

# Nanociencia y Medicina

*Francisco Tomás Vert\**  
Ex-Rector de la Universidad de Valencia  
Catedrático de Física Química

EXCELENTÍSIMO SEÑOR PRESIDENTE DE LA REAL ACADEMIA DE MEDICINA Y CIENCIAS  
AFINES DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.

EXCELENTÍSIMO SEÑOR RECTOR MAGNÍFICO DE LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
DIGNÍSIMA SEÑORA Y DIGNÍSIMOS SEÑORES DOCTORES MIEMBROS DE LA JUNTA DE  
GOBIERNO DE LA REAL ACADEMIA  
SEÑORAS Y SEÑORES ACADÉMICOS  
UNIVERSITARIAS Y UNIVERSITARIOS DE LA UNIVERSITAT DE VALÈNCIA, MI UNIVERSIDAD.  
SEÑORAS Y SEÑORES.

Mis primeras palabras han de ser de agradecimiento a la Academia de Medicina y en nombre suyo a su presidente el Profesor Antonio Llombart por acogerme como uno de sus académicos correspondientes. Es para mí un gran honor formar parte de esta noble institución valenciana. Un honor que lleva aparejado una gran responsabilidad, pero también una gran satisfacción por poder compartir con tan distinguidos académicos su interés, su dedicación a las ciencias de la vida, y hacerlo en el marco de nuestra Comunidad Valenciana de tan arraigada tradición médica. No les quepa duda alguna que sabré responder diligentemente a la confianza que he recibido de la Academia y sus académicos.

También deseo expresarles mi reconocimiento por darme la oportunidad de dirigirme a ustedes para relatarles algunos aspectos de investigaciones y estrategias terapéuticas que han irrumpido con fuerza desde hace unos pocos años en el campo de la Medicina.

Pudiera pensarse en algún momento que es una osadía, por mi parte, y con mi sólo bagaje de la Química, el introducirme en territorio ajeno a mi trayectoria vital y científica, por esta razón les pido disculpas de antemano si en mi discurso se desliza alguna imprecisión, incluso de lenguaje, que pudiera parecerles lejana a su práctica habitual. Comprendan también que una ciencia nueva importa términos nuevos, palabras nuevas, que muchas veces aún no han tenido una traducción precisa a nuestro idioma.

Con todo la Medicina y sus ciencias afines han tenido un impacto significativo en mi vida. Mis primeras plenas responsabilidades docentes se sucedieron en la Facultad de Medicina donde impartí dos cursos de Química Médica (1969-70, 1970-71), en un plan de estudios de Medicina que duró poco, pero que me supuso, tal vez, mis mejores experiencias como docente. Allí conocí a los médicos, a la Medicina, y a muchos que con el paso del tiempo fueron amigos, compañeros y muchas veces cómplices en la vida universitaria, y también tuve excelentes alumnos, alguno de los cuales ocupa hoy sede en esta Academia.

Una parte significativa de mi investigación ha tenido que ver con sustancias implicadas en terapéuticas en un afán de tratar de relacionar sus propiedades fisicoquímicas con su acción terapéutica o fisiológica.

Finalmente, y no puede ello ser casual, dos de mis hijos desarrollaron su vocación médica, en esta Facultad de Medicina, y un tercero se aplica a una rama alternativa de las ciencias de la vida. Ellos han superado las reservas mentales que su padre no se atrevió a confrontar.

En otro orden de cosas, en mis diferentes responsabilidades de gestión universitaria, he trabajado para que la enseñanza y la investigación médica en la Facultad de Medicina dispusieran de las mejores instalaciones, acordes con la excelencia y la tradición de sus docentes y el impulso a una investigación que en muchos aspectos es pionera. En ellas se ubica esta Venerable Real Academia de Medicina, en una perfecta armonía entre docentes, investigadores y profesionales de la Medicina.

He dicho venerable y la Academia lo es por muchas razones entre las que destacaré la que establece su misión principal explicitada en el artículo tercero de su reglamento, donde se expresa que la Real Academia “tiene como misión principal contribuir al estudio y la Investigación de las Ciencias Médicas, de las Ciencias Afines, de la Bioética y Ética Profesional”. Misión ésta que la hace acreedora del mayor reconocimiento. Venerable también, porque en ella se ha reunido a lo largo de sus casi doscientos años de existencia, el elenco más sobresaliente de académicos, pero sobre todo de médicos de nuestra Comunidad, donde se aunaron y hoy se unen experiencia e inquietud innovadora.

Venerable también porque en unos pocos años (18), la Real Academia de Medicina alcanzará sus doscientos años de existencia legal (1830) y de fructífera acción en beneficio de nuestra sociedad.

Gracias finalmente profesor Franco, gracias amigo Luis, por tus cariñosas palabras y la presentación que de mí has hecho. En alguna medida la amistad que nos tenemos te ha hecho magnificar una trayectoria que si algún valor ha tenido ha sido el del trabajo, que he podido realizar con la ayuda de los míos.

