

Nanotecnología para la salud: cómo lo muy pequeño ayuda en medicina.

Hace unos dos mil cuatrocientos años, Demócrito desarrolló la primera teoría atómica para explicar la realidad en que vivimos. Pensó que toda la materia estaba formada por una mezcla de elementos inmutables y eternos, unas entidades infinitamente pequeñas, indivisibles e imperceptibles por los sentidos, a las que denominó átomos. Resulta asombroso pensar que Demócrito llegó mediante simples razonamientos lógicos a esa descripción bastante acertada del mundo a escala nanométrica (recordemos que un nanómetro es la milmillonésima parte de un metro). Por supuesto, hoy en día sabemos que el átomo sí es divisible en un núcleo formado por protones y neutrones y una nube electrónica alrededor, pero las entidades más pequeñas que podemos manipular para fabricar objetos son los átomos. De hecho, podemos definir la nanotecnología como la manipulación de átomos y moléculas en la nanoescala para obtener estructuras o dispositivos que, gracias al control de su forma, tamaño y composición, sirven para cumplir una determinada función.

Introducción: herramientas en nanotecnología.

Han sido los avances instrumentales durante el siglo XX quienes han permitido el desarrollo de la nanotecnología, pues es necesario visualizar esos objetos en la nanoescala, comprender los fenómenos a que dan lugar, y también fabricarlos de forma controlada para optimizar la propiedad deseada.

De entrada, como el tamaño de los átomos es unas mil veces inferior a la longitud de onda de la luz visible (400-700 nm), no pueden observarse utilizando instrumentos ópticos convencionales, por lo que hubo que esperar a la invención de los microscopios electrónicos y los microscopios de sonda de barrido para poder visualizar esos objetos en la nanoescala. Entre los primeros, cabe distinguir entre los de transmisión (TEM, por las siglas en inglés de *Transmission Electron Microscope*), que emplean electrones que atraviesan la muestra a estudio con un voltaje de aceleración entre 100 y 300 kV, y los de barrido (SEM, *Scanning Electron Microscope*), que trabajan con los electrones reflejados y/o re-emitidos, con voltajes típicos entre 1 y 30 kV. Estos microscopios permiten estudiar no solo la morfología de los materiales en la nanoescala, sino además su composición química y su estructura cristalina. En cuanto a los microscopios de sonda de barrido (SPM, *Scanning Probe Microscope*), consisten en aproximar mucho, a distancia nanométrica, una sonda a la muestra a estudio, y medir entonces una determinada magnitud. El

primero en desarrollarse fue el microscopio de efecto túnel (STM, *Scanning Tunneling Microscope*), que se basa en un efecto cuántico: la corriente túnel que aparece entre una punta metálica y una muestra conductora cuando se establece una diferencia de potencial entre ellas. Posteriormente, se desarrolló el microscopio de fuerzas atómicas (AFM, *Atomic Force Microscope*), que ya podía emplearse con muestras no conductoras, y luego distintas variantes (el microscopio de fuerzas magnéticas, el de fuerzas electrostáticas, el de potencial superficial, el de fricción, el de campo cercano, etc.) que permiten analizar diversas propiedades: magnéticas, eléctricas, mecánicas, ópticas...

En paralelo, se han desarrollado las técnicas que permiten la fabricación de nanoestructuras y nanodispositivos, que puede llevarse a cabo siguiendo dos aproximaciones, denominadas descendente (*top-down*) y ascendente (*bottom-up*), o también una combinación de ellas, y en ese caso se habla de una ruta convergente. La vía descendente consiste en miniaturizar o moldear desde lo macroscópico. Las técnicas más empleadas en esta ruta son la molienda, el ataque por iones, y diversos tipos de litografía: por electrones, por haz de iones, por luz ultravioleta (cuanto menor es la longitud de onda más pequeños son los motivos que se pueden diseñar: en la actualidad ya se emplea el ultravioleta extremo) o por nanoimpresión. Por su parte, en la vía ascendente se ensamblan nanoentidades (átomos, moléculas), tanto de forma forzada como mediante procesos de autoensamblado. Las técnicas más usuales en esta aproximación son la síntesis química, la síntesis electroquímica, la manipulación por SPM, los procesos sol-gel, y las diversas técnicas de condensación desde la fase vapor: la deposición química (CVD, *Chemical Vapor Deposition*), la deposición de capas atómicas (ALD, *Atomic Layer Deposition*), la epitaxia de haces moleculares (MBE, *Molecular Beam Epitaxy*), la ablación láser (PLD, *Pulsed Laser Deposition*), y la pulverización catódica (*sputtering*). Estas últimas técnicas pueden dar lugar además a fuentes de nanopartículas cuando se emplea una cámara de agregación [1].

Asimismo, en los últimos años ha cobrado importancia la síntesis biológica o biosíntesis para la producción de nanopartículas. Es una rama basada en la química verde (se denomina así a la que usa materiales naturales y procesos sostenibles) que se dedica a emplear entidades biológicas unicelulares y multicelulares (como bacterias, hongos, plantas, virus, levadura...) que actúan como pequeñas factorías para sintetizar nanopartículas con una amplia gama de tamaños, formas, composiciones y propiedades fisicoquímicas [2]. Es un método limpio, no tóxico y respetuoso con el medio ambiente, y que debido a su bajo costo puede utilizarse en países en vías de desarrollo.

En definitiva, poseemos las herramientas que nos permiten fabricar y caracterizar un amplio conjunto de materiales con una, dos o tres de sus dimensiones de tamaño nanométrico. Por ejemplo, los discos duros de ordenador y los paneles fotovoltaicos están formados por multicapas, es decir, un apilamiento de láminas delgadas, cada una de ellas de composición uniforme y con una dimensión, su espesor, de tamaño nanométrico. Un caso ilustrativo con dos dimensiones en la nanoescala son las nanofibras de carbono, que debido a sus propiedades mecánicas se utilizan en la fabricación de raquetas de tenis, palos de golf y materiales para aeronáutica. Y con tres

dimensiones nanométricas podemos mencionar las nanopartículas de dióxido de titanio, que ya se emplean en protectores solares porque filtran los rayos ultravioleta.

