuras, es antibactericida, antivírica y desinfectante.
- Estimula el crecimiento del hueso, promueve la curación de heridas.
- Su toxicidad es prácticamente nula.
- Los coloides de plata son fáciles de obtener a diferencia del oro, que es más complicado de manejar.
- Generalmente, en las investigaciones llevadas a cabo se suelen usar nanopartículas de plata con un diámetro entre 50 y 80 nm, dispersas en agua, esto permite mayor superficie de contacto y, por otro lado, que pueda viajar por el torrente sanguíneo.

### **Nanopartículas de oro:**

- No ser tóxico.
- Fácil de preparar( no tanto como la plata).
- Presenta propiedades que la hacen ser un buen ligando y con ello formar nanosistemas que luego tengan aplicación terapéutica.
- Uniendo las nanopartículas de oro a un anticuerpo se puede lograr nanopartículas que se unan a las células cancerígenas.
- El oro presenta propiedades tanto físicas como químicas, destacando la fototérmica, es decir, en presencia de luz laser u otra fuente de calor (microondas, radiofrecuencia...) se activan y desprenden calor.

El transporte de las nanopartículas hasta el tumor puede realizarse de dos maneras:

1. Introduciendo directamente en el tumor un nanoclavo magnético en cuyo campo magnético se concentran las nanopartículas de oro. Hay que tener en cuenta que el oro se vuelve magnético a temperatura ambiente a escala nanométrica.
2. Cubriendo la nanopartícula con anticuerpos específicos para el tipo de tumor a tratar.

### 5.8 Ejemplo de fabricación de nanoestructura y diana de células cancerosas en la detección de cáncer gástrico<sup>5</sup>

Una de las características que exhibe el nanosistema a la hora de su desarrollo, es la individualización para cada uno de los casos, siendo exclusivo para las células cancerosas que tendrá como diana, por ello la fabricación de la nanoestructura no será reproducible para otro ejemplo.

Se inicia con la síntesis de las nanopartículas monodispersas, las cuales constituirán el sustrato SERS. Éste será específico para las células cancerosas que serán nuestro objetivo. Se consigue conjugando el sustrato con proteínas compatibles con la diana. A continuación, la muestra y el sustrato entraran en contacto, se aplicará la radiación y se obtendrá el espectro Raman. Esta sería una simplificación del proceso.

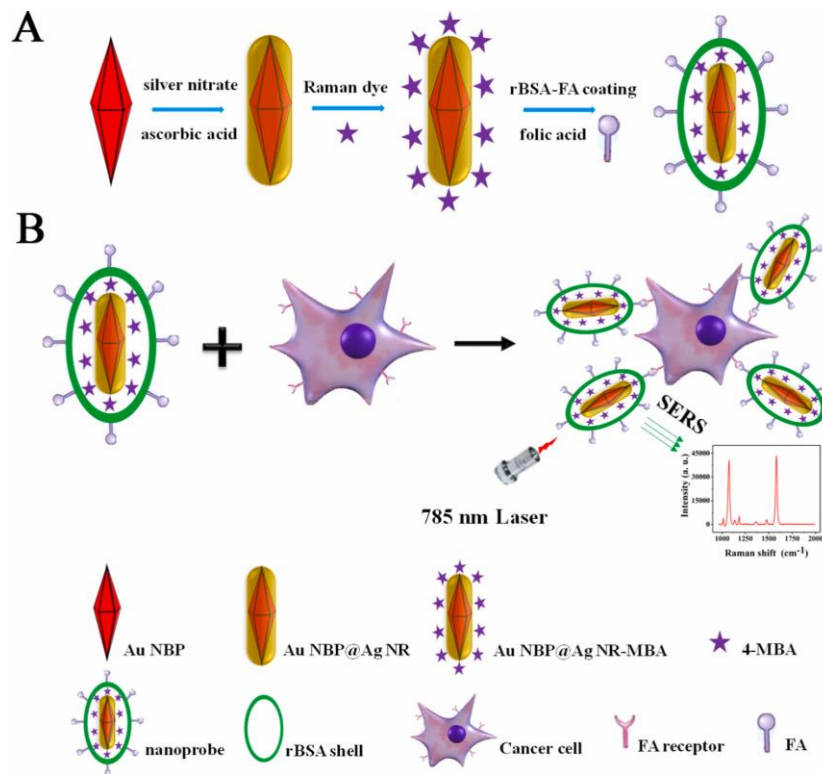


Fig.1[5]. Ilustración de las nanopartículas AuNBP@AgNR-MBA-rBSA-FA para la detección por SERS de células cancerosas vivas. (A) Fabricación de nanopartículas de Au NBP@Ag NR-MBA-rBSA-FA; (B) Detección de células cancerígenas diana.