### NANOMUNDO y NANOCIENCIA

- El prefijo nano se refiere a la milmillonésima parte de la magnitud a la que se aplica, y así, un nanómetro es  $10^{-9}$  metros.
- En la PPT-2, se aprecian las escalas de tamaño en el Universo.
- EN la PPT-3, se aprecian las escalas de tamaño de las células en relación al ser humano.
- En la PPT 4 se aprecian las escalas de los virus, proteínas y ADN respecto del tamaño celular.
- Convencionalmente el mundo de la nanociencia se sitúa en el intervalo comprendido entre 1 y 100 nm de tamaño, con algunos márgenes por encima, en algunos casos, alcanzando hasta unos 500 nm.
- En estas dimensiones se producen fenómenos físicos o químicos que no se dan en el mundo macroscópico, y de los cuales se derivan algunas consecuencias que permiten diseñar nuevas aplicaciones, como es el caso de la resonancia plasmónica a la que más adelante me referiré.
- De este modo, la Nanociencia se plantea, de una parte, el estudio de la Física y la Química en esa escala, con el análisis de propiedades nuevas y sus usos potenciales, y de otra el diseño y “construcción” de objetos a escala nanométrica.

### Nanomáquinas.

En la naturaleza existen orgánulos a escala nanométrica que se comportan como verdaderas factorías, que transforma sustancias, producen nuevas y “generan energía”. Citaremos como ejemplo:

- Los cloroplastos, donde se produce la fotosíntesis en los vegetales, donde los discos tilacoides que contienen la clorofila convierten el  $\text{CO}_2$  en energía química

que el organismo utiliza en multitud de procesos, mediante la acción de la luz, en lo que conocemos como función clorofílica. PPT-5.

- O, como el complejo F1-ATP-asa, aquí esquematizado, que capacitan a las células para producir “combustible” Bioquímico cuando es necesario, mediante mecanismos que podrían asimilarse a verdaderos motores a escala nanométrica. PPT 6.
- O, como minúsculos depósitos de hierro como es el caso de la ferritina, proteína que genera una cavidad en la se pueden almacenar unos miles de átomos de hierro, que pueden liberarse cuando el organismo lo demanda. PPT 7.

Incluso en experiencias se “ha vaciado de hierro” y se ha rellenado de otros elementos o compuestos transformados en vehículo.

En sentido estricto, los estudios citológicos y no pocos de los mecanismos de acción biológica y/o farmacológica habrían sido en sí mismos Nanociencia, por la dimensión de los sistemas que consideran.

Nos encontramos de hecho en un mundo nuevo, que habrá que explorar con nuevos instrumentos, o adaptar los existentes a este universo de Liliput, donde el tamaño no sólo es un factor limitante en sí, sino que abre un mundo de posibilidades.

## **NANOCIENCIA Y MEDICINA: ¿CIENCIA FICCION?**

Me gustaría indicarles que la Nanociencia se desarrolla en sentido estricto en el marco de la ciencia que se soporta en las leyes de la naturaleza, y no en la imaginación y la fantasía.

- Podríamos imaginar un momento y un lugar en el que se fabricasen nanorrobots que cual buenos “barrenderos” limpiasen las paredes de los vasos sanguíneos de adherencias y obstrucciones por medios estrictamente mecánicos PPT-8.
- O de un submarino nanorrobot que viniese dotado de un potentísimo láser y una computadora selectiva que “FULMINASE” a los gérmenes patógenos y sólo a ellos PPT-9. (Recordemos la película y la novela de Asimov. “El viaje alucinante”).
- O un nano-robot, caballero andante, que con su lanza o espada destruyese uno a uno a los microorganismos patógenos, o a las células malformadas. PPT 10

- Les digo que estas nano-máquinas de acero no existirán a medio ni, casi con seguridad, largo plazo. Cuidado con las novelas y las fantasías.

## NANOPARTICULAS “PERFORADORAS”

Abramos un pequeño paréntesis:

- Incremento notable de las enfermedades infecciosas.
  - o Rebrote de la tuberculosis en Europa.
  - o Infección MSA hospitalaria (18.000 defunciones/año en USA).

Una de las causas de estos rebrotes, en un mundo cada vez más higienizado, se achaca al desarrollo de resistencia por las bacterias Gram-positivas (p. ej. *Staphilococcus aureus*) y Gram-negativas (*E. Coli* o *Pseudomonas aeruginosa*) de resistencia a los antibióticos, para superar la cual se sintetizan nuevos antibióticos a los que pronto las bacterias desarrollan resistencia. Estamos en una carrera que parece perdida de antemano, pero...

Hendrik (Laboratorio de IBM en Almaden) y Quiao (Instituto de Bioingeniería y Nanotecnología de Singapur) han diseñado lo que podríamos llamar una navaja “NANOTECNOLÓGICA”, basada en los polímeros indicados en la PPT-11.