Puede afirmarse, por tanto, que la nanotecnología ya está aquí y ha venido para quedarse. ¿Dónde podemos esperar que tenga un mayor impacto? Pues sobre todo en tres sectores de gran interés económico y social: tecnologías de la información y las comunicaciones, energía y medioambiente, y ciencias de la salud. En lo que sigue, nos centraremos en este campo, en el que los nanomateriales van a interactuar con entidades en la nanoescala de unos pocos nanómetros (moléculas orgánicas, sin ir más lejos el diámetro de la doble hélice del ADN es de unos 2 nm), de una decena de nm (anticuerpos), centenares de nm (virus y bacterias) e incluso de miles de nm (células). Analizaremos su aplicación en dos vertientes: en las técnicas de diagnóstico y en los tratamientos para curar enfermedades.

Nanotecnología para técnicas de diagnóstico.

Un primer ejemplo de cómo los nanomateriales ayudan en las técnicas de diagnóstico lo ofrecen las nanopartículas que mejoran las prestaciones de tecnologías de imagen médica. Estas se basan en que aparezcan contrastes en la forma en que la luz se dispersa o se emite en el tejido sano en comparación con el tejido enfermo. Cuanto más definido sea ese contraste, o mayor resolución tenga, más preciso será el diagnóstico. Ese es el caso de las nanopartículas magnéticas, que pueden emplearse como agentes de contraste en los equipos de imagen por resonancia magnética [3]. Esta técnica de imagen está basada en medir la resonancia magnética nuclear, en particular mediante la alteración del momento magnético de los protones del agua contenida en el cuerpo humano. Se comienza aplicando un intenso campo magnético externo continuo que alinea esos momentos, se les somete entonces a pulsos de campo alterno de radiofrecuencia, y, a través de la señal de radiofrecuencia que emiten, se mide cuánto tardan en recuperar su posición de equilibrio alineados al campo continuo: son los denominados tiempos de relajación. Cuando se emplean nanopartículas magnéticas (por ejemplo de óxidos de hierro), ellas crean un pequeño campo magnético local que provoca una disminución en los tiempos de relajación en su entorno, mejorándose por tanto el contraste allí donde están situadas. Por lo tanto, lo que hay que hacer previamente es funcionalizarlas adecuadamente, para que tras ser inyectadas por vía intravenosa, se unan al tejido o tipo de células que se desea estudiar.

Aparece aquí uno de los conceptos clave en nanotecnología: la funcionalización de los nanomateriales, es decir, dotarles de funciones o propiedades adicionales, generalmente modificando su superficie. Un caso típico es emplear un recubrimiento que les dote de las características adecuadas: que no se deterioren en el medio (p.ej. que resistan el pH, que tengan la hidrofobicidad o hidrofiliidad necesaria, etc.), que lleven adherido el ligando indicado para unirse al tipo de tejido o de células deseado, o que porten el medicamento que se desea administrar localmente. Entre los diferentes recubrimientos y biomoléculas empleados para funcionalizar las

nanoestructuras podemos mencionar antígenos y anticuerpos (se unen específicamente entre sí), aptámeros (alta afinidad específica a determinadas moléculas), cadenas de ADN (para hibridarse con su cadena complementaria), polímeros, o incluso virus.

Una vez entendido lo que es la funcionalización, podemos seguir mencionando aplicaciones de las nanoestructuras en las técnicas de imagen. Otro ejemplo interesante lo proporcionan nanopartículas con iones de tierras raras, como Europio o Gadolinio, que presentan luminiscencia persistente en el rango espectral del infrarrojo cercano (NIR, del inglés *near-infrared*). Estas nanopartículas pueden ser excitadas ópticamente *in vitro* antes de ser inyectadas en un animal de laboratorio, y su distribución se puede seguir en tiempo real durante varias horas con un microscopio óptico sin necesidad de ninguna fuente de iluminación externa. Mediante la funcionalización adecuada, es posible por tanto emplearlas para imagen *in vivo* de tumores y reparto local de fármacos [4]. Además, empleando distintos iones en la misma nanopartícula o distinto dopado, es posible preparar partículas multimodales, es decir, que emitan en regiones distintas del NIR: la luminiscencia en la segunda ventana del NIR (longitud de onda entre 1000 y 1350 nm) tiene una relación señal/ruido más alta y una penetración en el tejido más profunda que luminiscencia en la primera ventana del NIR (650 a 950 nm), debido a una menor absorción y dispersión de fotones y a una mínima autoluminiscencia de los tejidos en aquel rango [5].

Por otro lado, los nanomateriales también pueden utilizarse en biosensores, que son dispositivos que detectan la presencia de determinadas especies biológicas, por ejemplo antígenos procedentes de virus o los anticuerpos que genera el sistema inmunológico para responder a aquellos. Los nanomateriales actúan como transductores en un biosensor, es decir, el componente que hace de detector en el que cambia una propiedad física o química cuantificable cuando se produce la interacción biológica, de unión o de reconocimiento, con el analito (la especie que se desea detectar). Para que eso suceda, la nanoestructura tiene que estar convenientemente funcionalizada con el elemento biológico que interacciona con esa especie en particular. La propiedad medible puede ser muy diversa: efectos ópticos, efectos piezoeléctricos, respuesta mecánica, efectos magneto-ópticos, respuesta magnética, etc.

Analicemos un caso paradigmático: los biosensores basados en resonancia de plasmón [6]. El nanomaterial es una lámina de espesor nanométrico de un metal noble, normalmente oro, y la resonancia de plasmón es una excitación colectiva de sus electrones de conducción que se propaga como onda evanescente, lo que se manifiesta con una absorción total de la luz en un ángulo particular de incidencia. Ese ángulo en el que ocurre la absorción total depende del índice de refracción del medio con el que el oro está en contacto. Para que actúe como detector, su superficie se funcionaliza con la especie complementaria al analito deseado: si por ejemplo se desea detectar un anticuerpo, sobre el oro se inmoviliza su antígeno específico. Si se produce el reconocimiento, es decir, cuando el anticuerpo se une al antígeno inmovilizado sobre el oro, la composición del medio con el que el oro está en contacto se modifica, por lo que se altera el índice de refracción y por

consiguiendo la resonancia de plasmón se ve modificada, lo que se manifiesta en un cambio en la señal óptica.

