



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Nanopartículas magnéticas para el tratamiento y diagnóstico del cáncer.

Magnetic nanoparticles for cancer treatment and diagnosis.

Autor: Dña. Marina Bousquets Niño.

Directores:

Dra. Elena M^a Navarro Palomares.

Prof. Juan Carlos Villegas Sordo

Santander, Junio 2020

<u>ÍNDICE</u>	<u>Pág</u>
RESUMEN.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	4
1.1.- CÁNCER.....	4
1.1.1.- Problemática en diagnóstico y tratamiento del cáncer.....	4
1.2.- NANOTECNOLOGÍA Y NANOMEDICINA.....	6
1.2.1.- Propiedades de las Nanopartículas (NPs).....	7
2. NPs MAGNÉTICAS (NPMs).....	9
2.1.- Tipos de recubrimientos.....	11
2.2.- Farmacocinética de las partículas y su influencia en el diagnóstico y tratamiento del cáncer.....	12
3. NPs MAGNÉTICAS PARA TERAPIA ANTITUMORAL.....	14
3.1.- Terapia mediante hipertermia.....	16
3.2.- Liberación dirigida de fármacos.....	18
3.3.- Terapia génica.....	20
4. NPS MAGNÉTICAS PARA DIAGNÓSTICO.....	21
5. CONCLUSIONES.....	25
6. BIBLIOGRAFÍA.....	26
7. AGRADECIMIENTOS.....	30

RESUMEN

El cáncer es la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados. A pesar de los grandes avances logrados, el diagnóstico sigue siendo tardío y el tratamiento tiene importantes efectos secundarios. Para minimizar estos inconvenientes, la nanotecnología aplicada a las ciencias de la salud surge como una alternativa que trata de resolverlos por medio de nanopartículas (NPs). El principal objetivo de esta revisión es presentar los avances de la nanotecnología en la oncología y ver cómo las NPs pueden ser una potente y nueva estrategia para el tratamiento y/o diagnóstico del cáncer (teragnosis). De ellas, las nanopartículas magnéticas (NPMs) son unas de las más estudiadas por su elevada biocompatibilidad, porque su superparamagnetismo les confiere unas características únicas, y por la posibilidad de una funcionalización variable que las hacen útiles para diferentes aplicaciones.

En el tratamiento destacan las posibilidades que ofrecen las NPs estímulo-respuesta en la liberación de fármacos o cuando se actúa sobre las NPMs como transmisores de calor concentrándolo en una zona concreta sin afectar tejidos sanos (hipertermia), o cuando se les une fármacos, ADN o ARN a la superficie de la NP, de forma que se puedan dirigir selectivamente a un tumor aplicando un campo magnético externo.

En el diagnóstico por imagen, estas NPMs funcionalizadas se usan como agentes de contraste dirigidos en resonancia magnética para conseguir una mayor resolución y un diagnóstico precoz del tumor.

Palabras clave: *cáncer, nanopartículas magnéticas, hipertermia, liberación de fármacos dirigida, imagen por resonancia magnética.*

ABSTRACT

Cancer is the second leading cause of death in developed countries. Despite the great advances made, the diagnosis remains late and the treatment has significant side effects. To minimize these disadvantages, nanotechnology applied to health sciences emerges as an alternative that tries to solve them through nanoparticles (NPs). The main objective of this review is to present the advances of nanotechnology in oncology and to show how NPs can be a powerful and a novel strategy for the treatment and/or diagnosis of cancer (theragnosis). Magnetic nanoparticles (MNPs) are among the most studied ones due to their high biocompatibility, because their superparamagnetism gives them unique characteristics, and because the possibility of variable functionalization that make them useful for different applications.

In the treatment we can emphasize the possibilities offered by the stimulus-response NPs in the release of drugs or when using MNPs as heat transmitters by concentrating it in a specific area without affecting healthy tissues (hyperthermia), or when drugs, DNA or RNA are attached to the surface of the NP, so they can be selectively directed to a tumor by applying an external magnetic field.

In imaging, these functionalized NPMs are used as magnetic resonance targeted contrast agents for higher resolution and early diagnosis of the tumor.

Keywords: cancer, magnetic nanoparticles, hyperthermia, targeted drug release, magnetic resonance imaging.

1. INTRODUCCIÓN

1.1.- CÁNCER

La Organización Mundial de la Salud define el cáncer como “un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de las células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo. El tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo”.

El cáncer es la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados. En el 2013, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer estimaba que una de cada tres personas a lo largo de su vida la padecería. Aproximadamente, el 56% de estos cánceres son incurables y su mortalidad a los 5 años sería del 90 al 100%¹. La misma Agencia en 2018, matiza estos datos: uno de cada cinco hombres y una de cada seis mujeres en todo el mundo lo padecen en el transcurso de su vida, muriendo uno de cada ocho hombres y uno de cada once mujeres. Destaca que es debido al envejecimiento de la población y al aumento en la exposición a factores de riesgo de cáncer. Observa cambios de los cánceres relacionados con la pobreza o la infección y con aquellos que se asocian a estilos de vida típicos en los países industrializados.

Muchos cánceres se podrían prevenir evitando la exposición a factores de riesgo como el tabaco o el alcohol. Otros, un porcentaje importante, pueden curarse mediante cirugía, radioterapia o quimioterapia, especialmente si se detectan en una fase temprana. Hoy día se están realizando grandes esfuerzos en la prevención para lograr reducir las tasas de mortalidad de cáncer (cáncer de pulmón en hombres en el norte de Europa y América del Norte, o en el cáncer de cuello uterino en la mayoría de las regiones), mediante la implementación de programas para la detección precoz de los enfermos antes de que desarrollen los síntomas o muy al comienzo de la enfermedad para favorecer actuaciones posteriores con las denominadas terapias convencionales (cirugía, quimioterapia o radioterapia).

1.1.1.- Problemática en diagnóstico y tratamiento del cáncer

En la actualidad existen limitaciones en el diagnóstico y complicaciones en el tratamiento convencional del cáncer.

Respecto al diagnóstico, los marcadores tumorales séricos no son infalibles y necesitan otras pruebas para su confirmación. Los utilizados de manera habitual en la monitorización de la respuesta y en el seguimiento de los pacientes oncológicos tras las diversas terapias administradas, tales como el CA 15-3, CA 12-5 y CA 19-9, en pacientes diagnosticados y tratados de carcinoma de mama, carcinoma de ovario y carcinoma colorrectal, respectivamente, presentan limitaciones de su uso en la práctica oncológica como consecuencia de sus problemas de sensibilidad y especificidad².

Respecto a las técnicas de imagen como la mamografía, independientemente de la sobreexposición a las radiaciones, es reconocido su sobrediagnóstico y sobretratamiento en el cáncer de mama³.

Otras técnicas empleadas como la resonancia magnética nuclear (RMN), aparte de las limitaciones e inconvenientes que presenta como: peso del paciente, el estar inmóvil y reteniendo la respiración, la presencia de implantes, su larga duración, y de las limitaciones del uso de contraste (problemas renales, alergias, etc.), no siempre distingue entre tejido de canceroso y líquido de edema. Por este motivo en el cáncer de mama, algunas veces, una porción de tejido benigno (no canceroso) puede absorber el agente de contraste y aparecer en la imagen una mancha brillante, lo que obliga a estudios complementarios como el ultrasonido de esa zona específica o una biopsia. En algunos tumores, como en el cáncer de recto, se sobreestadifica los estadios T2 sobre los T3 ya que no puede distinguir infiltración tumoral de reacción desmoplástica⁴.

Otra problemática es la detección tardía, en estadios demasiados avanzados, que conllevan un mal pronóstico. En estos casos se necesita desarrollar herramientas alternativas para detectar lo antes posible esta patología.

Respecto al tratamiento, las terapias convencionales se basan en una combinación de cirugía, quimioterapia y/o radioterapia. No obstante, todas llevan asociados diferentes limitaciones y efectos secundarios.

La cirugía que extirpa el tumor junto con el tejido circundante para eliminar las posibles células cancerosas no es tan eficaz cuando ya existen metástasis. En otras ocasiones no es posible su erradicación por la localización del tumor o simplemente porque el cirujano no puede delimitar claramente los márgenes quirúrgicos, lo que puede dar lugar a recurrencias en el futuro originadas a partir de células tumorales que no se hayan eliminado por completo.

La quimioterapia, que es uno de los métodos terapéuticos más empleados, se apoya en la administración de fármacos antineoplásicos que impiden la proliferación y el desarrollo de células en rápido crecimiento y división, es decir, de células tumorales, independientemente del lugar en que se encuentren y de la existencia o no de metástasis. A pesar de atacar preferentemente a células tumorales, en algunos casos estas terapias no son capaces de discernir entre células tumorales o sanas. Son conocidos los efectos secundarios de la quimioterapia como la pérdida de pelo, náuseas, vómitos, diarrea, pérdida de apetito, disgeusia, xerostomía, etc., y a largo plazo en función del tipo de quimioterapia puede producir alteraciones cardíacas, hepáticas, renales o reproductoras, tal y como se recoge en la Tabla 1⁵.

La radioterapia es eficaz cuando destruye las células cancerosas del área tratada dañando su ADN (ácido desoxirribonucleico). A pesar de ser un tratamiento más localizado, al igual que la quimioterapia, también puede afectar a células normales adyacentes al tumor provocando efectos secundarios.

Para evitar en parte estos efectos secundarios, en los últimos años se han incorporado nuevos fármacos llamados agentes biológicos diana-específicos, fármacos antidiana o terapias dirigidas. Son fármacos que reconocen las características específicas de las células tumorales, que actúan directamente sobre proteínas o mecanismos implicados en la proliferación y crecimiento que son parte fundamental para el

desarrollo de la célula tumoral, con lo que retardan o detienen su crecimiento. Entre estos se incluyen: Imatinib (Gleevec, que inhibe la Tirocin Kinasa), trastuzumab (Herceptin, inhibe HER 2), rituximab (Rituxan, anti-CD20), erlotinib (Tarceva, anti-EGFR), bevacizumab (Avastin, anti-VEGFR-1 y -2), cetuximab (Erbix, anti-EGFR) y sorafenib (Nexavar, anti-Tirocin Kinasa).

Tabla 1.- Clasificación de la toxicidad de la quimioterapia en función del momento de aparición.