- Han creado nanopartículas recubiertas con el polímero que exhibe todo un rosario de cargas positivas.
  - Estas cargas positivas se depositan sobre las membranas bacterianas que, es sabido están cargadas negativamente.
  - La partícula se fija en la membrana, produciendo un agujero en la misma, que el polímero mantiene abierto. La bacteria se desinfla como un globo que hubiese pinchado, vertiendo su contenido citoplásmico e interrumpiendo su Bioquímica y por tanto muriendo. PPT-12
  - Nótese de la imagen que para cada bacteria hay un polímero distinto, ello habla de la selectividad, incluso de la reformulación caso que se desarrollase resistencia. NO HAY DROGAS.
- 
- Esas nanopartículas no afectan a los glóbulos rojos y otras células del organismo (Su carga negativa y distribución no es la misma que en las bacterias), o lo hacen en una proporción mínima PPT-13.

Se abre una nueva perspectiva llena de esperanzas (El trabajo se publicará en forma impresa el próximo mes de febrero) con estos “nano caballeros andantes”.

## **ESTRATEGIAS TERAPEUTICAS CONTRA EL CANCER**

No es mi intención hacer una revisión completa de las estrategias terapéuticas contra el cáncer, y menos ante un auditorio donde existen verdaderas autoridades en la materia.

Resumiría diciendo no obstante que:

- El número de publicaciones científicas al respecto es inconmensurable.
- Se han descrito múltiples tipos de cáncer.
- Se han localizado tumores cancerosos en prácticamente todas las partes del organismo.
- Se ha avanzado muchísimo en el desarrollo de terapias eficaces en muchos tipos de patologías tumorales, entre las que cabe indicar como más utilizadas (PPT-14)
  - o La quimioterapia
  - o La radioterapia
    - Radiaciones externas
    - Isótopos radioactivos implantados en el organismo.
  - o La terapia genética en sus diferentes variantes
  - o La Fotodinámica.
  - o La Hipertermia.
- La efectividad de esas terapias exige:
  - o Que los agentes terapéuticos tengan acceso directo a las células a destruir.
  - o Que las identifiquen diferencialmente de las células sanas.
  - o Que respeten a éstas y no las dañen.
  - o Que se pueda tener un seguimiento de su trayectoria y de las diferentes etapas desde su ingreso en el organismo, hasta las membranas de las células afectadas, y en el interior de las mismas si cabe.

Todos estos extremos son los que se tienen en cuenta de un modo especial en el diseño y utilización de las nanopartículas teranósticas. PPT-14.

## TERANÓSTICA

El término “teranóstica”, acuñado en 2002 por Funkhouser se refiere a la materia que combina las modalidades de la terapia y el diagnóstico por la imagen. La teranóstica aporta agentes terapéuticos y agentes de diagnóstico por la imagen al mismo tiempo en el mismo soporte. PPT-14

El objetivo final de la teranóstica es conseguir la capacidad de visualizar y monitorizar el tejido enfermo, la cinética de transporte, y la eficacia del tratamiento, con la esperanza, a largo plazo, de alcanzar la capacidad de sintonizar la terapia y la dosis con un control hasta hoy difícil de alcanzar, y ello se realiza mediante el empleo de nanopartículas teranósticas que combinan esas capacidades en una única estructura.

En ellas se combinan estrategias terapéuticas, que no son nuevas, como pueden ser el suministro de ácidos nucleicos, la quimioterapia, la hipertermia (ablación fototérmica), fotodinámica, y la terapia por radiación. En la misma nanopartícula, junto a los elementos terapéuticos se reúnen funcionalidades de imagen tanto para estudios *in vitro* como *in vivo*. En ellas se incluyen diferentes marcadores, tales como agentes de contraste MRI (resonancia magnética de imagen), marcadores fluorescentes (colorantes orgánicos o puntos cuánticos inorgánicos) y agentes marcadores nucleares (agentes PET/SPECT). También están presentes elementos localizadores para reconocer y/o fijar las células tumorales. PPT-15

**NANOPARTICULA: VEHICULO DE TRANSPORTE “Y ENTREGA”, PERMANENTEMENTE SEGUIDO POR RADAR.**

En esta imagen (PPT-16), se visualizan los principales componentes de una partícula teranóstica antes mencionados. Cabe indicar además que en una única partícula teranóstica pueden incluirse más de un tipo de componentes, simultaneándose distintos agentes terapéuticos y o de imagen.