Una mejora en este dispositivo es usar no solo una lámina de oro sino una multicapa en la que el oro se combina con otra lámina de espesor nanométrico de un material magnético, por ejemplo hierro o cobalto. El funcionamiento es similar, con la diferencia de que se emplean unas pequeñas bobinas o un imán para aplicar un campo magnético, y se mide entonces un efecto magneto-óptico cuando se produce la resonancia de plasmón, como por ejemplo la diferencia de reflectividad de la luz con el campo aplicado en un sentido y en otro (TMOKE, del inglés *Transversal Magneto-Optical Kerr Effect*): cuando se produce el reconocimiento, la señal TMOKE se modifica (véase Fig. 1). Se obtiene así una mejora en el límite de detección, es decir, se consigue detectar concentraciones más bajas de analito [7,8].

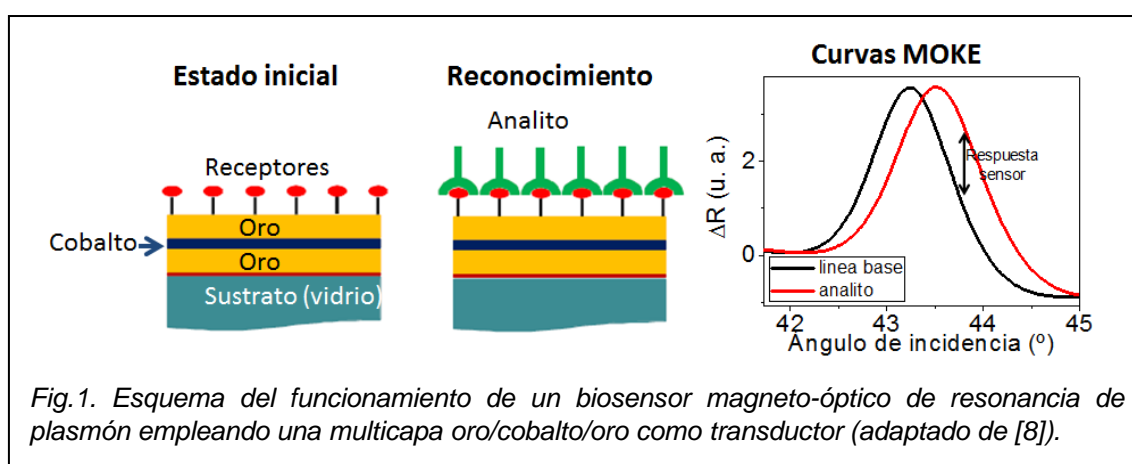


Fig.1. Esquema del funcionamiento de un biosensor magneto-óptico de resonancia de plasmón empleando una multicapa oro/cobalto/oro como transductor (adaptado de [8]).

Otra posibilidad es emplear nanoestructuras de oro en lugar de una lámina delgada, y por tanto la detección está basada en detectar cambios en la resonancia de plasmón localizado. La posición espectral de esa resonancia depende de la composición, tamaño y forma de las nanopartículas, así como también del índice de refracción del medio dieléctrico alrededor de ellas. La dependencia con los tres primeros factores se emplea para seleccionar en qué región del espectro se desea trabajar, ya en el espectro visible, ya en el infrarrojo cercano (sintonización espectral), lo que resulta útil para maximizar la respuesta de biosensibilidad de las nanoestructuras. Por último, las interacciones biomoleculares en la superficie de las nanoestructuras provocan un cambio local de índice de refracción, que se detecta por el desplazamiento de la resonancia [9].

Otros biosensores emplean efectos de transporte eléctrico, como por ejemplo cambios en la impedancia de una multicapa magnética cuando se aplica un campo magnético, fenómeno denominado magneto-impedancia gigante (GMI, *Giant Magneto-Impedance*). Se emplean partículas magnéticas en disolución convenientemente funcionalizadas para captar el analito deseado (un biomarcador que indique la presencia de una enfermedad: un fragmento de ADN, un anticuerpo, una proteína, una enzima...), y cuando se depositan sobre

la multicapa, el campo magnético dipolar de las partículas se detecta por los cambios en la respuesta de GMI de aquella [10].

Otro tipo de biosensores basados en nanomateriales son los biosensores nanomecánicos [11]. En su configuración más habitual, se trata de unas micropalanca con forma de trampolín y espesor del orden de 1000 nm (véase Fig. 2), que están funcionalizadas con la especie complementaria al analito que se desea detectar. Cuando se produce el reconocimiento molecular, cambian tanto la masa como las propiedades mecánicas del sistema (elasticidad, rigidez). Suele trabajarse en modo dinámico, es decir, aprovechando las resonancias mecánicas de la micropalanca (por ejemplo, el primer modo flexural) y empleando un láser que rebota en la micropalanca y llega a un fotodetector, para detectar cómo se mueve aquella.