TOXICIDAD INMEDIATA (Horas-días tras QT)	TOXICIDAD PRECOZ Días-semanas tras QT	TOXICIDAD RETARDADA Semanas-meses tras QT	TOXICIDAD TARDIA Meses-años tras QT
Vómitos Fiebre Hiper/Hipotensión Flebitis Insuficiencia renal aguda Reacciones alérgicas Erupción cutánea Cistitis hemorrágica Necrosis tisular local	Alopecia Aplasia medular: leucopenia, anemia, trombopenia Mucositis Diarrea Íleo paralítico Hiperglucemia Psicosis Retención hídrica Síndrome pseudogripal	Ototoxicidad Anemia Aspermia Pigmentación cutánea Fibrosis pulmonar Neuropatía periférica Cardiotoxicidad Fibrosis del conducto lagrimal Ataxia cerebelosa Daño hepatocelular Fenómeno de Raynaud Síndrome hemolítico- urémico Hiperpigmentación cutánea	Hipogonadismo/ esterilidad Leucemias agudas Linfomas Encefalopatía Cataratas Carcinogénesis Menopausia precoz Fibrosis hepática/cirrosis Osteoporosis

No obstante, estos tratamientos no están exentos de riesgos dado que producen muchas resistencias y su espectro de toxicidad, el rango de gravedad y los posibles efectos adversos derivados de un uso prolongado aún permanece en estudio. Algunos de los efectos negativos que producen son: cardiotoxicidad, hemorragias, edemas, alteraciones gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea), etc.

Por tanto, debido a los diferentes efectos secundarios que se generan en las terapias convencionales y en las terapias moleculares dirigidas, como los mencionados anteriormente, se plantean nuevas alternativas para tratar esta enfermedad que sean menos invasivas y más específicas.

1.2.- NANOTECNOLOGÍA Y NANOMEDICINA

La nanotecnología es la aplicación del conocimiento científico para manipular y controlar la materia en la nanoescala y hacer uso de sus propiedades. Se define como la ciencia del diseño, síntesis, caracterización y aplicación de materiales y dispositivos cuyo tamaño oscila entre 1 y 100 nm (1 nm = 10⁻⁹ m), por lo tanto, a nivel de los átomos, moléculas y estructuras supramoleculares⁶.

A modo ilustrativo en la Figura 1 se recogen los tamaños que presentan diferentes estructuras en comparación con los nanomateriales⁷.

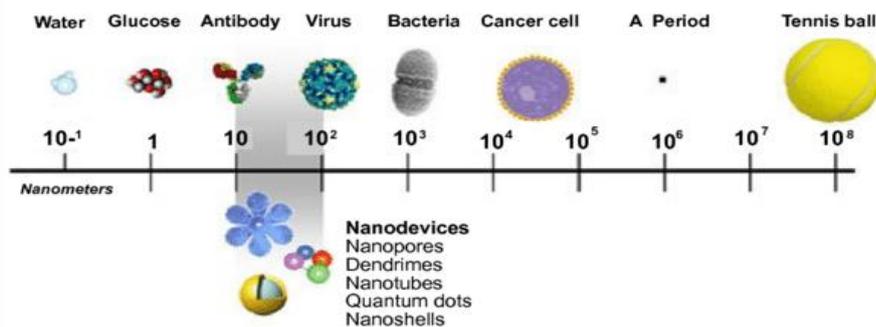


Figura 1.- Escala de tamaños donde se comparan las dimensiones de nanopartículas con las de otras estructuras.

Cuando se trabaja a esta escala, con materiales de reducidas dimensiones, se produce un cambio de las propiedades físicas y químicas de la materia. La conductividad eléctrica, el color, la resistencia o la elasticidad, entre otras propiedades, se comporta de manera diferente a como lo hace el material volumétrico⁸. Debido a su tamaño y a su alta relación superficie-volumen, estos materiales muestran importantes diferencias en comparación con el resto de los materiales, incluidos los cambios en las propiedades bioquímicas, magnéticas, ópticas y electrónicas⁹.

Gracias a estas propiedades pueden ser utilizados para el diseño de nuevas herramientas/aplicaciones terapéuticas y diagnósticas, surgiendo así una nueva disciplina en las ciencias de la salud: la nanomedicina.

Por lo tanto, la nanomedicina es un campo interdisciplinario donde la nanociencia, nanoingeniería y nanotecnología interactúan con las ciencias de la vida demostrando un potencial prometedor para revolucionar el diagnóstico y el tratamiento de diversas afecciones de la salud humana¹⁰ que hasta este momento demostraron ser insuficientes o ineficaces.

Esta capacidad de fabricar nuevas estructuras funcionales específicas nanométricamente, es la clave para el desarrollo de compuestos con mejores propiedades que se pueden utilizar en múltiples campos como en técnicas de imagen, para diagnóstico, para la prevención, para tratamiento o en medicina regenerativa, para maximizar la actividad terapéutica y minimizar los efectos adversos¹¹.

1.2.1.- Propiedades de las Nanopartículas (NPs)

Las Nanopartículas (NPs) son componentes clave de la nanomedicina. Existen muchas investigaciones que usan NPs enfocadas al diagnóstico y tratamiento de múltiples enfermedades¹² como la malaria, el VIH o infecciones nosocomiales o para combatir la enfermedad de Crohn y la artritis reumatoide, e incluso en la actualidad se está estudiando el uso de NPs para impedir o corregir defectos y el mal acoplamiento de proteínas que ayudaría a diseñar nuevas estrategias terapéuticas¹³.

Dentro de estas muchas aplicaciones, las NPs se usan sobre todo en el campo de la oncología para realizar diagnósticos más precisos y para el tratamiento del cáncer.

En la actualidad existen una gran variedad de tipos de NPs, cada una con características particulares, algunas de ellas comentadas en la Tabla 2¹⁴. Atendiendo a su composición se pueden clasificar en orgánicas e inorgánicas. Algunas veces combinan dos tipos de componentes, son las denominadas NPs híbridas¹⁵.

Tabla 2.- Características principales de algunas NPs.

ORGÁNICAS	<u>Dendrímeros</u>	Son polímeros sintéticos ramificados en forma de árbol donde en fármaco puede encapsularse o incorporarse en la superficie externa por enlaces covalentes o interacciones electroestáticas.
	Nanopartícula polimérica	Consta de un núcleo líquido (acuoso u oleoso) donde contiene el fármaco rodeado de una membrana polimérica, quedando el polímero y el fármaco uniformemente repartidos.
	Liposomas	Son dos capas lipídicas que encierran un núcleo acuoso, de manera que los fármacos hidrosolubles quedan en el núcleo y fármacos liposolubles en la bicapa lipídica.
	Micela	Tiene un núcleo hidrofóbico donde están los fármacos liposolubles y rodeado a la corteza polímeros hidrofílicos que lo estabilizan.
INORGÁNICAS	Nanopartícula de oro	Destacan por sus propiedades ópticas, aplicables tanto en diagnóstico como en terapia. En su superficie pueden conjugarse distintas moléculas (proteínas, polímeros) y unir fármacos.
	Nanopartícula de óxido de hierro	Gracias a las propiedades de su núcleo superparamagnético, puede emplearse en terapias como hipertermia magnética y en diagnóstico por RMI.
	Nanopartícula de sílice mesoporosa	De estructura esférica con poros para incorporar fármacos. Su apertura determina la liberación de los principios activos.
	Nanotubo de carbono	Estructuras tubulares biocompatibles donde los fármacos se conjugan en su superficie.

En la Figura 2 se recogen las formas de los diferentes tipos de NPs utilizadas¹⁴ en nanomedicina, cada una de ellas presentan unas propiedades singulares que hacen que sean útiles para unas aplicaciones u otras. Las más estudiadas son: los quantum dots, los dendrímeros, las NPs magnéticas, las NPs de oro, los nanotubos de carbono y los liposomas¹⁶.

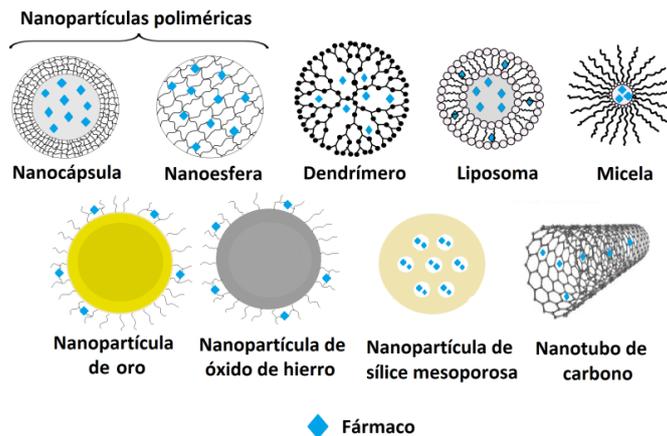


Figura 2.- Representación de los tipos de NPs más utilizadas en nanomedicina.

Por sus múltiples aplicaciones, una de las más estudiadas son las NPs magnéticas que a continuación se detallan.

2. NPs MAGNÉTICAS (NPMs)

Existen muchos materiales con propiedades magnéticas, pero destacan la magnetita (Fe_3O_4) y la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) por ser los más biocompatibles.

A estas partículas por sus propiedades, se les denomina SPION (en inglés, NPs superparamagnéticas de hierro). Como se aprecia en la Figura 3¹⁷, la SPION está formada por tres componentes: (1) núcleo de NPs magnéticas, (2) recubrimiento biocompatible y (3) ligando terapéutico de recubrimiento/diana.

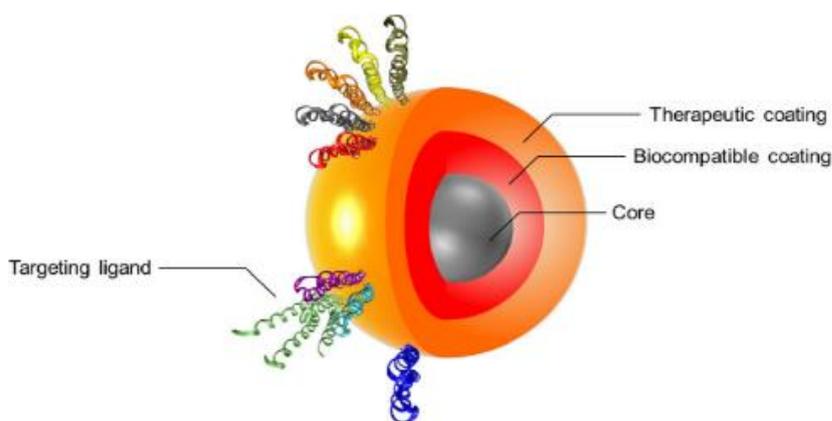


Figura 3.- Representación de una SPION multicapa

De estas estructuras destaca el recubrimiento, típicamente un polímero, que lo protege de la aglomeración y la oxidación para aumentar la estabilidad y biocompatibilidad de éstas durante el procedimiento de síntesis¹⁸. Este recubrimiento

permite personalizar diferentes aplicaciones en función de que lleven medicación para las dianas macromoleculares, transportar elementos útiles para la terapia o bien marcadores de imágenes para un mejor diagnóstico, modificando la farmacocinética y la biodistribución de la nanopartícula¹⁹ y reduciendo su toxicidad²⁰. Además, con este recubrimiento se protege de los agentes teratógenos que actúan sobre el sistema de defensa del organismo y se mejora la eficiencia de la administración de la terapia contra el cáncer, al evitar la acumulación no deseada en órganos secundarios²¹. Incluso pueden adquirir aplicaciones y funciones diferentes como es el caso de la teragnosis (diagnóstico + terapia) para tratar y monitorizar la eficacia terapéutica de una forma simultánea²².