En esta imagen se hace aparente que los agentes se incluyen en una cavidad; no siempre es así, en muchos casos pueden dispersarse en una matriz porosa, o bien depositarse en la superficie. También las nanopartículas suelen recubrirse de sustancias químicas que posibiliten su estabilidad en medio acuoso sin que se

aglutinen o se desmoronen. En un ser vivo las partículas pueden introducirse en el organismo lejos de su lugar de acción, al que deben llegar “intactas” (PPT-17)

Los aspectos más prometedores de la utilización de nanopartículas como agentes terapéuticos, de diagnóstico, y teranósticos son su potencial de localizar (o ser dirigidos a) de modo específico el sitio de la enfermedad y reducir o eliminar los posibles numerosos indeseables efectos colaterales.

El tamaño nanométrico de estos materiales (no son moléculas en sentido estricto) hace más difícil el que sean rápidamente eliminados por los riñones, prolongando su tiempo de circulación en la sangre dependiendo de sus características funcionales superficiales. (Comentar mirando la PPT-18). Además, en muchos tipos de tumores los vasos sanguíneos son de forma irregular, están dilatados, son frágiles y pueden presentar aperturas en células endoteliales. A causa de la alterada anatomía de los vasos tumorales, las nanopartículas pueden extravasarse fácilmente desde la sangre a los tejidos tumorales donde pueden ser retenidas a causa de un escaso drenaje linfático, a causa de su tamaño, y allí liberar sus principios activos de manera selectiva.

## **TERAPIA CON ACIDOS NUCLEICOS**

La terapia con ácidos nucleicos se presenta prometedora en el tratamiento de enfermedades, tanto adquiridas como hereditarias. Además de la tradicional “terapia genética”, en la que se reemplaza una copia defectuosa de un gen con una funcional (terapéutica), existen otras formas de ácidos nucleicos como terapéuticas corrientes o potenciales, tales como los que hacen uso de las plasmidas, los oligonucleótidos y “small interfering” RNA (siRNA) por citar algunas. Estos polinucleótidos pueden alterar la expresión genética a nivel transcripcional o postranscripcional y pueden ser efectivos en el tratamiento del cáncer. El éxito de las modalidades terapéuticas con polinucleótidos reside en su transporte eficiente al lugar de la enfermedad, pero los ácidos nucleicos son moléculas grandes, cargadas negativamente que son altamente susceptibles de degradación enzimática; no son fáciles de introducir en una célula que contiene una membrana plasmática cargada negativamente; en todo caso la inyección sistémica de DNA desnudo es ampliamente inefectiva a causa de la mínima cantidad de polinucleótido que alcanza el destino final intracelular.

Recientemente se han desarrollado vehículos no virales, que tienen el potencial de no ser tóxicos y menos inmunoestimuladores, como frecuentemente sucedía con los



portadores virales modificados, y que puedan ser mas versátiles para su modificación y el transporte de diferentes tipos de cargas de drogas así como su liberación en el interior celular. Se han desarrollado y estudiado con detalle, vehículos no virales basados en polímeros sintéticos, dendrímeros, liposomas, péptidos penetradores de células, nanopartículas inorgánicas. Estos tipos de vehículos también poseen la ventajosa capacidad de ser fácilmente modificados para usos terapéuticos.

Por ejemplo, Godbey et al (15) investigaron el tránsito intracelular de complejos (poliplejos) PEI-DNA hacia el núcleo con ayuda de microscopia confocal de escaneo. El (polietileno imina-es el vehículo) PEI y el DNA se etiquetaron con Verde Oregón 488 y rodamina, respectivamente, y se monitorizó la señal amarilla resultante de la colocalización del verde (PEI) y el rojo (DNA) para entender el tránsito de los complejos PEI-DNA. Investigaron también los poliplejos PEI-DNA después de la endocitosis, revelando que el PEI entra al núcleo junto con el DNA.

El seguimiento del tránsito intracelular se ha seguido por muy diversas técnicas espectroscópicas como espectroscopia de correlación de fluorescencia (FCS), de fluctuación de fluorescencia (FFS), y otros estudios de fluorescencia, como la FRET (fluorescencia por transferencia de energía por resonancia – pares)

Estas técnicas acusan algunas problemáticas asociadas a los colorantes como el “fotobleaching”, por la intensidad de las fuentes luminosas, el decaimiento de la fluorescencia, y dificultad a la hora de aglutinar en la nanopartícula el DNA y el portador por interferencia de los colorantes.

Como alternativa se plantea el sustituirlos total o parcialmente por puntos cuánticos (QD).

Los QD son semiconductores inorgánicos (SZn SeSN,...) que, en función de su composición y/o tamaño pueden exhibir comportamiento fotofísico a muy diversas longitudes de onda. La propia envoltura de la nanopartícula evita problemas de toxicidad.

En la PPT-19 se resume la experiencia FRET (Espectroscopia de transferencia de energía por resonancia) de Ho y colaboradores para detectar la endonucleosis del agente terapéutico DNA, monitorizando la disociación de la partícula:

- Problema de funcionalización (enlaces químicos para aglutinar las partes. Uno de los mayores retos de estas técnicas).