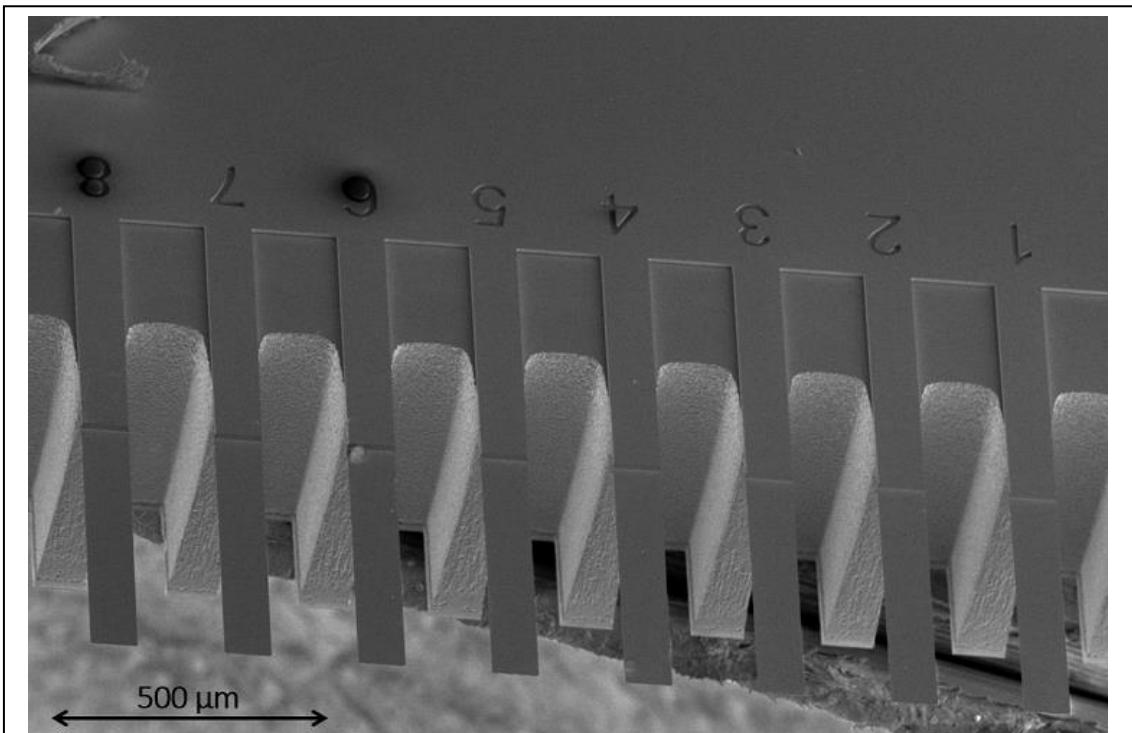


Fig.2. Imagen de SEM de un conjunto de micropalanca (cortesía del grupo de Bionanomecánica del Instituto de Micro y Nanotecnología, CSIC).

Mycobacterium tuberculosis, la bacteria responsable de la tuberculosis [12], y el VIH en un estadio muy incipiente de la enfermedad, apenas una semana después de la infección [13], han podido detectarse con estos biosensores nanomecánicos. De hecho, son tan sensibles que pueden ser una buena herramienta para establecer un diagnóstico a partir de las propiedades mecánicas de las células [14]. Por ejemplo, se sabe que las células de cánceres metastásicos son más elásticas que las células sanas, un hecho que está relacionado con la capacidad de aquéllas para invadir zonas distantes de nuestro organismo, puesto que tienen que atravesar canales muy estrechos, como por ejemplo finos capilares. Un conjunto de células cancerígenas sobre

una micropalanca daría por tanto una respuesta mecánica distinta a la que tendría un conjunto de células sanas.

Nanotecnología para tratamiento de enfermedades.

Aunque la nanotecnología puede emplearse para otros aspectos curativos importantes como son la regeneración de tejidos o la terapia génica, nos centraremos aquí en las soluciones que ofrece para paliar dos de los problemas de salud más acuciantes hoy en día: el cáncer, esto es, el crecimiento incontrolable de células con un comportamiento anormal, y las infecciones causadas por bacterias, dado que muchas de ellas desarrollan mecanismos adaptativos para resistir a los antibióticos convencionales.

Nanotecnología contra el cáncer.

El cáncer es actualmente la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados, y se estima que una de cada tres personas deberá enfrentarse a esta enfermedad a lo largo de su vida. En la lucha contra el cáncer, hay planteadas diversas estrategias basadas en nanomateriales. Una de las más abordadas entre la comunidad científica es la hipertermia, que consiste en poner junto a las células cancerígenas unas nanopartículas que les aportan calor para destruirlas, ya sea mediante el desencadenamiento de la apoptosis o muerte celular programada cuando la temperatura alcanza unos 45 °C, ya sea mediante su carbonización o termoablación para temperaturas superiores a 50 °C. Existen dos vías para que las nanopartículas aporten calor, que se diferencian en el mecanismo y en el agente externo que se aplica:

1) La hipertermia plasmónica [15]. En este caso se emplean nanopartículas de metal noble que presentan una resonancia de plasmón localizada: cuando se las ilumina con luz de la longitud de onda a la que presentan la resonancia, que está en el rango espectral del infrarrojo, esa radiación es absorbida totalmente y la nanopartícula se calienta. Son muy efectivas las nanopartículas que presentan puntas donde se producen efectos de localización e intensificación de la luz, como nanobarras o nanoestrellas[16].

2) La hipertermia magnética [3]. En esta terapia se emplean nanopartículas magnéticas, en especial las de óxidos de hierro debido a su buena biocompatibilidad, y de tamaño suficientemente pequeño como para presentar un comportamiento superparamagnético: esto significa que, debido a las fluctuaciones térmicas, no tienen imanación estable en ausencia de campo magnético aplicado, por lo que se mantiene la estabilidad coloidal y se impide que se aglomeren por atracción magnética. Cuando se aplica un campo magnético alterno externo, las nanopartículas transfieren calor a su entorno, ya sea porque sus momentos magnéticos o espines se van orientando siguiendo las variaciones de ese campo y disipando energía, ya sea porque cada nanopartícula rota como un todo y fricciona con el medio circundante (esos mecanismos se denominan relajación de Néel y relajación de Brown, respectivamente).

Otra estrategia basada en nanopartículas magnéticas se fundamenta en una actuación magneto-mecánica. En esta ocasión, se emplean estructuras que sí presentan un estado ferromagnético, aunque con una pequeña

imanación neta remanente, y se aplica un campo alterno para que sea toda la nanoestructura quien rote, generando así una fricción mecánica que provoca la ruptura de las células cancerígenas a las que están adheridas o que incluso las han internalizado [17]. Para que el proceso sea más eficiente, se prefieren geometrías distintas a la esférica, por ejemplo nanodiscos [18,19], véase Fig. 3.