El tamaño de estas NPMs es importante ya que van a presentar características diferentes. Para desarrollar una de las más importantes para las aplicaciones médicas, el superparamagnetismo, es necesario que las NPMs de magnetita tengan un diámetro menor de 25 nm y las de maghemita por debajo de 30 nm. Este comportamiento superparamagnético, es decir su magnetización, se ve activado cuando se aplica sobre él un campo magnético externo y desaparece volviéndose a inactivar cuando se deja de usar. El tamaño va a determinar otras utilidades terapéuticas; si tienen un diámetro entre 10 y 100 nm, alcanzan una mejor relación entre vida media y capacidad de circulación por vasos sanguíneos pequeños, y si son menores de 50 nm pueden atravesar la barrera hematoencefálica alcanzando el sistema nervioso central y pequeños vasos renales, por lo que resultan muy útiles como contrastes de resonancia nuclear magnética en patologías de riñón²³.

Respecto a la síntesis de las NPMs, no es muy compleja dado que todas ellas nacen de unas sencillas técnicas y fundamentos, pero su producción a gran escala y su reproducibilidad sí lo son debido a las propias exigencias del producto final, ya que tienen que ajustarse todos los parámetros milimétricamente, el tamaño de la partícula, su forma, la naturaleza del recubrimiento o su estabilidad en medios acuosos²⁴.

Para esta síntesis existen muchas técnicas como queda recogido en la Tabla 3²⁵ y de las que se pueden extraer sus ventajas y sus inconvenientes y por lo tanto su aplicabilidad.

Tabla 3: Técnicas de síntesis de NPs de hierro superparamagnéticas y sus principales ventajas y desventajas.

TÉCNICA [TAMAÑO OBTENIDO]	FUNDAMENTO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Co-precipitación [8-100nm]	Hidrólisis de iones de hierro en atmósfera inerte previamente disueltos en agua, pH= [8-14] $Fe^{2+} + 2Fe^{3+} + OH^- \rightarrow Fe_3O_4 + 4H_2O$ Ox. $\downarrow 2H^+$ $Fe_2O_3 + Fe^{2+} + H_2O$	Reactivos baratos Condiciones suaves. Síntesis directa en medio acuoso. Facilidad para la modificación de la superficie de la NP	Gran cantidad de parámetros a controlar Produce poblaciones polidispersas de NPs
Microemulsión [2-80nm]	Mezcla de dos microemulsiones: I) Micelas reversas conteniendo sales de hierro (FeCl₂, FeCl₃) II) Micelas conteniendo bases (NH₄OH, NaOH) Resultado: Hidróxidos de Hierro → calentamiento suave → magnetita y maghemita	Poblaciones monodispersas Las bases orgánicas sirven como recubrimiento Posterior. Método barato y reproducible	Complejidad del manejo de micelas reversas. El crecimiento no puede evitarse una vez formadas las NPs
Solidificación de soluciones	Soluciones de Tetraetilenglicol (TEG)+ Acetato férrico → TEG actúa como solvente, reductor a Fe ²⁺ y controla el tamaño de partícula	Recubrimiento de alcohol hidrofílico → dispersión en H ₂ O Estructura cristalina ordenada que favorece las propiedades magnéticas	Temperaturas elevadas
Sistemas mediados por aerosoles [5-60nm]	Sales de hierro disueltas que se nebulizan por distintos métodos sobre un reactor que evapora el solvente, precipitando sólidos secos	Distribución de tamaños estrecha Proceso continuo	Dificultad para optimizar el proceso y obtener las características adecuadas

2.1.- Tipos de recubrimientos

Los recubrimientos de las NPs son idealmente biodegradables y pueden ser de diferente naturaleza²⁶:

- naturales orgánicos.** Se incorporan a la superficie de las NPMs en el mismo proceso de síntesis y se caracterizan por su gran biocompatibilidad. Presentan numerosos grupos funcionales como: el dextrano, polisacárido complejo y ramificado formado por moléculas de glucosa, y el quitosano, polisacárido lineal formado por unidades repetidas de N-acetil-D-glucosamina y D-glucosamina. Los **sintéticos orgánicos** son varios. El polietilenglicol (PEG), el más utilizado, sirve para evadir las células del sistema reticuloendotelial, con lo que aumenta su vida media en la sangre²⁷. Otros polímeros también muy utilizados son el polivinil alcohol, que previene la coagulación, o el ácido poli-L-láctico. Además, al combinarse con otros grupos funcionales, les permite desarrollar otras cualidades.
- Inorgánicos.** Son metales, como el oro, y otros elementos, como la sílice y el carbono. El oro, gracias a su baja reactividad, va a proporcionar una gran

estabilidad uniéndose fácilmente a las moléculas con grupos tiol pero por el contrario les va a resultar difícil unirlos al núcleo de hierro²⁸. La sílice es muy útil porque proporciona estabilidad en medio acuoso de las NPs evitando su agregación. Al sintetizarse, existe además la posibilidad de crear en su estructura una modificación con poros que sirven para cargar fármacos en su interior.

En función del tipo de recubrimiento, estas NPMs de óxido de hierro poseen diferentes cargas superficiales: las recubiertas de dextrano tienen una carga prácticamente neutra; las revestidas de aminodextrano y de aminopropilsilano están cargadas positivamente; mientras que las cubiertas de ácido dimercaptosuccínico (DMSA) y de heparina poseen una carga negativa. En función de estas cargas variará su uso.

Por último, el medicamento antitumoral va a variar su concentración en el interior de la célula no solo en función de la concentración de éste, sino también del tipo de cubierta que use y de los tipos de enlaces covalentes que los unen (sensibles al ambiente reductor, sensibles al pH o a ambos).

2.2.- Farmacocinética de las partículas y su influencia en el diagnóstico y tratamiento del cáncer.

Las NPMs se usan para múltiples aplicaciones, pero adquieren una gran importancia cuando se usan para el diagnóstico y el tratamiento del cáncer. Su farmacocinética varía en función de varios factores que van desde la forma de administración, su composición, hasta las propias características del tumor.

Respecto a la vía de administración, cabe destacar que, independientemente de las barreras biológicas específicas que conlleva cada método usado en su administración, el sistema inmunitario del cuerpo trata de eliminarlas mediante procesos fagocíticos, metabólicos y degradativos de las células inmunes destacando entre estos los macrófagos tisulares. Por lo tanto, para aumentar la vida media y su concentración, lo que se hace es aumentar la dosis, aunque esto implica mayor toxicidad.

Adquiere una gran importancia el conocer su vida media porque en función de ésta se usarán para diferentes aplicaciones. Ésta depende de la estructura del SPION. Si el núcleo es grande la vida media aumenta, con lo que se puede acumular en los órganos deseados como los ganglios linfáticos, paredes arteriales, cerebro o tumores, pero a la vez puede aumentar su toxicidad a largo plazo. Si el núcleo es longitudinal también tienen una vida media mayor. El revestimiento influye también en la vida media de estas partículas; si no lo tienen se eliminan rápidamente, pero si se revisten de polímeros, el más popular es el PEG, se reduce esta degradación. El peso molecular, la forma, la carga y la densidad de injerto de las moléculas de recubrimiento también influyen en la vida media de las mismas.

La farmacocinética se ve influenciada también por las características de los tumores. Las células tumorales para crecer estimulan la producción de neovasos para

asegurarse un suministro adecuado de nutrientes y oxígeno. Estos nuevos vasos tienen una forma y arquitectura anormal, ya que tienen un revestimiento endotelial incompleto y menos pericitos, lo que conlleva a que tengan una mayor permeabilidad. Otra característica importante es que los tejidos tumorales generalmente carecen de drenaje linfático efectivo a su alrededor.

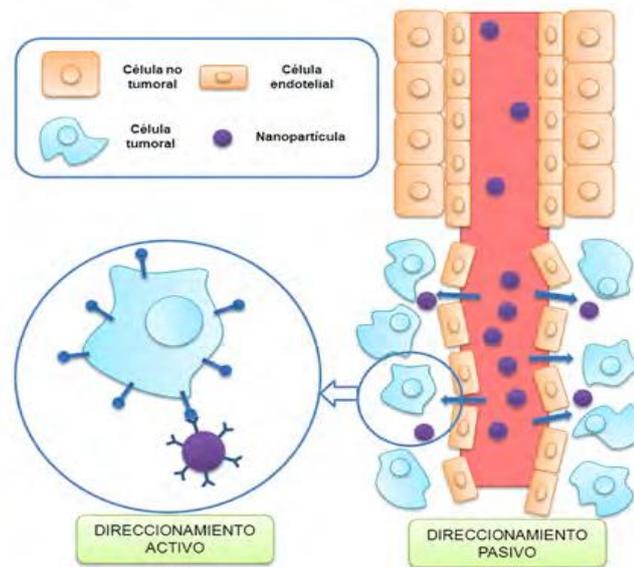


Figura 4.- Targeting activo y pasivo

Gracias a estas características de los tumores, las NPs se filtran al tejido tumoral a través de los vasos tumorales permeables de pequeño calibre (capilares) donde se produce un fenómeno de distribución y acumulación debido a su pobre drenaje linfático. A este proceso se le denomina efecto mejorado de permeabilidad y retención (EPR), tal y como se recoge en la Figura 4 donde se ve el efecto EPR o *targeting* pasivo²⁹.