- Los polímeros de recubrimiento y/o portadores, como el polietileno glicol o el quitosan, por ejemplo, deben tener un comportamiento hidrófilo cara al exterior de la NP, y la capacidad de enlazarse con los núcleos y los otros componentes (En el quitosan las funciones amina). Las cargas positivas del polímero coadyuvan de hecho a la nucleación con plasmidas de DNA, que exhibe cargas negativas.

En la PPT-20 se esquematiza la utilización de un QD como agente nucleador de una NP.

Otros marcadores quelados: PPT-21

Las cargas positivas del polímero (PEI–polietileno imina) coadyuvan a la nucleación con las plasmidas (negativo-DNA).

Se hace uso de las propiedades de los cationes quelados con DTPA. ácido dietileno pentaminotetraacético)

Cationes: Eu, Tb – fluorescencia – colorante que puede usarse en experimentos FRET (LRET) como el antes descrito (en lugar de los QD) con Cy5 por ejemplo (monitorizar disociación de la partícula)

Cationes como  $Gd^{+3}$  – contraste RMN – RMI.

Radioactivos con emisión de positrones como el  $^{64}Cu$ (para PET)

## **MARCADORES MAGNÉTICOS:**

Sustancias con propiedades magnéticas que se hacen servir para su seguimiento por técnicas de resonancia magnética de imagen. Comentar PPT-22.

- El marcador es el núcleo de USPIO (óxido de hierro superparamagnético ultrapequeño). Monitorizado por el tiempo de relajación (MRI).
- Los núcleos se aglutinan con DNA, formando la Nanopartícula, que cuando penetra en la célula se disocia liberando el DNA.
- Se aprecia que el tiempo de relajación  $T_2$  es mayor con la partícula aglutinada.

Davis y colaboradores han desarrollado una serie de policonjugados lineales que contienen ciclodextrina (CDP's) para transportar ácidos nucleicos in vivo. Sus estudios en ratones han indicado, bajo inyección sistémica, que puede alcanzarse una captación significativa (de poliplejos conteniendo policonjugados de ciclodextrina y siRNA frente al gen EWS-FLI1 para tratar el sarcoma de Ewing en el microentorno del tumor a causa

del efecto EPR. Bartlet et al. Investigaron la biodistribución y la farmacocinética de los poliplejos creados complejando CDP con siRNA mediante la tomografía de emisión de positrones (PET), tomografía computerizada (CT), y visualización (Imaging) por bioluminiscencia (BLI). Los vehículos de transporte CDP se conjugaron con ácido 1,4,7,10-tetraazacyclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTA), un agente quelante del  $[^{64}\text{Cu}]$ , para introducir la funcionalidad de imagen micro-PET/CT, utilizándose transferrina como “buscador”.

## QUIMIOTERAPIA

En los últimos años se han desarrollado varios tipos de vehículos transportadores de drogas, tales como micelas poliméricas, copolímeros de bloque, liposomas, nanopartículas inorgánicas de óxido de hierro recubiertas con un polímero biocompatible, y conjugados de puntos cuánticos. Esos vehículos se han utilizado para transportar una variedad de drogas anticancerosas hidrofóbicas/hidrofílicas tales como paclitaxel, doxorrubicina, metotrexato y camptotecina. Además de la inclusión de esas drogas los vehículos de transporte pueden ser cargados con varios agentes de visualización para monitorizar simultáneamente el transporte terapéutico.

Un ejemplo lo tenemos en los nanobiosistemas construidos por Pan y colaboradores (PPT-23)

El vehículo es PEI ramificada modificada. Hay un agente aglutinante que produce la forma toroidal

El agente de contraste es la porfirina de manganeso como trazador magnético, a fin de eludir el gadolinio que puede presentar problemas renales.

Los agentes terapéuticos son captopril y/o doxorrubicina.

El agente de “targeting” es un anticuerpo monoclonal que apunta a la fibrina (en coágulos; experiencia in vitro).

Se aprecia que tres días después de la transfección se siguen liberando cantidades sustanciales de drogas en el cultivo celular.

Langer y colaboradores (2010) desarrollaron materiales basados en poli (b-amino ester) (PbAE) modificado con poli (óxido de etileno) (PEO) como novedosas nanopartículas que son biodegradables, portadoras de drogas, no tóxicas y sensibles al pH. Los PbAE no protonados son insolubles a pH fisiológico, sin embargo la solubilidad aumenta con la protonación de las aminas a lo largo de la cadena polimérica. Por debajo de pH 6,5, el PbAE libera su carga de droga terapéutica como podría ser el paclitaxel, por ejemplo. Se ha estudiado la distribución in vivo de nanopartículas

encapsuladas en polímeros, en ratones desnudos mediante el radioetiquetado (PET) utilizando oxina de  $^{111}\text{Indio}$  (Figura 16b). Cuando los ratones portadores de tumores (adenocarcinoma de ovario humano) se evaluaron 5h después de la administración intravenosa, se observó un incremento de la acumulación en el tumor de 23 veces (respecto de la disolución acuosa de paclitaxel) de nanopartículas de PEO-PbAE.