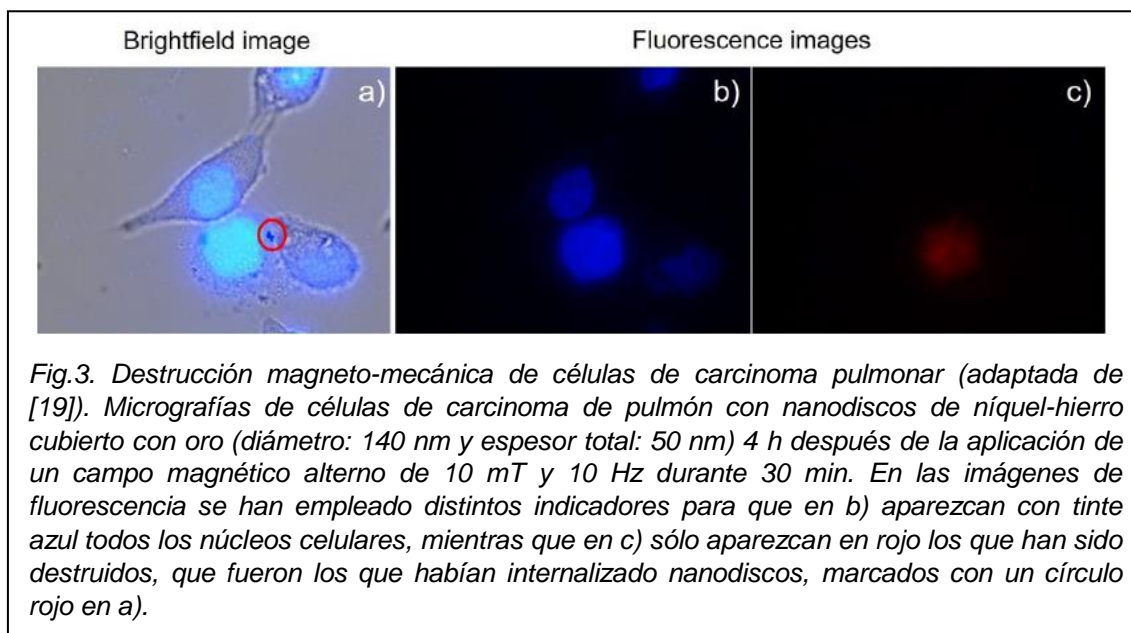


Fig.3. Destrucción magneto-mecánica de células de carcinoma pulmonar (adaptada de [19]). Micrografías de células de carcinoma de pulmón con nanodiscos de níquel-hierro cubierto con oro (diámetro: 140 nm y espesor total: 50 nm) 4 h después de la aplicación de un campo magnético alterno de 10 mT y 10 Hz durante 30 min. En las imágenes de fluorescencia se han empleado distintos indicadores para que en b) aparezcan con tinte azul todos los núcleos celulares, mientras que en c) sólo aparezcan en rojo los que han sido destruidos, que fueron los que habían internalizado nanodiscos, marcados con un círculo rojo en a).

También se investiga en el suministro dirigido de fármacos mediante nanopartículas: en este caso, las nanopartículas hacen de portadoras de medicamentos que administran localmente en la zona del organismo donde es necesario actuar, zona que podemos denominar “el blanco” al que se desea apuntar, que en muchos casos es un tumor cancerígeno o incluso orgánulos celulares específicos como el núcleo o la mitocondria. En esta ruta, las nanopartículas se funcionalizan para que lleven un fármaco adherido o incorporado, que se libera cuando haya alcanzado el blanco mediante la activación del mecanismo adecuado por un estímulo. Ese estímulo puede ser interno a la patología existente, como un cambio en el pH, una degradación enzimática o un potencial redox, o puede ser externo, como aplicar un campo magnético, ultrasonidos, o una determinada iluminación.

Es importante mencionar aquí otro concepto clave: la encapsulación, es decir, nanoentidades que ejercen de contenedores o cápsulas en cuyo interior se halla un fármaco. Entre las más estudiadas se encuentran las nanopartículas mesoporosas de sílice [20], los liposomas (vesículas esféricas de lípidos) [21] y sus análogos a base de polímeros [22], llamados polimerosomas. La principal ventaja que ofrecen estas dos últimas nanocápsulas es su mimetismo mejorado en medio fisiológico, por lo que pueden evitar el reconocimiento y la respuesta del sistema inmune.

Por último, debemos responder a una pregunta fundamental: ¿cómo se logra que, en todas estas estrategias (hipertermia, actuación magneto-mecánica, reparto local de fármacos) solo se vean afectadas las células cancerígenas y no las sanas? De nuevo, de forma más extendida, mediante

una funcionalización adecuada de las nanopartículas, por ejemplo acoplándoles anticuerpos que reconozcan los antígenos específicos de tumores (proteínas que aparecen solo en células tumorales). En el caso de nanopartículas magnéticas, si el tumor está localizado, pueden acumularse allí colocando un imán permanente en su proximidad [23]. Es necesario que ese imán genere un gradiente de campo suficientemente intenso como para vencer al movimiento del flujo sanguíneo, y hay que tener en cuenta además que el tejido existente entre el blanco y el imán también podría acumular nanopartículas: por ello, imanes externos solo podrán emplearse para tumores cercanos a la superficie corporal, mientras que tumores internos requerirán la implantación quirúrgica del imán (y su posterior extracción).

Asimismo, en determinados tumores se manifiesta el efecto de retención y permeabilidad aumentadas, también conocido como efecto EPR por su siglas en inglés (*Enhanced Permeability and Retention*) [24]: sucede que el tejido tumoral presenta una vascularización inmadura con grandes fenestraciones o aberturas, lo que provoca que en estos tejidos se acumule de forma natural una cantidad de nanopartículas mucho mayor que en los tejidos sanos.

Nanotecnología contra las infecciones.

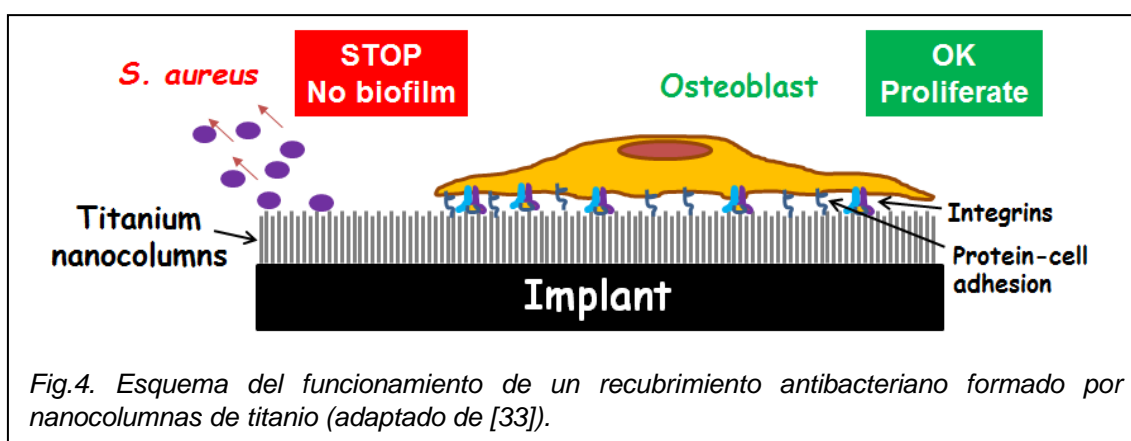
La aparición de bacterias resistentes a los fármacos es un fenómeno que causa gran preocupación hoy en día: por ejemplo, según el Centro de Control de las Enfermedades (CDC, *Center for Disease Control*) las infecciones bacterianas en Estados Unidos afectan a unos dos millones de personas anualmente, y de continuar la tendencia actual, se prevé que en 2050 morirán más personas debido a ellas que a todas las demás enfermedades juntas, incluido el cáncer. Por ello, hay una importante labor investigadora en este campo, en la que los nanomateriales tienen mucho que aportar.