<sup>5</sup> J. Chang; A. Zhang; ZC. Huang; YS. Chen; Q. Zhang; DX, Cui. Monodisperse Au @Ag core-shell nanoprobe with ultrasensitive SERS-activity for rapid identification and Raman imaging of living cancer cells. *Talanta*. 2019.198.45-54.

La figura 1[5]. Muestra un esquema de un ejemplo práctico basado en la combinación de la nanotecnología y la técnica SERS en la detección de células cancerosas vivas en cáncer gástrico.

Como se aprecia en el esquema emplearon como sustrato un núcleo nanopiramidal de oro con una cubierta de plata que modificaron adicionalmente. Como sonda de Raman, dispusieron de la molécula de ácido 4- mercaptobenzoico y la conjugaron con albumina sérica reducida de origen bovino y ácido fólico en superficie. La albumina sérica junto al ácido fólico da la especificidad al nanosistema para células cancerosas vivas gástricas. Si se revisa las tablas de resultados del artículo al que pertenece esta figura, puede verse que el estudio consigue el desarrollo de nanopartículas sintetizadas que poseen actividad SERS, especificidad y capacidad de detección de células cancerosa vivas.

### 5.9 El uso de SERS para detección de citidina en cáncer de colon<sup>6</sup>

Este es un caso práctico de la técnica de diagnóstico SERS con nanopartículas. Como se ha mencionado en esta memoria en el apartado 5.2 **el cáncer en la sociedad española**, si nos fijamos en la gráfica que se ha adjuntado, el cáncer de colón se encuentra en el tercer puesto en frecuencia de diagnóstico entre la población española. Dada la importancia de este tipo de tumores en el apartado siguiente de **resultados y discusión** nos centraremos en los datos obtenidos en el artículo *Surface enhanced Raman detection of the colon cancer biomarker cytidine by using magnetized nanoparticles of the type Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag*. En este artículo se lleva a cabo la localización de células cancerosas a través de la detección de trazas de citidina en orina.

El síntoma más frecuente en el cáncer de colon es la presencia de sangre en heces. El color de la sangre puede ser roja o negra, el color es un indicativo de donde puede encontrarse el tumor, más próximo o más distal del colón. En base a esto, se realizará la prueba de cribado más fiable. Es un test de sangre oculta en heces y en función de los resultados se derivará al paciente a ejecutar la colonoscopia para ver el origen del sangrado.

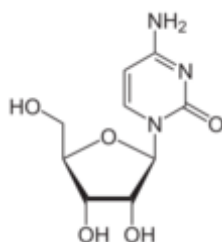
Otra prueba que nos puede ayudar es la búsqueda de marcadores tumorales, en la sangre, la orina o los tejidos del cuerpo. Los marcadores tumorales son sustancias creadas por las células cancerosas o por células en respuesta al cáncer en el cuerpo. La citidina es considerada un marcador temprano de cáncer de colón y generalmente se emplea cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), un equipo caro y que necesita de operadores capacitados.

La estructura de la citidina<sup>7</sup>, la cual puede verse en la figura adjunta. Esta molécula tiene una vibración única y característica que nos permitiera caracterizarla por espectroscopia Raman usando una nanoestructura con plata y oro.

---

<sup>6</sup> Y. Xiang, HR. Yang, XY. Guo, YP. Wu, Y. Ying, Y. Wen, HF. Yang. Surface enhanced Raman detection of the colon cancer biomarker cystidine by using magnetized nanoparticles of the type Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag. *Microchimica Acta*. 2018. 185.3.

<sup>7</sup> <https://es.wikipedia.org/wiki/Citidina>



## 6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se emplean nanopartículas magnetizadas del tipo Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag frente a concentraciones traza de citidina en orina diluida con agua ultrapura y a la que se le ha eliminado la urea porque interfiere con la señal SERS de la citidina. Se realizaron varios ensayos, en cada uno de ellos se obtuvo espectros de señal Raman.