En otra aproximación a la teranóstica, las asociaciones de nanopartículas magnetoplasmónicas (MPAs) combinan las propiedades ópticas y magnéticas de las nanopartículas metálicas y pueden visualizarse tanto con técnicas de imagen de resonancia magnética como técnicas de imagen fotoacústicas.. El campo de las MPAs se había restringido en principio al tratamiento de la hipertermia o ablación fototérmica en la terapia del cáncer, hasta ahora, y ha habido muy pocos ejemplos de incorporación de drogas a esas nanopartículas.

Chen et al. sintetizaron partículas magnetoplasmónicas con un núcleo de óxido de hierro magnético ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) que se recubría con una capa de sílice dispersable en el agua y posteriormente se funcionalizaba con nanopartículas de oro, formando estructuras en forma de corona enlazadas con un polímero de recubrimiento (PEG) que contenía en su superficie curcumina, una droga anticancerosa (PPT-24) ; utilizando microscopia electrónica de transmisión (TEM) se determinó que el tamaño de partícula era  $\sim 400$  nm y  $\sim 600$  nm, para la MPA-curcumina y la MPA-PEG-curcumina, respectivamente. El tiempo de relajación  $T_2$  de las células de leucemia humanas (HL-60) transfectadas con partículas de MPA cargadas con curcumina era inferior al de las células no transfectadas, tal y como cabía esperar. Los ensayos para examinar la eficiencia terapéutica revelaron que, mientras que la MPA-PEG-curcumina supera a la MPA-curcumina, ambos son potentes inductores de la apoptosis en las células HL-60 leucemia humana.

Ejemplo de funcionalidades multimodales (PPT-24) Xien y colaboradores (PPT-25):  
Núcleo Magnetita (vehículo), recubierta de dopamina para hacerla hidrofílica  
Agentes de imagen:

- La propia magnetita (Resonancia magnética de imagen)
- Cy5.5 Para imagen por fluorescencia.
- DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazacyclododcano-1,4,7,10-tetraacético)  $^{64}\text{Cu}$  (para PET)

Transporte de droga.

- HSA Sero albúmina humana, “dopable” con las drogas “ad hoc).

Se inyectó a ratas con implantes de células de glioblastoma (U87MG) PET a (1,4, y 18h) se aprecia en la fotografía (desde N distribución general a la acumulación en la región implantada)

Un ejemplo más del uso de materiales magnéticos como “visualizadores” (PPT-26)Liong et al

Vehículo: Sílice nanoporosa con fosfonato (agente hidrofílico) en la superficie para estabilizarlas en disoluciones acuosas. La sílice nanoporosa es fácilmente ingerida por las células (endocitosis) (30 minutos tras la transfección).

Grupos silano en la superficie

Contraste:nanocristales de óxido de hierro superparamagnético.

(ó colorantes fluorescentes : isotiocianato de fluoresceína)

Targeting: grupos ácido fólico dirigidos a receptores alfa-folato superficiales de células cancerosas pancreáticas PANC-1 y BxPC3

Drogas: Dispersas en la sílice (camptotecina y paclitaxel)

## TERAPIA FOTODINAMICA

En la terapia fotodinámica (PDT), en la célula tumoral se libera una droga que contiene un fotosensibilizador, de modo que por la activación luminosa genera oxígeno singlete y radicales libres (especies de oxígeno reactivas (ROS)) que inducen la apoptosis. Se requieren tres aspectos importantes para el éxito de la PDT: (i) minimizar la toxicidad sistémica, (ii) una adecuada permeabilidad del oxígeno y de difusión de la droga en la región enferma, y (iii) suficiente concentración de fotosensibilizador en la región de interés (para producir un alto rendimiento cuántico en oxígeno singlete)

Los derivados de la porfirina son los fotosensibilizadores más frecuentemente utilizados en PDT. Cuando se irradian con la longitud de onda adecuada, la porfirina produce oxígeno singlete citotóxico por la reacción de la porfirina en estado excitado con el oxígeno molecular cercano. En la PDT, la toxicidad fuera del blanco puede prevenirse porque la generación de especies citotóxicas sólo ocurre en el lugar iluminado y donde esté presente el fotosensibilizador, lo que permite terapias localizadas. Esta acumulación localizada de la droga puede además reforzarse por la conjugación con mitades targeting y/o encapsulado en nanopartículas para aumentar la concentración en el sitio apuntado. La adición de grupos targeting puede ayudar a

reducir una de las mayores limitaciones asociadas a la PDT –el aumento de la fotosensibilidad del paciente debida a la prolongada acumulación de la droga en la piel.