Sin embargo, el suministro de medicamentos mediante este efecto es modesto debido a varios factores: 1) Al tener una tasa de fuga de los vasos lenta, el fármaco puede excretarse y metabolizarse durante este tiempo, haciendo que no esté lo suficiente en el tejido tumoral para alcanzar niveles terapéuticos³⁰. 2) Otro factor es la vascularización anormal del tumor, que dificulta la llegada del medicamento. 3) Los tumores, al tener una presión intersticial alta, hace que se eleve la presión osmótica y el medicamento no puede actuar adecuadamente. 4) Otro nada desdeñable inconveniente es el llamado estrés sólido inducido por el crecimiento del tumor, que algunos autores³¹ lo califican como el principal obstáculo para la penetración de fármacos nanométricos. 5) También hay que mencionar el estrés sólido de la matriz extracelular que regula la proliferación y la diferenciación celular, que en el tejido tumoral se encuentra modificado³².

Estas dificultades se pueden mejorar actuando sobre los factores antes mencionados.

- 1) Modulando el flujo sanguíneo del tumor con vasodilatadores como la nitroglicerina o los mediadores vasculares de la inflamación como las kininas o las prostaglandinas.
- 2) Modulando la vascularización del tumor y el estroma por medio de la hipertermia,

o la disminución de la presión del fluido intersticial con medicamentos como el paclitaxel. Para modular el estroma de los tumores sólidos, la enzima colagenasa o la hormona relaxina modifican la estructura del colágeno.

3) Matando las células cancerosas para reducir su función de barrera para aliviar el estrés sólido por medio de la apoptosis, por medio de radiaciones o por medio de la terapia de luz fotodinámica, pero tiene en contra que se reduce la administración del fármaco en el tumor.

El “*targeting* pasivo” es el responsable de que las NPs se acumulen en zonas de tejido tumoral gracias al fenómeno EPR, por lo que resulta muy interesante para el diagnóstico precoz del cáncer sobre todo en los de pequeño tamaño ya que se pueden detectar con equipos de RMN de alta precisión.

Dadas las limitaciones del direccionamiento pasivo surge otra estrategia que es la más usada en nanomedicina, el “*targeting* activo”. Se basa en la conjugación en la superficie de las NPs con péptidos, oligonucleótidos, aptámeros, anticuerpos o marcadores tumorales³³ que se unen específicamente a las células diana. Con esto se puede conseguir mejorar aún más el tratamiento del cáncer ya que se les puede diseñar para realizar múltiples funciones según el tipo de biomoléculas que se unen a su superficie. Estas estrategias se usan hoy día para poder llegar y actuar en las células deseadas tanto *in vitro* como *in vivo*³⁴. En el caso de las NPs magnéticas, como se verá más adelante, aprovechando sus propiedades también es posible dirigir las activamente al lugar de interés mediante la aplicación de campos magnéticos.

La eliminación de las SPIONs se realiza a través del sistema reticuloendotelial (sistema fagocítico mononuclear), destacando el hígado, en primer lugar, y luego el bazo. El tamaño de NP va a condicionar el aclaramiento, su eliminación. Las partículas pequeñas (<10 nm) son eliminadas a través de los riñones, y las más grandes (>10 nm) a través del hígado y el sistema fagocítico mononuclear³⁵.

En estas NPMs, después de ser metabolizadas por los lisosomas, se degrada la cubierta no metálica y queda expuesto el núcleo de óxido de hierro. En los lisosomas se va a producir hierro libre, que se destinará posteriormente a las reservas fisiológicas, aumentando la concentración plasmática de hierro y ferritina³⁶, generadoras de hemoglobina y mioglobina. Es por ello que este tipo de NPs son en ocasiones utilizadas como suplemento de hierro para pacientes con anemia.

3. NPs MAGNÉTICAS PARA TERAPIA ANTITUMORAL

Como se menciona en la Introducción, las terapias más usadas para el tratamiento del cáncer (radioterapia y quimioterapia) tienen el problema de que no son selectivas, es decir, no discriminan entre células tumorales y normales, lo que conlleva a la destrucción de tejido sano y a que se produzcan importantes efectos secundarios. Por ello, a pesar de su gran eficacia, sobre todo en algunos tipos de tumores, se han intentado buscar alternativas.

Desde 1995 los nanomedicamentos ya son utilizados en medicina. Aparecieron como unos liposomas que contenían un fármaco, la doxorubicina (quimioterápico usado en el cáncer de ovario avanzado cuando ha fallado la primera línea de tratamiento), el Doxil® y el Caelyx®. En el 2005 aparece el Abraxane® que son NPs que llevan el paclitaxel, fármaco que se usa en el tratamiento de muchos cánceres: de mama, de ovario, de pulmón, de vejiga, de próstata, melanoma, de esófago e incluso en el sarcoma de Kaposi³⁷.

Pero estas moléculas, para ejercer su función, deben superar una serie de problemáticas como la de la solubilidad y estabilidad química de los medicamentos, además deben de protegerse de su biodegradación y de su excreción, lo cual lo consiguen en parte gracias a los nanodispensadores. Una vez vencidas esas dificultades, resultan muy útiles para realizar un tratamiento eficaz y con una menor toxicidad ya que pueden incorporar dosis grandes de medicación antineoplásica sin producir ninguna alteración celular.

El tamaño es uno de los factores que va a condicionar su diferente utilidad y se ha de tener en cuenta a la hora de realizar el diseño de las NPs. Si son pequeñas, se utilizarán para que se eliminen rápidamente, como cuando se usan como agentes de imagen; por el contrario, para la administración de fármacos, interesa que estén más tiempo en el órgano diana, por lo tanto se diseñan más grandes. No obstante, si el tamaño es muy elevado, se pueden acumular en pequeños vasos pudiendo producir embolias, o bien ser captadas de forma inespecífica por el sistema reticuloendotelial y eliminadas a nivel esplénico³⁸.

De entre todos ellos, las SPIONs son ideales para su uso como nanodispensadores en la administración de fármacos, debido a su diseño flexible, a su pequeño tamaño y a su baja toxicidad. También resultan de gran utilidad estas partículas porque su superficie se puede recubrir con diversos polímeros orgánicos que son capaces de interactuar o unir moléculas farmacológicamente activas.

Pero para que una nanoterapia sea eficaz para el tratamiento del cáncer, debe cumplir una serie de requisitos: debe retener el fármaco sin liberación del producto durante el transporte, mientras que debe liberarlo cuando llegue a su objetivo intracelular; debe ser sigilosa para que cuando circule por la sangre no ser destruida por el sistema inmune o absorbida por otras células sanas, y “viscosa” para que cuando llegue al tumor se una a él de forma sólida; y por último, debe penetrar en el tumor alcanzando hasta las células más remotas³⁹.

El desarrollo de estas NPs cargadas con núcleos magnéticos ha hecho que se realicen diferentes ensayos para demostrar que son útiles para el tratamiento del cáncer utilizando diferentes abordajes, como son la hipertermia, la liberación de fármacos dirigida o la terapia génica.

3.1.- Terapia mediante hipertermia

Hace muchos años que la hipertermia se usa como tratamiento médico, pero concretamente para el tratamiento del cáncer es desde 1960. Como su propio nombre indica, consiste en la elevación de la temperatura corporal allí donde se encuentra el tumor bien para destruir sus células, o bien para que éstas sean más susceptibles a otros tratamientos alternativos como la quimioterapia o radioterapia.

Esta terapia térmica, que es una técnica focal y repetible con una aplicación mínimamente invasiva, afecta preferentemente a las células tumorales porque tienen disminuida su formación vascular, por lo que no son capaces de disipar el calor como las células sanas.

La hipertermia hace que estas células tumorales sufran una mayor afectación a nivel de las proteínas, produciendo también cambios metabólicos y en los ácidos nucleicos. Primero se produce una desnaturalización parcial de las proteínas; si se aumenta la temperatura, esta desnaturalización ya es irreversible, produciéndose la muerte celular por una inhibición de numerosos procesos celulares como la parada del ciclo celular, la inactivación de la síntesis de proteínas y la inhibición y reparación del ADN. Afecta al metabolismo celular disminuyendo el ATP (adenosin trifosfato) disponible y aumentando la producción de especies reactivas de oxígeno. Todos estos cambios hacen que la integridad de la membrana celular se vea alterada, como esquemáticamente se pueden ver en la Figura 5⁴⁰.

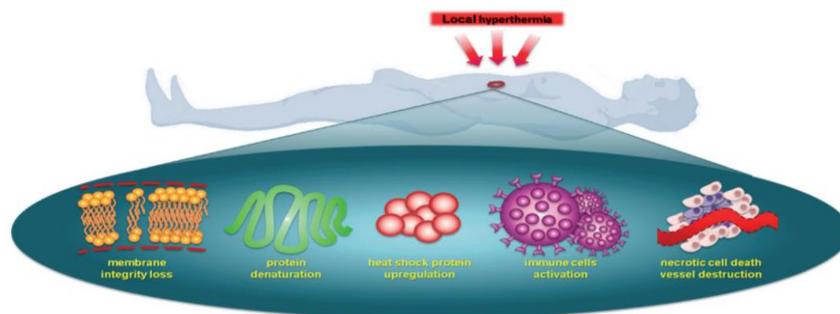


Figura 5.- Diferentes mecanismos celulares inducidos por hipertermia

Por lo tanto, se aplicará un diferente grado de hipertermia en función del tejido tumoral sobre el que se quiere actuar. El rango de temperatura clínicamente relevante para la actuación en el tumor está entre los 41–48 °C. Por norma general, se trata de alcanzar una hipertermia moderada (<43 °C), ya que con ello se logra una afectación selectiva de las células tumorales y se consigue a las pocas horas la recuperación de las células sanas. Si la hipertermia es entre 43 y 48 °C se destruye más tumor, pero deja de ser tan selectivo y las células sanas se afectan mucho. Entre los 48 y 56 °C se alcanza la termoablación, consiguiéndose la muerte de los tejidos por necrosis, coagulación y carbonización⁴¹. Además del grado de hipertermia, se tiene en cuenta el tiempo de aplicación de ésta ya que se puede producir una resistencia temporal al

calor: termotolerancia, y en algunos casos acompañarse de una modificación de la respuesta celular a algunos fármacos o aumentando su sensibilidad a la irradiación de rayos X⁴².

Para lograr esta hipertermia existen diferentes técnicas disponibles como el láser, ultrasonido localizado de alta intensidad, corrientes de radioterapia o campo magnético externo. Estas modalidades de hipertermia convencionales presentan una serie de inconvenientes, ya que no discriminan entre las células sanas de las enfermas, y por otro lado, el aumento de temperatura tiene lugar de fuera a dentro, siendo máximo en la superficie y menor en el interior. Por lo tanto, su eficacia y utilidad es mayor en los tumores superficiales, como se puede apreciar en la Figura 6⁴³.