En los últimos años se ha verificado la acción antibacteriana de diversas nanopartículas metálicas, en especial de plata [25], cobre [26] y zinc [27]. Estas nanopartículas se oxidan superficialmente de forma natural en condiciones ambientales o en medio fisiológico, y presentan efectos antibacterianos debido a dos mecanismos [28]. Por un lado, liberan iones metálicos que provocan daños funcionales en la membrana celular, alterando su integridad. Por otro, producen especies reactivas de oxígeno (ROS, por las siglas de *Reactive Oxygen Species*: iones oxígeno, radicales libres y peróxidos) que inducen estrés oxidativo y acaban provocando la apoptosis: este suele ser el mecanismo más importante [25]. Conviene señalar que estos efectos también se están explorando en la lucha contra el cáncer, y de hecho ya hay nanopartículas metálicas o de óxidos metálicos que presentan actividad antibacteriana y también anticancerígena [29].

Se trabaja también en el desarrollo de recubrimientos nanoestructurados y biocompatibles con propiedades antibacterianas, que paliarían los problemas de infección y rechazo en diversos biomateriales y herramientas médicas, tales como implantes dentales, implantes ortopédicos, marcapasos y catéteres. Existen tres estrategias posibles: 1) superficies que liberan fármacos antimicrobianos; 2) superficies que matan directamente las bacterias adheridas (eliminación por contacto); y 3) superficies que impiden la adhesión de las

bacterias. Debido a la gran capacidad adaptativa de las bacterias frente a los antibióticos, se consideran más interesantes a largo plazo estas dos últimas estrategias [30].

La eliminación por contacto puede lograrse incorporando nanoentidades con propiedades bactericidas, como por ejemplo nanopartículas de plata [31]. Por su parte, impedir la adhesión de las bacterias se obtiene con una corrugación en la nanoescala que hace que las bacterias tengan pocos puntos de anclaje accesibles [32]. En el caso de los recubrimientos para implantes, es un requisito imprescindible que esa corrugación no impida la proliferación de las células eucarióticas necesarias, como son los osteoblastos (las células que generan hueso) en los implantes ortopédicos. Afortunadamente, los tamaños son distintos: las bacterias tienen tamaños entre 500 nm y 2 micras, mientras que las células eucarióticas involucradas tienen tamaños de decenas de micras, por lo que con los parámetros adecuados pueden conseguirse superficies nanoestructuradas que inhiban la proliferación bacteriana sin afectar (o incluso mejorar) el desarrollo de las segundas. Por ejemplo, un recubrimiento a modo de tapiz formado por nanocolumnas de titanio de 50 nm de diámetro, 300 nm de largo y separaciones entre columnas de 100 a 200 nm disminuye notablemente la adhesión bacteriana e impide la formación del biofilm (impidiendo por tanto la infección), mientras que permite el normal desarrollo de los osteoblastos [33], véase Fig. 4.



Además, es posible mejorar las prestaciones de este recubrimiento sintetizando unas nanopartículas de teluro sobre ese tapiz [34]: se logra así una sinergia entre la baja adhesión bacteriana debida a las nanocolumnas de titanio y el efecto bactericida (eliminación por contacto debida a la producción de ROS) causado por esas nanopartículas de teluro, sin comprometer por ello la viabilidad de los osteoblastos, véase Fig. 5.

Consideraciones finales.

Acabamos de ver que los nanomateriales no solo deben ser efectivos para el diagnóstico o el tratamiento de una enfermedad, sino que también deben ser inocuos para las células sanas y que permitan su normal desarrollo. Los

estudios de biocompatibilidad deben contemplar además otros aspectos: es necesario comprobar que no generen rechazo inmunológico ni provoquen carcinogénesis, y considerar su posible transformación a lo largo de su ciclo de vida, analizando su toxicidad: a qué órganos pueden afectar, qué alteraciones pueden producir y a partir de qué umbrales. Asimismo, es importante estudiar cómo se eliminan del organismo y qué sucede con ellos posteriormente, teniendo en consideración su posible reciclaje.