Reddy et al. han sintetizado nanopartículas (~40 nm) de poli(acrilamida) (PAA) con PHOTOFRIN y óxido de hierro superparamagnético encapsulados, recubiertas con grupos PEG y un péptido F3 buscador vascular y que favorece la endocitosis, que apunta a las células cancerosas cerebrales. La irradiación láser (630 nm) durante 5 min indujo hasta el 90% de la muerte celular 4h después de la transfección). El PHOTOFRIN es una mezcla de oligómeros de la porfirina, y la PAA lo protege de la acción celular. El conjunto recibe el nombre de droga extracelular de visualización y tratamiento de tumores cerebrales por PDT.

Comentar la imagen PPT-27 (Cheng et .al)

Añadir a una nanopartícula basada en sílice mesoporosa

- Gran área superficial
- tamaño de poro uniforme
- tamaño de partícula 70-100 nm.
  
- Un agente terapéutico fotosensibilizador que a su vez es un marcador fotofísico que está formado por un quelado porfirina-paladio unido covalentemente a la sílice (ver
  - o Tiene un tiempo de vida de fosforescencia largo (permanece en estado excitado un tiempo grande)
  - o Genera oxígeno reactivo (destructor de células)
    - Singulete
    - Radicales libres
  
- Células MDA-MB-231 de cáncer de mama, con 25 microgramos de MSN dopado durante 2 h a 37 °C, seguidas de fotoirradiación ( 532 nm) mostraron una amplia extensión de muerte celular.
  
- Este tipo de tratamiento ha sido aprobado por la FDA para degeneración macular por la edad; cáncer de esófago obstructivo y algunas formas de cáncer de pulmón. (Hay que iluminar el sitio tumoral)

LA HIPERTERMIA

La hipertermia, también llamada ablación fototérmica, es un tratamiento físico del cáncer que implica la muerte de células cancerosas en presencia de calor. La hipertermia conduce a la muerte celular por apoptosis causada por el calentamiento de los tejidos o las células afectadas a una temperatura de 42-46 °C; por encima de 46 °C. La ablación fototérmica puede causar necrosis no deseadas en las células del entorno, si se aplica de manera indiscriminada. En principio ello puede conseguirse mediante nanopartículas que no necesitan transportar una carga farmacológica adicional.

En la hipertermia las nanopartículas de oro se han utilizado más frecuentemente que las de otros metales pesados (como plata o cobalto) a causa de la singular interacción del oro con la luz, que resulta en la resonancia plasmónica superficial (SPR). En presencia de radiaciones electromagnéticas oscilantes a una particular frecuencia de resonancia, los electrones libres del oro experimentan oscilaciones coherentes colectivas (resonancia plasmónica, SPR) que pueden decaer vía emisión de calor. A longitudes de onda NIR, la absorción de los fluorocromos biológicos innatos en agua es baja, y por tanto, la luz NIR puede penetrar profundamente en los tejidos hasta donde se encuentren las nanopartículas de oro, sin causar daños a las células sanas del entorno.

Nanojaulas de oro porosas (PPT-28)

Xia et al han desarrollado unas nanopartículas ingeniosas:

Las nanojaulas pueden cargarse con drogas terapéuticas (doxorubicina, p.ej.).

Se recubren por un polímero sensible al calor [poli(N-isopropilacrilamida)].

A temperatura ambiente el polímero recubre y “tapa” los poros, y retienen la droga en el interior. Con un láser NIR, el oro experimenta la resonancia plasmónica>; se calienta el polímero de recubrimiento colapsa y “se abren los poros” liberando la droga que produce su efecto.

A la superficie de la partícula se le añadió SV119 que se fija sobre los receptores sigma-2 que están sobreexpresados en la célula tumoral.

El oro tiene múltiples ventajas unidas a su efecto plasmónico, junto a la no toxicidad, pero tiene el inconveniente de su precio y se buscan afanosamente otros metales que pudieran reemplazarlo. También se ha asociado frecuentemente oro con óxidos magnéticos en nanopartículas para combinar efectos terapéuticos y de seguimiento ya que estos últimos favorecen la agregación, permiten un fácil seguimiento por técnicas de resonancia magnética de imagen, aprovechando el efecto terapéutico de la resonancia plasmónica del oro, al irradiar con un láser NIR,

resultando así un calentamiento de la nanopartícula. A ella se le puede incorporar finalmente una capa de PEG y un anticuerpo apuntador, Erbitux (ERB), que se enlaza a los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) que está sobreexpresado en ciertas células cancerosas. (Comentar PPT-29)