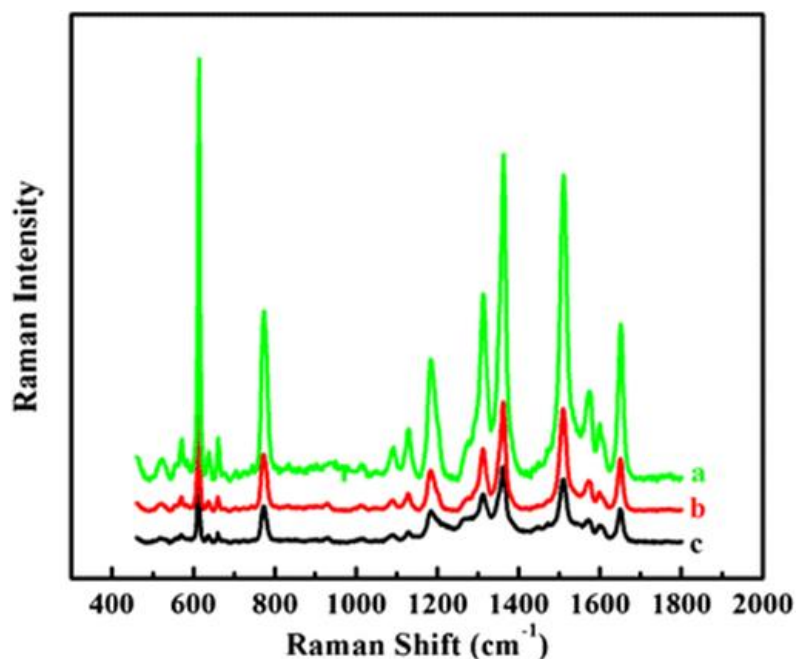


Fig.2[6]. Los espectros SERS de R6G ( $10^{-5}$ M) en (a) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag5 nanopartículas (b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag6 nanopartículas (c) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag4 nanopartículas.

En la figura 2[6] puede observarse que hay tres espectros Raman, uno de color negro (c), otro rojo (b) y otro verde (a), cada uno de los espectros corresponde a la señal emitida por cada una de las muestras en las que se ha ido aumentando los mililitros de coloide de plata. El espectro Raman que presenta una señal más amplificada, es decir, más intensa respecto a los otros dos, es la de color verde (a). Se demuestra por lo tanto, que hay una correlación entre la elección del sustrato y la intensidad de la señal, por

consiguiente, podemos apreciar la gran repercusión que tiene un correcto sustrato a la hora de conseguir el éxito o el fracaso en dicho estudio. Emplearon como sonda Raman R6G  $10^{-5}M$  para optimizar la síntesis de nanopartículas y así poder ver si había mayor efecto SERS. Los resultados demuestran que si. La mejora del sustrato ha resultado un factor esencial para detectar trazas de citidina en este ensayo.

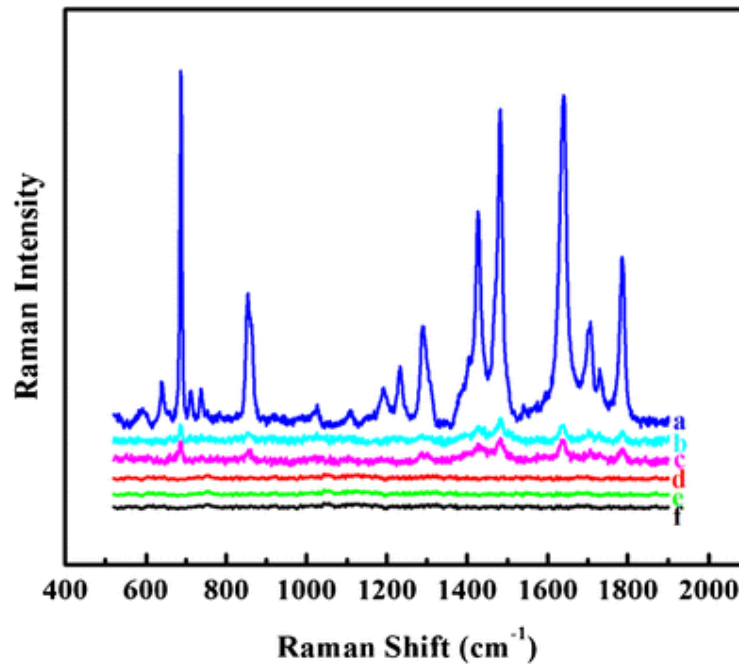


Fig. 3[6]. Los espectros SERS de R6G ( $10^{-7}M$ ) en (un) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag<sub>5</sub> nanopartículas (b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au nanopartículas (c) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/AG nanopartículas (d),(e) y (f) son los espectros de blanco de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag nanopartículas, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au nanopartículas y Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/AG nanopartículas, respectivamente.