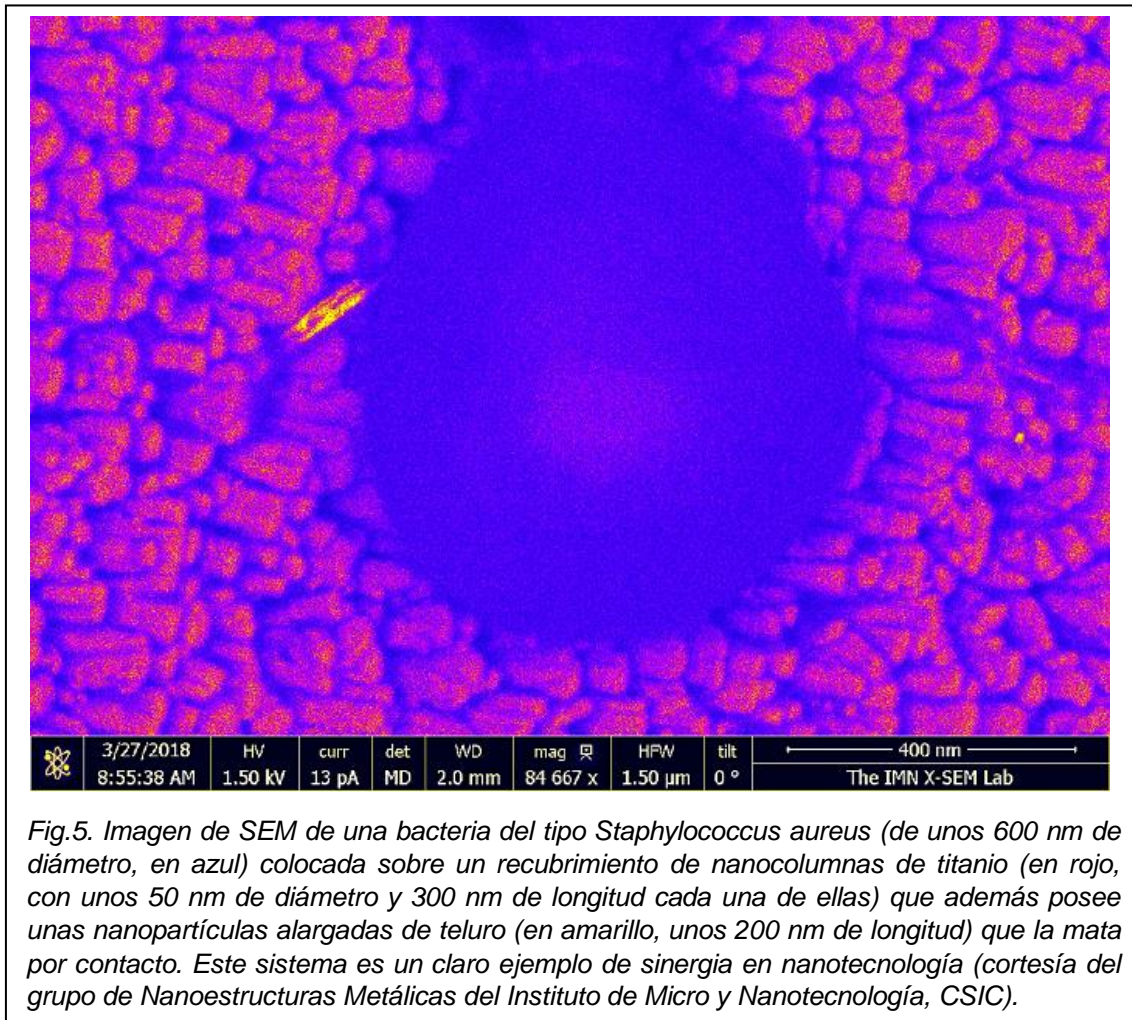


Fig.5. Imagen de SEM de una bacteria del tipo *Staphylococcus aureus* (de unos 600 nm de diámetro, en azul) colocada sobre un recubrimiento de nanocolumnas de titanio (en rojo, con unos 50 nm de diámetro y 300 nm de longitud cada una de ellas) que además posee unas nanopartículas alargadas de telurio (en amarillo, unos 200 nm de longitud) que la mata por contacto. Este sistema es un claro ejemplo de sinergia en nanotecnología (cortesía del grupo de Nanoestructuras Metálicas del Instituto de Micro y Nanotecnología, CSIC).

Debido a todo ello, hasta que se comercializa una terapia hay que recorrer un largo camino que dura varios años: se inicia con los ensayos *in vitro*, si son positivos se pasa normalmente a ensayos con animales y por último se realizan las distintas fases de los estudios clínicos. Por eso, le ruego al lector o a la lectora de este capítulo un poco de paciencia si no encuentra aún en el hospital algunas de las técnicas que aquí se han mencionado: le aseguro que no son ciencia ficción, y muchas de ellas acabarán estando disponibles para su uso.

Referencias:

- [1] Gas Phase Synthesis of Nanoparticles, Editor: Y. Huttel, Wiley-VCH Verlag GmbH, April 2017. ISBN 978-3-527-34060-6.
- [2] Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities, Monaliben Shah, Derek Fawcett, Shashi Sharma, Suraj Kumar Tripathy and G errard Eddy Jai Poinern, *Materials* 8, 7278 (2015).
- [3] Biological applications of magnetic nanoparticles, M. Colombo, S. Carregal-Romero, M. F. Casula, L. Guti errez, M. P. Morales, I.B. B ohm, J. T. Heverhagen, D. Prospero, W. J. Parak, *Chemical Society Reviews*, 41, 4306 (2012).
- [4] Nanoprobes with near-infrared persistent luminescence for in vivo imaging, Q.M. de Chermont, C. Chaneac, J. Seguin, F. Pelle, S. Ma trejean, J.P. Jolivet, et al., *P. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 9266 (2007).
- [5] A new near-infrared persistent luminescence nanoparticle as a multifunctional nanoplatform for multimodal imaging and c ancer therapy, Junpeng Shi, Xia Sun, Shenghui Zheng, Jinlei Li, Xiaoyan Fu, Hongwu Zhang, *Biomaterials* 152, 15 (2018).
- [6] Surface Plasmon Resonance Sensors for Detection of Chemical and Biological Species, J. Homola, *J. Chem. Rev.* 108, 462 (2008).
- [7] Enhanced antibody recognition with a magneto-optic surface plasmon resonance (MO-SPR) sensor, Maria Grazia Manera, Elias Ferreiro-Vila, Jose Miguel Garcia-Martin, Antonio Garcia-Martin, Roberto Rella, *Biosensors and Bioelectronics* 58, 114 (2014).
- [8] Propiedades magneto- pticas y plasm nicas entrelazadas en multicapas magnetoplasm nicas de metal y metal/diel ctrico. Tesis doctoral de El as Ferreiro Vila, Universidad de Santiago de Compostela (2012).
- [9] LSPR-based nanobiosensors, Borja Sep lveda, Paula C. Angelom , Laura M. Lechuga, Luis M. Liz-Marz n. *Nano Today* 4, 244 (2009).
- [10] An integrated giant magnetoimpedance biosensor for detection of biomarker, T. Wang, Z. Yang, C. Lei, J. Lei, Y. Zhou. *Biosensors and Bioelectronics* 58, 338 (2014).
- [11] Comparative advantages of mechanical biosensors, J.L. Arlett, E.B. Myers, and M.L. Roukes, *Nature Nanotechnology* 6, 203 (2011).
- [12] Label-Free DNA-Based Detection of Mycobacterium tuberculosis and Rifampicin Resistance through Hydration Induced Stress in Microcantilevers, Carmen M. Dom nguez, Priscila M. Kosaka, Alma Sotillo, Jes s Mingorance, Javier Tamayo, and Montserrat Calleja. *Anal.Chem.* 87, 1494 (2015).
- [13] Ultrasensitive detection of HIV-1 p24 antigen by a hybrid nanomechanical-optoplasmonic platform with potential for detecting HIV-1 at first week after infection, Priscila M. Kosaka, Valerio Pini, Montserrat Calleja, Javier Tamayo, *PLOS ONE*, 12: e0171899 (2017).