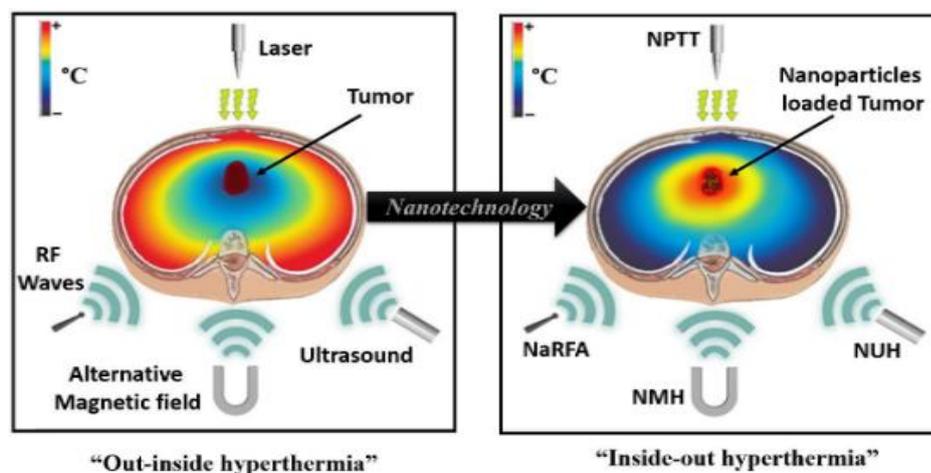


Figura 6.- Hipertermia clásica y la inducida con nanopartículas dentro del tumor que pueden absorber la energía originada a partir de varias fuentes externas⁴³.

Para solventar estos inconvenientes existen varias alternativas. Entre estas alternativas destacan la utilización de las NPMs de hierro ya situados en la zona tumoral.

La energía térmica utilizada en la hipertermia con NPMs como terapia en oncología varía en función del tamaño y composición del tumor. Se destacan en este sentido dos modalidades de uso importantes:

a) La terapia fototérmica, que utiliza luz láser, preferiblemente del infrarrojo cercano al ser más segura y penetrar más en los tejidos, para calentar a las NPs y matar selectivamente las células que incorporaron estas NPs⁴³. Esta terapia es muy novedosa para estas NPs y aunque hay pocos estudios estos son muy prometedores⁴⁴.

b) el uso de un campo magnético externo es otra forma de terapia de calentamiento mínimamente invasiva que utiliza NPMs para generar calor a áreas tumorales específicas (por ejemplo, cánceres de cerebro, mama, próstata e hígado) a través de inyección directa sobre ellos antes del tratamiento de calentamiento permitiendo sesiones terapéuticas repetidas⁴⁵.

Dentro de las NPMs de hierro, las más empleadas en hipertermia son las de magnetita y maghemita porque con ellas se consiguen una mayor elevación de temperatura en proporción a las cantidades administradas. La eficiencia de este calentamiento es calculada mediante el rango de absorción específico, que depende del tamaño de las NPMs, de la frecuencia y la amplitud del campo magnético alterno aplicado. Este calentamiento puede provocar necrosis (termoablación magnética) o inducir apoptosis selectiva de las células tumorales (hipertermia intracelular o magnética).

Si se les aplica un campo magnético alterno, se produce un sobrecalentamiento local de los tejidos tumorales logrando su destrucción y salvaguardando los tejidos sanos. Este calor generado a partir de la energía magnética se debe a las relajaciones de Néel (por rotación del espín) y de Brown (por rotación de la partícula). La gran ventaja de esta radiación electromagnética utilizada en esta hipertermia es que es inocua y muestra suficiente penetración para acceder a los órganos o tejidos internos del cuerpo⁴⁶.

Existen estudios que tratan de valorar si la termoablación magnética es útil en el cáncer de próstata cuando se les inyecta de forma directa estas NPs en el tumor. Tratan de ver si estas NPs actúan solo sobre el tumor y no sobre el tejido sano utilizando diferentes concentraciones. Para observar su distribución se usó la tinción de Perl (azul de Prusia) y técnicas de imagen de los tejidos extraídos tras la cirugía. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio es la aplicación de la termoablación magnética en estos tumores siempre y cuando demuestren que estas NPs permanecen en el tejido tumoral en el que han sido inyectadas⁴⁷.

Otro efecto no desdeñable de la hipertermia magnética es hacer que algunas células tumorales sean más susceptibles al tratamiento de radioterapia o incluso dañar a células cancerígenas de tal manera que aumenten los efectos de ciertos medicamentos contra el cáncer. Por lo tanto, dependiendo de la duración del tratamiento y las temperaturas alcanzadas dentro del tumor, las células tumorales son irreversiblemente dañadas o sensibilizadas para una quimioterapia o radioterapia adicional⁴⁸. Esto lo desarrolló una empresa alemana, Magforce, que realiza este tipo de tratamiento denominado NanoTherm™ que elimina de forma no invasiva pequeños tumores al usar el calor inducido por estas NPMs.

La hipertermia magnética por sí sola no puede acabar por completo con las células cancerígenas. Es por eso por lo que se plantea la incorporación de fármacos antitumorales a nanosistemas que responden a un campo magnético: liberación dirigida de fármacos.

3.2.- Liberación dirigida de fármacos

Este tipo de tratamiento consiste en aprovechar las características magnéticas que tienen estas NPMs al aplicarles un campo magnético externo (imanes o generados por instrumental médico) o interno (implantados quirúrgicamente) para poder dirigirlas hacia el tumor ("*targeting* activo")⁴⁹ y una vez allí liberar su carga, consiguiéndose una mayor actividad antineoplásica con una menor toxicidad.

Esto, que conceptualmente es fácil, acarrea una serie de limitaciones importantes. Para conseguir estos objetivos se tendrán en cuenta una serie de factores como son: las características del tumor (su pH celular/composición, su localización, su tamaño, su vascularización); la vía de administración (oral, parenteral, etc.); la biodisponibilidad del fármaco quimioterápico (su liposolubilidad/composición, dosificación, toxicidad, vía de eliminación, etc.); la nanopartícula a usar (su tamaño) y el tipo de fuerza del campo magnético a utilizar. Este campo magnético empleado se verá modificado sobre todo por la localización del tumor y por las fuerzas del flujo sanguíneo que se debe vencer para transportar las NPMs al lugar donde actúa.

Otra forma de aplicar la hipertermia es cuando se usa para la liberación de fármacos en nanotransportadores. Las moléculas de fármaco están unidas al nanotransportador por un enlace termosensible que se rompe por el calor generado tras aplicar un campo magnético alterno. Esto ocurre con los nanotubos de óxido de hierro, recubiertos de un polímero al que unen un fármaco que libera el principio activo con el aumento de la temperatura. Otras veces una red polimérica encapsula las nanopartículas magnéticas y el fármaco. Al aplicar un campo magnético alterno se genera calor que produce grietas en la matriz por donde se libera el principio activo²⁹.

En la actualidad existen múltiples fármacos antitumorales usados en quimioterapia que incorporan NPMs para que lleguen al tejido lesionado, detallados en la revisión realizada por Bucak⁵⁰ y del que se destaca el de Hua M *et al*⁵¹ que usa nanocápsulas constituidas por un núcleo de magnetita (Fe_3O_4) recubierto del polímero que se une al fármaco carmustina (agente citotóxico).

Otro estudio de interés es el de Kaluzova *et al*.⁵² A las NPs magnéticas les fusionaron cetuximab, un anticuerpo monoclonal frente al receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). El experimento consistió en administrar intracranalmente a ratones con tumores cerebrales inducidos (glioblastomas) esta preparación. Demostraron en primer lugar, mediante la tinción de azul de Prusia, que estas NPs se localizaban en el tumor, y en segundo lugar, que se incrementó significativamente la supervivencia de los ratones.

Tietze⁵³ realizó un estudio preclínico para demostrar la aplicación de SPIONs para el tratamiento del cáncer. Inyectó intravenosamente Mitoxantrona (antineoplásico de la leucemia mieloide aguda) conjugada a SPIONs en conejos que padecían el tumor, y al aplicar un fuerte campo magnético externo, condujo a la remisión completa del tumor sin efectos secundarios. Incluso teniendo solo del 5 al 10% de la dosis quimioterapéutica convencional, se lograron remisiones tumorales completas. El perfil de distribución después de esta orientación magnética del medicamento mostró el 57,2% de la recuperación total del fármaco administrado: con el 66,3% de las partículas localizadas en la región del tumor con orientación magnética, en comparación con menos del 1% del fármaco y de NP que alcanzan la región del tumor durante la aplicación intravenosa convencional. Concluye que la orientación magnética de medicamentos permite un aumento de la concentración del medicamento consiguiéndose un tratamiento más agresivo y específico.

3.3.- Terapia génica

Las NPMs también se están utilizando para una aplicación que cada vez tiene más relevancia, la terapia génica, ya que muchos tumores tienen como base una alteración del ADN. Esta terapia consiste en unir a estas NPMs un ADN o un ARN para que, una vez se introduzcan dentro de la célula, penetren en el núcleo y modifiquen la expresión genética de la célula. Para ello, es necesaria una unión previa de un polímero con grupos funcionales policatiónicos, ya que los ácidos nucleicos no se adhieren a la superficie de las NPs *per se*.

Desde que se descubrió la interferencia del ARN en *Caenorhabditis elegans* en 1998⁵⁴, los complejos farmacológicos basados en el ARNi (ARN interferente) se convirtieron en el foco de atención de muchos científicos que intentaban curar enfermedades a nivel de ARNm (ARN mensajero). El problema del uso de estas terapias consistía en ver como se podría introducir en las células enfermas las moléculas de ARNsi (small interfering RNA, en español ARN pequeño de interferencia (ARNpi) o ARN de silenciamiento) para aumentar su biodisponibilidad *in vivo* y prevenir su degradación por las nucleasas.

Para superar estos desafíos, pueden utilizarse las NPs de óxido de hierro. Éstas, además de su gran potencial, se pueden dirigir a los tejidos enfermos; asimismo, es posible cargar varias moléculas en el recubrimiento de polímero de una NP individual pudiéndolas detectar por imágenes no invasivas. Todo esto permite realizar un seguimiento de la biodisponibilidad de ARNsi mediante RMN o imágenes ópticas *in vivo* (si se ha conectado una sonda fluorescente a cada nanopartícula).