En la figura 3[6] se puede percibir 5 espectros, que al igual que la anterior, se les ha asignado un color y una letra como distintivo,(d),(e) y (f) son espectros en blanco mientras que (a),(b) y (c) corresponden a espectros Raman en los que el sustrato varia en estructura en contraoposición de la figura 2 que mantenía la misma estructura pero variaba cuantitativamente. Claramente se ve que el espectro de color azul oscuro (a) es el que presenta la señal Raman más intensa, estos resultados sirven para apoyar lo confirmado anteriormente. La importancia a la hora de seleccionar el sustrato, influye para conseguir mayor intensidad de señal, en este caso en concreto la combinación de oro (Au) y plata (Ag) permiten obtener un sustrato más adecuado.

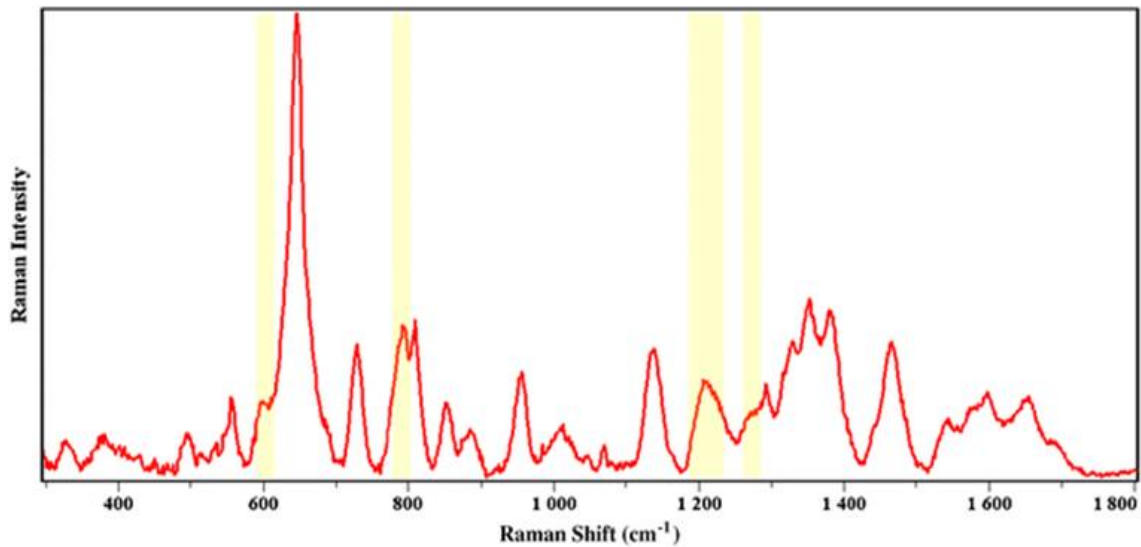


Fig. 4[6]. Espectros SERS de mezcla de adenosina, timidina, ácido úrico, guanosina, citidina, glicina, L-histidina, L-lisina, L-serina ( $10^{-5}$ M) adsorbidos en el Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag<sub>5</sub> nanopartículas.

La orina presenta además de urea y citidina, otros componentes como son: hormonas, vitaminas, electrolitos y otros nucleósidos. Con el fin de demostrar si es posible conseguir caracterizar solo la citidina, frente al resto de nucleósidos que poseen una similitud estructural y por consiguiente, la señal Raman puede verse afectada. Se realizó el siguiente ensayo.

En la figura 4[6], puede apreciarse que no se superponen las bandas en el espectro. Las regiones sombreadas de color amarillo incluyen los picos característicos de la molécula de citidina, sin que se superponga por ninguna otra banda. En base a estos resultados se pone de manifiesto que la técnica sí consigue ser específica y permite detectar la molécula de citidina. Todo esto es gracias a esa huella dactilar vibracional que es única para cada molécula.