- [14] Mass and stiffness spectrometry of nanoparticles and whole intact bacteria by multimode nanomechanical resonators, O. Malvar, J. J. Ruz, P. M. Kosaka, C. M. Domínguez, E. Gil-Santos, M. Calleja, J. Tamayo, *Nature Communications*, 7, 13452 (2016).
- [15] Photo-thermal tumor ablation in mice using nearinfrared-absorbing nanoparticles, D. Patrick O'Neal, Leon R. Hirsch, Naomi J. Halas, J. Donald Payne, Jennifer L. West, *Cancer Letters* 209, 171 (2004).
- [16] Tailoring Surface Plasmons through the Morphology and Assembly of Metal Nanoparticles, Luis M. Liz-Marzan, *Langmuir* 22, 32 (2006).
- [17] Biofunctionalized magnetic-vortex microdiscs for targeted cancer-cell destruction, D. H. Kim, E. A. Rozhkova, I. V. Ulasov, S. D. Bader, T. Rajh, M. S. Lesniak and V. Novosad, *Nat Mater.* 9, 165 (2010).
- [18] Properties of Permalloy nanodiscs in magnetic vortex state and magneto-mechanical treatment of cancer cells, M. Goiriena-Goikoetxea, I. Orue, K. Guslienko, E. Berganza, M. Jaafar, A. Asenjo, D. Munoz, A. Muela, A. Garcia-Arribas, *Proceedings 2018 IEEE INTERMAG*, DOI: 10.1109/INTMAG.2018.8508850
- [19] Magnetic vortex nanodiscs for cancer cell destruction. Tesis doctoral de Maite Goiriena-Goikoetxea, Universidad del País Vasco (2017).
- [20] Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery: Current Insights, M. Vallet-Regí, M. Colilla, I. Izquierdo-Barba and M. Manzano, *Molecules* 23, 47 (2018).
- [21] Biodistribution and pharmacokinetics of ¹⁸⁸Re-liposomes and their comparative therapeutic efficacy with 5-fluorouracil in C26 colonic peritoneal carcinomatosis mice, Tsai et al., *Int. J. Nanomedicine* 6, 2607 (2011).
- [22] Polymeric nanoparticles for targeted treatment in oncology: current insights, R. H. Prabhu, V. B. Patravale, M. D. Joshi, *Int. J. Nanomedicine* 10, 1001 (2015).
- [23] Simultaneous hyperthermia-chemotherapy with controlled drug delivery using single-drug nanoparticles, I. Sato et al., *Sci. Rep.* 6, 24629 (2016).
- [24] Macromolecular therapeutics in cancer treatment: The EPR effect and beyond, H. Maeda, *Journal of Controlled Release* 164, 138 (2012).
- [25] Role of reactive oxygen species in the antibacterial mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli* O157:H7, Xu et al., *Biometals* 25, 45 (2012).
- [26] Antimicrobial Properties of Copper Nanoparticles and Amino Acid Chelated Copper Nanoparticles Produced by Using a Soya Extract, DeAlba-Montero et al., *Bioinorg. Chem. Appl.* 2017, 1064918 (2017).
- [27] Antibacterial activity of silver and zinc nanoparticles against *Vibrio cholerae* and enterotoxigenic *Escherichia coli*, Salem et al., *Int. J. Med. Microbiol.* 305, 85 (2015).
- [28] The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future, L. Wang, C. Hu, L. Shao, *Int. J. Nanomedicine* 12, 1227 (2017).
- [29] Synthesis and characterization of PVP-coated tellurium nanorods and their antibacterial and anticancer properties. Christopher D. Brown, David M. Cruz, Amit K. Roy, Thomas J. Webster, *J. Nanopart. Res.* 20: 254 (2018).
- [30] In vitro methods for the evaluation of antimicrobial surface designs, Jelmer Sjollema, Sebastian A.J. Zaat, Veronique Fontaine, Madeleine Ramstedt, Reto Luginbuehl, Karin Thevissen, Jiuyi Li, Henny C. van der Mei, Henk J. Busscher, *Acta Biomaterialia* 70, 12 (2018).
- [31] Antibacterial effects and biocompatibility of titanium surfaces with graded silver incorporation in titania nanotubes, Mei et al., *Biomaterials* 35, 4255 (2014).
- [32] Antibacterial titanium nanopatterned arrays inspired by dragonfly wings, Chris M. Bhadra, Vi Khanh Truong, Vy T. H. Pham, Mohammad Al Kobaisi, Gediminas Seniutinas, James Y. Wang, Saulius Juodkazis, Russell J. Crawford and Elena P. Ivanova, *Sci. Rep.* 5, 16817 (2015).
- [33] Nanocolumnar coatings with selective behavior towards osteoblast and *Staphylococcus aureus* proliferation, Isabel Izquierdo-Barba, José Miguel García-Martín, Rafael Álvarez, Alberto Palmero, Jaime Esteban, Concepción Pérez-Jorge, Daniel Arcos, María Vallet-Regí. *Acta Biomaterialia* 15, 20 (2015).
- [34] Synergic antibacterial coatings combining titanium nanocolumns and tellurium nanorods, David Medina-Cruz, María Ujué González, William Tien-Street, Marcial Fernández-Castro, Ada Vernet-Crua, Iván Fernández-Martínez, Lidia Martínez, Yves Huttel, Thomas J. Webster and José Miguel García-Martín. *Nanomed.-Nanotechnol. Biol. Med.* 17, 36 (2019).

José Miguel García-Martín

Doctor en Ciencias Físicas.

Investigador Científico, Instituto de Micro y Nanotecnología, CSIC.