Las NPs de óxido de hierro fusionadas con ARNsi se han utilizado para abordar varias aplicaciones médicas. En uno de los primeros estudios, las nanopartículas de óxido de hierro se unieron con ARNsi para eliminar la expresión de proteína fluorescente verde (GFP) en ratones implantados con células tumorales que expresaban GFP⁵⁵. En este estudio, las NPs de óxido de hierro se fusionaron con un vinculador bifuncional, que luego se acoplaba a moléculas de ARNsi corta dirigidas específicamente al gen responsable de la expresión de GFP. Además, con el fin de conseguir una mayor absorción por medio de la interacción electrostática con la membrana celular, las NPs se fusionaron con un péptido catiónico rico en arginina (MPAP). Para medir esta internalización tanto por imágenes ópticas *in vivo* como por RMN *in vivo*, las NPs se conjugaron con una sonda fluorescente NIR (Cy5.5)⁵⁶.

Para uso terapéutico, se están utilizando pequeños fragmentos de ARN como los ARNsi o fragmentos de ADN, con resultados esperanzadores⁵⁷. En un estudio más relevante, las NPs se acoplaron al ARNsi para destruir el gen antiapoptótico *birc5* (*baculoviral IAP Repeat Containing 5*: gen al que se le asocia en el adenocarcinoma o neoplasia intraepitelial vulvar) que codifica a la proteína survivina (proteína que inhibe la apoptosis celular). Por lo tanto, al destruir ese gen, se deja de codificar la proteína, que se encuentra sobreexpresada en la mayoría de los cánceres humanos, consiguiéndose un aumento significativo en la tasa de apoptosis respecto a las células tumorales⁵⁶.

También se han realizado otros estudios dirigidos a diferentes genes y marcadores de cáncer como el realizado por Ferrari M⁵⁸ en el que emplearon nanovectores dirigidos a transferrina para demostrar mecanismos de interferencia de ARN en un paciente con melanoma.

En el estudio de Davis⁵⁹ se administró de forma sistémica ARNsi a pacientes con cánceres sólidos utilizando un sistema de administración de NPs dirigido, observando tras tratamiento en biopsias la presencia de NPs localizadas intracelularmente en cantidades que se correlacionan con los niveles de dosis de las nanopartículas administradas, demostrando que el ARNsi administrado sistémicamente a un humano puede producir una inhibición genética específica (reducción en ARNm y proteína) por un mecanismo de acción de ARNsi.

4. NPS MAGNÉTICAS PARA DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico del cáncer se utilizan, entre otras herramientas, las imágenes obtenidas a partir de diversas técnicas basadas en diferentes principios. En el caso de las imágenes basadas en rayos X, las primeras en desarrollarse, aprovechan la atenuación de la energía de los rayos X específica del tejido. En la Tomografía Computarizada (TC) los fotones / rayos X se producen fuera del cuerpo y solo son modificados por los tejidos a través de los que circulan. Sin embargo, la interacción débil entre el tejido y el haz de rayos X incidentes hace que su sensibilidad se vea limitada.

Esto hizo que los investigadores estudiaran y desarrollaran nuevas técnicas de imagen. Desde que en 1971 Paul Lauterbur inventó la resonancia magnética nuclear (RMN) y después Peter Mansfield refinó su tecnología, su desarrollo ha sido vital. La RMN consiste en la absorción de radiación electromagnética por un núcleo que tiene un momento magnético cuando está en presencia de un campo magnético externo. Se obtienen las imágenes tridimensionales cuando se le aplica un gradiente de campo magnético en uno de los dominios espaciales y son medidos por la RMN cuando se exponen estos núcleos a un campo magnético estático.

Los núcleos, una vez expuestos a variaciones de los campos magnéticos, sufren una relajación que se puede medir con dos parámetros: T1 y T2, que más tarde se reconstruyen a imágenes en escala de grises. Los tejidos blandos se representarán en la RMN como imágenes en escala de grises dependiendo de los valores de T1 y T2 de las moléculas que los conforman. A veces, estos tejidos no muestran suficiente contraste entre las estructuras naturalmente. Mediante el uso de agentes de contraste exógenos, que alteran la T1 y la T2 del tejido circundante, se puede obtener una imagen mejor.

Otra técnica para obtener diferentes imágenes del mismo objeto mediante RMN es la ponderación. Para las imágenes de RMN ponderadas en T1, una tasa de relajación T1 más rápida proporciona un contraste más brillante, mientras que una tasa de relajación T2 más rápida obtiene un contraste más oscuro para las imágenes ponderadas en T2.

Esta RNM que se usa en clínica para aplicaciones *in vivo*, debido a su seguridad, resolución espacial y contraste de tejidos blandos consiguiendo una gran información que complementa las imágenes anatómicas de rutina, tiene en contra su pobre sensibilidad. Para elevarla, se necesita aumentar el tiempo de exposición o usar agentes de contraste.

El usar tiempos de exposición elevados podría mejorar estos inconvenientes, pero por el contrario podría afectar a la salud del paciente.

El uso de los agentes de contraste también mejora esta sensibilidad ya que pueden acelerar las tasas de relajación. Los agentes de contraste más utilizados son: las moléculas hiperpolarizadas, los basados en gadolinio (Gd), y las nanopartículas magnéticas de óxido de hierro.

Entre las moléculas hiperpolarizadas destacan los gases (helio hiperpolarizado y xenón) que permiten la toma de imágenes de los pulmones y la obtención de información sobre enfermedades pulmonares. Pero al ser más nuevos, su utilización es menor por lo que están menos estudiados.

Los agentes de contraste más usados son los de Gd. Estos conducen a una reducción del tiempo de relajación T1 originando un contraste positivo (más brillante) en imágenes ponderadas por T1. Tiene en contra que en la mayoría de los casos no es bien tolerada por los pacientes por ser algo tóxicos.

Por este motivo, se han estudiado otras alternativas como son los agentes de contraste basados en óxidos de hierro, ya que producen menor toxicidad y una mayor resolución en las imágenes⁶⁰, ya que al acortar el tiempo de relajación T2, aparece hipointenso en las imágenes ponderadas por T2.

Además, estas NPMs tienen la ventaja de poder adaptar su tamaño, forma, composición, propiedades ópticas y físicas para mejorar el tiempo de circulación y poder dirigirse a las células y tejidos diana optimizando las imágenes y proporcionando esta alta resolución. Tal es así que, cuando su diámetro es menor de 50 nm, son capturadas por el sistema reticuloendotelial, haciéndolas idóneas para obtener imágenes del hígado o el bazo⁶¹.

Avalando lo anteriormente expuesto, existen muchos estudios con diferentes NPMs que muestran mejoras del contraste en imágenes de tumores de la RMN. Para mejorar los efectos indeseables del Gd, Manus et al.⁶² refieren que los conjugados de nanodiamante Gd (III) permiten mejorar el contraste con una cantidad mucho menor de Gd en comparación con otros agentes utilizados, o las NPs de melanina, con diámetros de 4.5 nm, tienen capacidad de quelación con iones Fe^{3+} y la posterior conjugación con moléculas de ácido cíclico arginina-glicina-aspartato (RGD), que es un péptido que se usa para dirigir específicamente y aumentar la internalización.

Otros ensayos clínicos utilizan el Ferumoxytol⁶³ y Ferumoxtran⁶⁴, primera y segunda generación, respectivamente, de NPs con núcleo de hierro que poseen una cubierta de carbohidratos para el diagnóstico precoz, para la evolución y el seguimiento de la

enfermedad, pudiendo localizar metástasis que no son visibles mediante otras técnicas de imagen (Figura 7)⁶⁵.

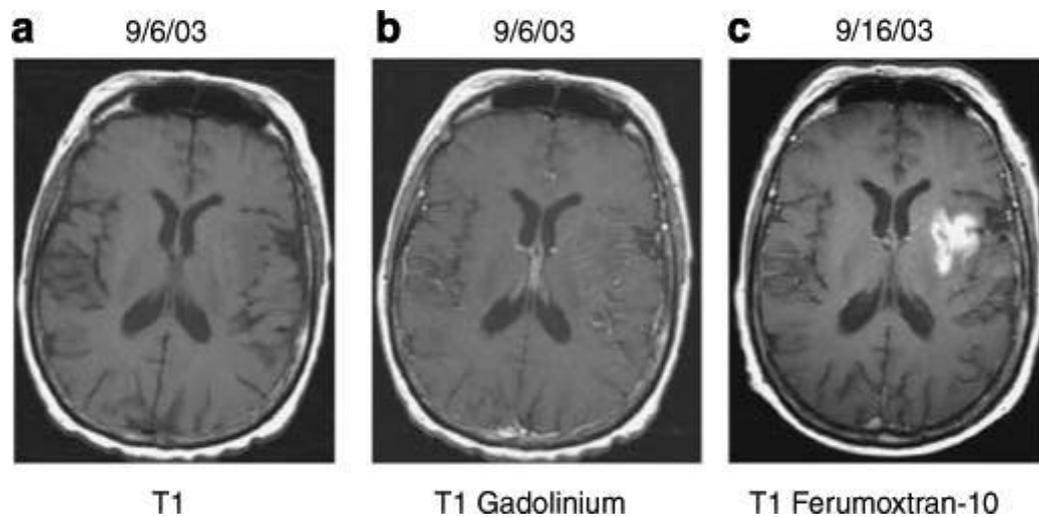


Figura 7.- RMN en paciente con infarto cerebral. Imagen (a) sin contraste (b) contraste a base de Gd (c) contraste con SPIONs (ferumoxtran-10) donde se ve ya una imagen que refleja un estado inflamatorio inflamatorio⁶⁵

Otras variedades de SPIONs ya aprobadas para su uso en la clínica con fines diagnósticos son el Feridex[®] (en hígado), el Ferumoxtran-10/Combix[®] (en metástasis ganglionares), el Clariscan (para detectar tumores por su microvasculatura peculiar) o Ferumoxil/Lumirem[®] (en intestino)⁶⁶. En la actualidad, aunque están retirados del mercado por no demostrar suficientemente su eficacia, siguen obteniéndose resultados muy prometedores en los diferentes estudios y ensayos clínicos con versiones mejoradas de estas NPs.

También se están desarrollando técnicas que en un futuro no muy lejano se van a normalizar como es la funcionalización con moléculas/anticuerpos para dirigir selectivamente hacia el tumor, combinaciones con otras moléculas/NPs de manera que se puedan aplicar a diferentes técnicas de diagnóstico, y también combinación entre diagnóstico y agentes terapéuticos (teragnóstica).

En estas líneas de investigación cada vez más reales, Zhu et al.⁶⁷ desarrollaron SPIONs con péptidos reconocedores del antígeno prostático específico de membrana. Estas NPs fueron inyectadas a ratones observándose una localización selectiva en los tumores prostáticos mediante el uso de técnicas de imagen (RMN) e histológicas (tinción de Perl, azul de Prusia).