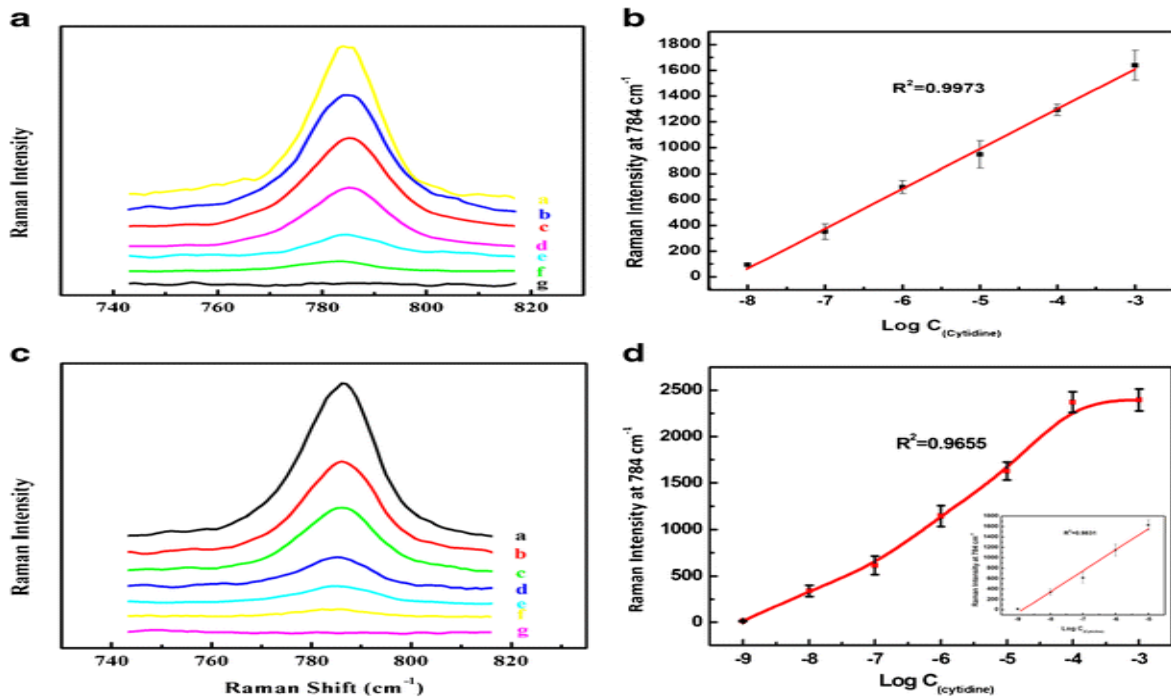


Fig. 5[6]. Espectros SERS de la solución de citidina con diferentes concentraciones **a** sin y **c** con inducción magnética. **b** y **d** son la relación lineal correspondiente del registro  $C(\text{citidina})$  frente a la intensidad Raman a  $784 \text{ cm}^{-1}$ . Recuadro: rango lineal de citidina de  $10^{-5}M$  a  $10^{-9}M$ . Cada barra de error indica la desviación estándar.

En este último ensayo se comparan las diferencias entre aplicar inducción magnética y no. Se muestra que **a** tiene espectros con más intensidad frente a los que se aprecia en **c**, la importancia del influjo magnético a la hora de detectar los niveles de citidina, con inducción aumentan el rango y nos permite dar valores cuantitativos que son también importantes en la detección en el cáncer de colon. Presenta un rango dinámico lineal que se extiende desde  $10^{-3}m$  a  $10^{-8}m$  con  $R^2=0.9973$ .

La posibilidad de usar nanosistemas con selectividad a las células cancerosas y controlando tanto la velocidad como la zona de liberación va a permitir tener mejores resultados y evitar los indeseados efectos secundarios. También, el uso de nanopartículas mejora la biodisponibilidad, la solubilidad y estabilidad del fármaco, disminuyendo la mortalidad y morbilidad.

## 7 CONCLUSIONES

El mundo de la investigación, centra sus esfuerzos en realizar estudios sobre nuevas técnicas de diagnóstico que puedan aportar ventajas frente a las utilizadas hoy en día en la detección del cáncer.