## HIPERTERMIA MAGNETICA PPT-30

En 1957, Gilchrist y colaboradores fueron los primeros en introducir el concepto de hipertermia magnético fluida (magnetic fluid hyperthermia MFH) , en la que partículas magnéticas, en presencia de un campo magnético producen calor por pérdida de histéresis y, por tanto pueden utilizarse para el tratamiento por hipertermia. En presencia de un campo magnético de alta frecuencia (168 kHz, 21 kA/m), esas partículas pueden calentar las células de su entorno hasta 48 °C . En esas condiciones, se induce un impresionante 82% de muerte celular con 1 h de tratamiento. Se ha propuesto que introduciendo anisotropía estructural (introduciendo cobalto) en las nanopartículas magnéticas de óxido de hierro, se incrementa todavía más la eficiencia hipertérmica. La imagen PPT-29. Resume este comportamiento de una forma genérica en este tipo de terapia, que se ha superpuesto a una terapia de siRNA, donde las nanopartículas, de un modo coloquial sólo han suministrado las “estufas” magnéticas a las células enfermas. (PPT-31)

Las nanopartículas pueden ser también idóneas en las terapias por radiación interna por isótopos radiactivos que pueden situarse selectivamente en las células enfermas encapsulados en estas nanopartículas, minimizando los efectos perniciosos en los tejidos sanos, pero ya no comentaré estos casos pues el tiempo, todavía no ha sido posible encapsularlo en una nanopartícula, y por ello termino este paseo descriptivo.

La utilización de nanopartículas no queda restringida a las terapias sobre cáncer. También las nanopartículas son excepcionalmente útiles en el transporte y la liberación de todo tipo de fármacos, especialmente antibióticos, siguiendo estrategias de acceso, seguimiento y endocitosis semejantes a las aquí descritas, pero no es posible hablar de ello en unos pocos minutos.

Desarrollar nanopartículas exige una gran dosis de imaginación y el ejercicio de un vasto conocimiento químico para que los enlaces entre las diferentes partes de una nanopartícula sean lo suficientemente robustos para mantenerla en su integridad hasta alcanzar su destino y a la vez puedan deshacerse cuando lo alcance y comience a ejercer su acción.

Lo que acabo de exponerles no se refiere a un hipotético mundo de nanorrobots metálicos con su “inteligencia”, sus armas y sus motores como les mostré al principio. La inteligencia, las armas y los motores se acogen mejor en nuestro caso a una

estructura construida con diversos elementos, cual si de un “lego” se tratase, donde lo menos importante es la figura, pero donde queda bien representada la versatilidad y la complejidad. (PPT-32)

Así, me gustaría más la representación PPT-33, la de un vehículo de “reparto” construido con muy diversas piezas, todas las cuales tienen su función.

Esta podría ser una historia interminable pues el número de publicaciones que he podido consultar sobre nanopartículas teranósticas no ha sido sino una fracción ínfima de los trabajos publicados al respecto desde el inicio del siglo XXI. Pero no les voy a cansar más. Son multitud las estrategias que están poniéndose a prueba frente a todo tipo de enfermedades con resultados tremendamente exitosos en los experimentos “*in vitro*” e “*in vivo*” sobre animales de laboratorio. Salvo excepciones quedan todavía algo lejos los experimentos o pruebas clínicas en seres humanos. Quedan problemas por resolver por lo que a la toxicidad se refiere, selectividad celular, etc..., pero ¿qué seríamos sin problemas?

Pero sí podríamos imaginar un futuro en el que un paciente fuera tratado con pequeñas partículas dirigidas, cargadas con fármacos que, desde su administración, el médico fuera capaz de observar en el interior del paciente para ver si el agente terapéutico alcanzó su objetivo, un órgano, un tumor... Tras esta observación, podría saberse la cantidad del vehículo que alcanzó el objetivo para una determinada dosis, y consecuentemente determinar si es suficiente o si por el contrario puede modificarse la dimensión de la dosis o la periodicidad de su administración, de forma específica. En cierto modo la nanomedicina puede llevarnos a una medicina personalizada.

Se ha abierto una ventana sobre un vastísimo campo en el que, a no dudar, se encuentran soluciones a multitud de dolores y sufrimientos que angustian a la humanidad, y que por ello exigen nuestro esfuerzo en la búsqueda y la implementación de esas soluciones. En ello se está, la multitud de laboratorios que se aplican en todo el mundo a la teranóstica es una buena garantía de futuro. Futuro en el cual nuestro país no debe estar ausente, por encima de coyunturas económicas difíciles. Tenemos excelentes laboratorios biomédicos, tenemos laboratorios que se aplican a este gran universo de lo pequeño (nano) con gran afán. Incluso en Valencia. En la nanociencia convergen casi todas las ramas de las ciencias experimentales. Es inconcebible el progreso de la nanomedicina sin que se alíen la Biomedicina, la Química y la Física. Podemos y debemos hacerlo, y podemos hacerlo aquí. Habrá que ilusionar en ello a las nuevas generaciones y despertar en ellas el afán por superarse día a día.

No quisiera terminar sin agradecer la hospitalidad de la Real Academia de Medicina, que hoy nos acoge, en su nombre, muchas gracias señor presidente, y la amabilidad de todos ustedes al escuchar el relato de un pequeño viaje sobre un mundo para mí nuevo y que no hace mucho descubrí.

Muchas gracias