Otros estudios utilizan SPIONs funcionalizadas con anticuerpos que reconocen CD34 (es una glucoproteína transmembrana capaz de diferenciarse en cualquier tipo de célula del linaje hematopoyético), usadas en un ensayo clínico con pacientes que sufren leucemia aguda. Estas NPs funcionalizadas con este biomarcador típico de leucemia aguda, fueron incubadas en médula ósea de estos pacientes para detectar

la más mínima presencia de células tumorales y de esta forma poder evaluar el estado de la enfermedad, así como la posible respuesta al tratamiento. Los resultados aún en estudios preliminares *in vitro* demostraron que estas NPs se unían preferentemente a células CD34 positivas aumentando hasta 10 veces la sensibilidad de dicha detección⁶⁸. Los prometedores resultados obtenidos mediante el uso de este tipo NPs hace prever que serán muchos más los ensayos clínicos que aportarán información sobre la utilidad real de este nuevo sistema diagnóstico-terapéuticos.

Por último se destaca, de entre otros muchos, el trabajo de Wang *et al.*⁶⁹ que utiliza SPIONs compuestas por sílice, a las que une anticuerpos monoclonales frente a la proteína de membrana CD146. Estos complejos se inoculan a ratones con tumores gástricos y se observa mediante RMN que se fijan específicamente a dichos tumores.

En la línea de investigación de la teragnóstica se están dando grandes avances. Hace unos años, Ralph Weissleder⁷⁰ describió el avance de las imágenes moleculares en el cáncer que permitirían a los médicos ver no solo dónde se encuentra un tumor en el cuerpo, sino también visualizar la expresión y la actividad de moléculas específicas que influyen en el comportamiento del tumor y/o la respuesta a la terapia.

Hoy, gracias al recubrimiento, las NPs funcionalizadas pueden dirigirse a macromoléculas específicas, para formar imágenes o administrar terapias útiles. Las macromoléculas dirigidas podrían ser pequeños péptidos o ácidos nucleídos funcionales, que se unen a antígenos superficiales sobreexpresados por ciertos tipos de células. Con el fin de poder detectarlos, el recubrimiento se puede unir con colorantes fluorescentes del infrarrojo cercano para imágenes fluorescentes *in vivo* o *ex vivo*, quelatos de Gd para proporcionar contraste de RMT ponderado en T1, trazadores de tomografía por emisión de positrones (PET) para imágenes dobles por RMN/PET o nanopartículas de oro para RMN/imágenes superficiales mejoradas. Finalmente, la carga útil terapéutica podría ser un fármaco de molécula pequeña, como la doxorubicina; un oligonucleótido, como pequeños ARNinterferentes; o un péptido pro-apoptótico, como RGD, para aumentar la internalización en las células.

Todos estos avances hacen que se detecten los tumores en etapas muy tempranas, facilitando así la realización de un correcto seguimiento y control de la enfermedad, y en consecuencia ofrecer opciones terapéuticas lo antes posible consiguiendo una mayor eficacia de los tratamientos.

5. CONCLUSIONES

- El cáncer es una enfermedad muy prevalente en nuestro entorno. Por ello, ha surgido la necesidad de buscar nuevas formas para abordarla, dado que los tratamientos convencionales tienen muchos efectos secundarios al no actuar de forma específica sobre la lesión tumoral, y el diagnóstico suele ser tardío. Destaca la nanomedicina, en concreto las NPMs, ya que reúnen excelentes propiedades para su aplicación en oncología, proporcionando una de las alternativas más novedosas para apoyar el tratamiento y el diagnóstico del cáncer convencional.
- Las NPMs son un gran avance en el tratamiento del cáncer: minimizan los efectos secundarios (toxicidad) y mejoran las opciones de terapias antineoplásicas ya existentes, aportando más concentración del fármaco en el lugar deseado superando las barreras biológicas del paciente.
- Estas NPs también pueden ser utilizadas para el tratamiento por hipertermia, ya que al actuar como transmisores de calor concentran el aumento de temperatura en la zona dañada sin afectar a tejidos sanos.
- Adquiere gran importancia la liberación dirigida de fármacos que consigue minimizar los efectos sistémicos optimizando sus resultados y, por lo tanto, mejorando su eficacia.
- Son de destacar los grandes avances que se están logrando en el campo de la terapia génica que a día de hoy está todavía por desarrollar.
- Las NPMs demuestran una alta eficacia para precisar el diagnóstico de forma precoz, ya que permiten detectar con gran resolución tumores de tamaño muy pequeño en la RMN.
- Tras la revisión bibliográfica realizada, se puede concluir que existen grandes esperanzas en los ensayos que se están realizando en la actualidad con las NPMs, lo cual será clave para poder trasladar sus resultados en un futuro a la clínica habitual.

6. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013.
- ² Sánchez-Muñoz A, García Tapiador A M, Martínez Ortega E, Dueñas García R, Pérez-Regadera Gómez J, Ortega Granados A L et al. Limitaciones al uso de los marcadores tumorales séricos en la práctica oncológica. *Oncología (Barc.)* [Internet]. 2005 Sep. [citado 2019 Dic 29]; 28(9): 39-43.
- ³ Hubbard RA, Kerlikowske K, Flowers CI, et al. Cumulative probability of false-positive recall or biopsy recommendation after 10 years of screening mammography: a cohort study. *Ann Intern Med* 2011; 155:481-492.
- ⁴ López-Köstner Francisco, Carrillo G Katya, Zárate C Alejandro, Brien S Andrés O, Ladrón de Guevara H David. Cáncer de recto: diagnóstico, estudio y estadificación. *Rev Chil Cir* [Internet]. 2012 Abr [citado 2019 Dic 29]; 64(2): 199-209.
- ⁵ Blasco A, Caballero C. Toxicidad de los tratamientos oncológicos. SEOM (Sociedad Española de Oncología Médica). 2019 Dec. Disponible en: <https://seom.org/guia-actualizada-de-tratamientos/toxicidad-de-los-tratamientos-oncologicos>
- ⁶ Chun YW, Crowder SW, Mehl SC, Wang X, Bae H, Sung H-J. Therapeutic application of nanotechnology in cardiovascular and pulmonary regeneration. *Comput Struct Biotechnol J*. 2013; 7:1-7.
- ⁷ Chakraborty AK, Roy T, Mondal S. Development of DNA nanotechnology and uses in molecular medicine and biology. *Insights in Biomed*. 2016, 1:3.
- ⁸ Chaudhuri RG, Paria S. Core/Shell nanoparticles: classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. *Chem Rev*. 2012; 112(4):2373–433.
- ⁹ Elsabahy M, Wooley KL. Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. *Chem Soc Rev*. 2012;41(7): 2545–61.
- ¹⁰ Bakhtiary Z, et al. Targeted superparamagnetic iron oxide nanoparticles for early detection of cancer: Possibilities and challenges. *Nanomedicine: NBM*. 2016; 12:287-307.
- ¹¹ Kransnoslobodtev AV, Shlyakhtenko LS, et al. Nanomedicine and protein misfolding diseases. *Nanomedicine*. 2005; 1(4):300-305.
- ¹² Chauvierre C, Letourneur D. The European project Nano Athero to fight cardiovascular diseases using nanotechnologies. *Nanomedicine (Lond)*. 2015; 10(22):3391-400.
- ¹³ Wu J, Kamaly N, Shi J, Zhao L, Xiao Z, Hollett G, et al. Development of multinuclear polymeric nanoparticles as robust protein nanocarriers. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2014;53(34):8975-8979.
- ¹⁴ La Fuente N. Nanopartículas Estimulo-Respuesta para la liberación de fármacos. {Trabajo fin de Grado}. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. 2017.
- ¹⁵ Lee B, Yun Y, Park K. Smart nanoparticles for drug delivery: Boundaries and opportunities. *Chemical Engineering Science*. 2015; 125:158-164.
- ¹⁶ Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*. 2008, 4: 26-49.
- ¹⁷ Movia D, Poland C, Tran L, Volkov Y, Prina-Mello A. Multilayered Nanoparticles for Personalized Medicine: Translation into Clinical Markets. In: *Handbook of Clinical Nanomedicine: Nanoparticles, Imaging, Therapy and Clinical Applications* Singapore: Pan Stanford Publishing Pte Ltd; 2016.
- ¹⁸ Parveen S, Misra R, Sahoo SK. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics diagnostics and imaging. *Nanomedicine*. 2012; 8: 147-66.
- ¹⁹ Calero M, Gutiérrez L, Salas G, Luengo Y, Lázaro A, Acedo P, et al. Efficient and safe internalization of magnetic iron oxide nanoparticles: Two fundamental requirements for biomedical applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2014; 10: 733-43.