Consideramos una buena técnica, aquellas que tiene buen rendimiento, sensibilidad y especificidad junto con mejoras en el tiempo de realización y bajo coste. Del artículo *Surface enhanced Raman detection of the colon cancer biomarker cytidine by using magnetized nanoparticles of the type Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag*, en el que hemos basado los resultados de esta memoria, se obtiene que la elaboración de nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag, si mejora la actividad SERS al presentar un alto rendimiento, selectividad o especificidad gracias a la vibración molecular característica de la citidina y sensibilidad frente a ella a niveles traza. Por ello, con inducción magnética, puede llegar a detectarse hasta cantidades de citidina de 1nM. Todo ello, respaldado por los ensayos que han realizado además de ser una técnica fácil y rápida. Por lo tanto, a pesar de estar en estudio hoy en día, es altamente probable que llegue a formar parte de la detección del cáncer no solo en colon, sino en general en un posible futuro y que dentro de unos años llegue a poderse implantar en los servicios hospitalarios del mundo.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

### 8.1 Bibliografía consultada y referenciada

- [1] [http://redecana.org/es/noticia.cfm?id=448&title=segun-la-red-espanola-de-registros-de-cancer-\(redecana\),-en-2019-se-diagnosticaran-en-espana-unos-277.000-canceres,-161.000-en-hombres-y-116.000-en-mujeres](http://redecana.org/es/noticia.cfm?id=448&title=segun-la-red-espanola-de-registros-de-cancer-(redecana),-en-2019-se-diagnosticaran-en-espana-unos-277.000-canceres,-161.000-en-hombres-y-116.000-en-mujeres).
- [2] [http://www.ine.es/infografias/infografia\\_enfermos\\_cancer.pdf](http://www.ine.es/infografias/infografia_enfermos_cancer.pdf)
- [3] R.F.Aroca, M. Campos Vallette, J.V. Garcia Ramos, S. Sánchez Cortés, J. A. Sánchez Gil, P. Sierra. Amplificación plasmónica de espectros Raman y de fluorescencia SERS y SEF sobre nanoestructuras metálicas, 2014, Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid.
- [4] <https://www.webconsultas.com/noticias/salud-al-dia/cancer-de-cuello-de-utero/desarrollan-nanoparticulas-eficaces-contr-el-cancer>
- [5] J. Chang; A. Zhang; ZC. Huang; YS. Chen; Q. Zhang; DX, Cui. Monodisperse Au@Ag core-shell nanoprobe with ultrasensitive SERS-activity for rapid identification and Raman imaging of living cancer cells. *Talanta*. 2019.198.45-54.
- [6] Y. Xiang, HR. Yang, XY. Guo, YP. Wu, Y. Ying, Y. Wen, HF. Yang. Surface enhanced Raman detection of the colon cancer biomarker cystidine by using magnetized nanoparticles of the type Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au/Ag. *Microchimica Acta*. 2018.185.3.
- [7] <https://es.wikipedia.org/wiki/Citidina>

## 8.2 Bibliografía consultada y no referenciada

- [1]<http://thehcgdiet.com/northern-territory/uv-spectroscopy-principle-and-instrumentation-pdf.php>. (s.f.).
- [2]<http://www.guatequimica.com/gq/index.htm>. (s.f.).
- [3]<http://www.horiba.com/us/en/scientific/products/raman-spectroscopy/raman-academy/raman-faqs/what-is-surface-enhanced-raman-scattering-or-sers/>. (s.f.).
- [4][https://www.espectrometria.com/espectrometra\\_raman/](https://www.espectrometria.com/espectrometra_raman/). (s.f.).
- [5]<https://medlineplus.gov/>. (s.f.).
- [6]<https://www.aecc.es>. (s.f.).
- [7]<https://www.bbvaopenmind.com/ciencia/investigacion/nanoparticulas-una-gran-promesa-contra-el-cancer/>. (s.f.).
- [8]<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/pdq/sumarios-de-informacion/deteccion>. (s.f.).
- [9]<https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/citidina>. (s.f.).
- [10][https://www.ine.es/infografias/infografia\\_enfermos\\_cancer.pdf](https://www.ine.es/infografias/infografia_enfermos_cancer.pdf). (s.f.).
- [11]<https://www.saludadiario.es/>. (s.f.).
- [12]<https://www.cancer.org/es/cancer/aspectos-basicos-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer.html>. (s.f.).
- [13]<https://www.who.int/topics/cancer/es/>.