-
- ²⁰ Markides H, Rotherham M, El Haj AJ. Biocompatibility and Toxicity of Magnetic Nanoparticles in Regenerative Medicine. *J Nanomater.* 2012; 2012: 11.
- ²¹ Ruiz A, Hernandez Y, Cabal C, Gonzalez E, Veintemillas-Verdaguer S, Martinez E, et al. Biodistribution and pharmacokinetics of uniform magnetite nanoparticles chemically modified with polyethylene glycol. *Nanoscale.* 2013; 5: 11400-8.
- ²² Chow E K, Ho D. Cancer Nanomedicine: From Drug Delivery to Imaging. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5, 216rv4.
- ²³ Neuwelt E, Hamilton B, Varallyay C, Rooney W, Edelman R, Jacobs P et al. Ultrasmall superparamagnetic iron oxides (USPIOs): a future alternative magnetic resonance (MR) contrast agent for patients at risk for nephrogenic systemic fibrosis (NSF)? *Kidney Int.* 2009; 75(5):465-474.
- ²⁴ Lal S, Verma J, Van Noorden C. Nanoparticles for hyperthermic therapy: synthesis strategies and applications in glioblastoma. *Int J Nanomedicine.* 2014; 2863.
- ²⁵ Canton I, Battaglia G. Endocytosis at the nanoscale. *Chem Soc Rev.* 2012, 41: 2718-2739.
- ²⁶ Estelrich J, Escribano E, Queralt J, Busquets MA. Iron oxide nanoparticles for magnetically-guided and magnetically-responsive drug delivery. *Int J Mol Sci.* 2015, 16: 8070-8101.
- ²⁷ Umut E. In Modern surface engineering treatment. *Surface Modification of Nanoparticles Used in Biomedical Applications* (Edited by M. Aliofkhaezai.-InTech) 8, 185-208 (2013).
- ²⁸ Gallo J, Long N, Aboagye E. Magnetic nanoparticles as contrast agents in the diagnosis and treatment of cancer. *Chem Soc Rev.* 2013; 42(19):7816.
- ²⁹ Doello K, Cabeza L, Ortiz R, Arias JL, Melguizo C, Prados J. Magnetic Nanoparticles in Cancer Diagnosis and Treatment. *Actual. Med.* 2015; 100: (796): 139-144.
- ³⁰ Nakamura Y, Mochida A, Choyke PL, and Kobayashi H. Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer? *Bioconjugate Chemistry* 2016 27 (10), 2225-2238.
- ³¹ Lu D, Wientjes MG, Lu Z, and Au JL. Tumor priming enhances delivery and efficacy of nanomedicines. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2007; 322, 80–8.
- ³² Gilkes DM, Semenza GL, and Wirtz D. Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumour metastasis. *Nat. Rev. Cancer* 2014; 14, 430–9.
- ³³ Toporkiewicz M, Meissner J, Matusewicz L, Czogalla A, Sikorski AF. Toward a magic or imaginary bullet? Ligands for drug targeting to cancer cells: principles, hopes, and challenges. *Int J Nanomedicine.* 2015; 10: 1399-1414.
- ³⁴ Shen Z, Wu H, Yang S, Ma X, Li Z, Tan M, Wu A. A novel Trojan-horse targeting strategy to reduce the non-specific uptake of nanocarriers by non-cancerous cells. *Biomaterials* 2015, 70: 1-11.
- ³⁵ Rolfe BE, Blakey I, Squires O, Peng H, Boase NRB, Alexander C, et al. Multimodal polymer nanoparticles with combined F-19 magnetic resonance and optical detection for tunable, targeted, multimodal imaging in vivo. *J Am Chem Soc.* 2014; 136(6):2413–9.
- ³⁶ Colombo M, Carregal-Romero S, Casula M, Gutiérrez L, Morales M, Böhm I et al. Biological applications of magnetic nanoparticles. *Chem Soc Rev.* 2012; 41(11):4306-8.
- ³⁷ Li L, Jiang W, Luo K, Song H, Lan F, Wu Y, Gu Z. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles as MRI contrast agents for Non-invasive Stem Cell Labeling and Tracking. *Theranostics.* 2013; 3: 595-615.
- ³⁸ Vallet-Regi M, Arcos Navarrete D. Magnetic Nanoceramics for Biomedical Applications. *RSC Nanoscience & Nanotechnology;* 2016; 275-312.
- ³⁹ Sun QH, Sun XR, Ma XP, Zhou ZX, Jin EL, Zhang B, Shen YQ, Van Kirk EA, Murdoch WJ, Lott JR, Lodge TP, Radosz M, Zhao YL. Integration of nanoassembly functions for an effective delivery cascade for cancer drugs. *Adv. Mater.* 2014; 26, 7615–7621.
- ⁴⁰ Clavel CM, Nowak-Sliwinska P, Paunescu E, & Dyson PJ. Thermoresponsive fluorinated small-molecule drugs: A new concept for efficient localized chemotherapy. *Med Chem Comm.* 2015; 6(12), 2054–2062

-
- ⁴¹ Christophi C, Winkworth A, Muralihdaran V, Evans P. The treatment of malignancy by hyperthermia. *Surg Oncol*. 1998; 7(1-2):83-90.
- ⁴² Jaque D, Martínez Maestro L, del Rosal B, Haro-González P, et al. Nanoparticles for photothermal therapies. *Nanoscale*. 2014;6(16):9494-530.
- ⁴³ Beik J, Abed Z, Ghoreishi FS, Hosseini-Nami S, et al. Nanotechnology in hyperthermia cancer therapy: From fundamental principles to advanced applications. *J Control Release*. 2016; 235:205-221.
- ⁴⁴ Estelrich J, Busquets MA. Iron Oxide Nanoparticles in Photothermal Therapy. *Molecules*. 2018;23(7):1567.
- ⁴⁵ Kettering M, Richter H, Wiekhorst F, Bremer-Streck S, Trahms L, Kaiser WA, et al. Minimal-invasive magnetic heating of tumors does not alter intra-tumoral nanoparticle accumulation, allowing for repeated therapy sessions: an in vivo study in mice. *Nanotechnology*. 2011; 22: 505102.
- ⁴⁶ Bañobre-López M, Teijeiro A, Rivas J. Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy*. 2013;18(6):397-400.
- ⁴⁷ Hashim Uddin Ahmed, University College London Hospitals, Magnetic Nanoparticle Thermoablation - Retention and Maintenance in the Prostate: A Phase 0 study in Men (MAGNABLATE I). *ClinicalTrials.gov*. Identifier: NCT02033447.
- ⁴⁸ Borlido L, Azevedo AM, Roque ACA, Aires-Barros MR. Magnetic separations in biotechnology. *Biotechnol Adv* 2013; 31:1374–85.
- ⁴⁹ Akbarzadeh A, Samiei M, Davaran S. Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Res Lett*. 2012; 7:144.
- ⁵⁰ Bucak S, Sezer AD, Yavuztürk B. In *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*. Magnetic nanoparticles: synthesis, surface modifications and application in drug delivery (Edited by AD Sezer.- InTech) 7, 165-200, (2012).
- ⁵¹ Hua M, Liu H, Yang H, Chen P, Tsai R, Huang C et al. The effectiveness of a magnetic nanoparticle-based delivery system for BCNU in the treatment of gliomas. *Biomaterials*. 2011;32(2):516-527.
- ⁵² Kaluzova M, Bouras A, Machaidze R, Hadjipanayis CG. Targeted therapy of glioblastoma stem-like cells and tumor non-stem cells using cetuximab-conjugated iron-oxide nanoparticles. *Oncotarget*. 2015;6:8788-806.
- ⁵³ Tietze R.; Lyer S.; Durr S.; Struffert T. et al. Suministro eficiente de fármacos mediante nanopartículas magnéticas: biodistribución y efectos terapéuticos en conejos portadores de tumores. *Nanomedicine* 2013, 9, 961–971.
- ⁵⁴ Bargmann CI. Neurobiology of the *Caenorhabditis elegans* genome. *Science*. 1998;282(5396):2028-2033.
- ⁵⁵ Medarova Z, Pham W, Farrar C, Petkova V, Moore A. In-vivo imaging of siRNA delivery and silencing in tumors. *Nat Med*. 2007; 13:372–7.
- ⁵⁶ Mehmet V. Y., Moore A., Medarova Z. Magnetic Nanoparticles for Cancer Diagnosis and Therapy. *Pharm Res*. 2012; 29(5): 1180–1188.
- ⁵⁷ Liu X, Hu Q, Fang Z, Zhang X, Zhang B. Magnetic chitosan nanocomposites: a useful recyclable tool for heavy metal ion removal. *Langmuir* 2009; 2:3–8.
- ⁵⁸ Ferrari M. Vectoring siRNA therapeutics into the clinic. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010; 7:485–6.
- ⁵⁹ Davis M, Zuckerman J, Choi C et al. Evidencia de RNAi en humanos a partir de siRNA administrado sistémicamente a través de nanopartículas específicas. *Nature*. 2010; 464, 1067-1070.
- ⁶⁰ Burtea C, Laurent S, Mahieu I, Larbanoix L, Roch A, Port M, Rousseaux O, Ballet S, Murariu O, Toubreau G. In vitro biomedical applications of functionalized iron oxide nanoparticles, including those not related to magnetic properties. *Contrast Media Mol Imaging* 2011, 6: 236-250.
- ⁶¹ Weissleder R, Bogdanov A, Papisov M. Drug targeting in magnetic resonance imaging. *Magn Reson Q*. 1992; 8: 55-63.

-
- ⁶² Manus, L. M.; Mastarone, D. J.; Waters, E. A.; Zhang, X.-Q.; Schultz-Sikma, E. A.; MacRenaris, K. W.; Ho, D.; Meade, T. J. Gd(III)- Nanodiamond Conjugates for MRI Contrast Enhancement. *Nano Lett.* 2010; 10, 484–489.
- ⁶³ Neuwelt EA, Várallyay CG, Manninger S, et al. The potential of ferumoxytol nanoparticle magnetic resonance imaging, perfusion, and angiography in central nervous system malignancy: a pilot study. *Neurosurgery.* 2007; 60:601-11; discussion 611-2.
- ⁶⁴ Yancy AD, Olzinski AR, Hu TC-C, et al. Differential uptake of ferumoxtran-10 and ferumoxytol, ultrasmall superparamagnetic iron oxide contrast agents in rabbit: critical determinants of atherosclerotic plaque labeling. *J Magn Reson Imaging JMRI.* 2005; 21:432-42.
- ⁶⁵ Neuwelt E, Hamilton B, Varallyay C, Rooney W, Edelman R, Jacobs P et al. Ultrasmall superparamagnetic iron oxides (USPIOs): a future alternative magnetic resonance (MR) contrast agent for patients at risk for nephrogenic systemic fibrosis (NSF)? *Kidney Int.* 2009; 75(5):465-474.
- ⁶⁶ Wang Y-XJ. Superparamagnetic iron oxide based MRI contrast agents: Current status of clinical application. *Quant Imaging Med Surg.* 2011; 1:35-40.
- ⁶⁷ Zhu Y, Sun Y, Chen Y, et al. In Vivo Molecular MRI Imaging of Prostate Cancer by Targeting PSMA with Polypeptide Labeled Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Int J Mol Sci.* 2015; 16:9573-87.
- ⁶⁸ Jaetao JE, Butler KS, Adolphi NL, et al. Enhanced leukemia cell detection using a novel magnetic needle and nanoparticles. *Cancer Res.* 2009; 69:8310-6.
- ⁶⁹ Wang P, Qu Y, Li C, et al. Bio-functionalized dense-silica nanoparticles for MR/NIRF imaging of CD146 in gastric cancer. *Int J Nanomedicine.* 2015; 10:749-63.
- ⁷⁰ Weissleder R. Molecular imaging in cancer. *Science.* 2006; 312: 1168-71.

7. AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Elena M^a Navarro Palomares y al Prof. Juan Carlos Villegas Sordo por su ayuda, sus acertados consejos para poder llevar a cabo la realización de este Trabajo Fin de Grado y por ser un ejemplo a seguir para mí, de constancia y dedicación en el trabajo.

A mi familia por haberme apoyado siempre, sin límites, a lo largo de toda mi vida y en mi desarrollo como profesional sanitario. Siendo un ejemplo de constancia y dedicación a esta profesión.

A todas aquellas personas que de alguna manera han contribuido a la realización de este trabajo y han estado cerca durante todos los años de carrera.