



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

FARMAZIA
FAKULTATEA
FACULTAD
DE FARMACIA

**GRADO EN FARMACIA
CURSO 2020/2021**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Nanopartículas de oro para el diagnóstico y tratamiento del cáncer

Autora: Marta Bartolomé Pascual

Directora: Laura Sáenz del Burgo Martínez

Facultad de Farmacia

Universidad del País Vasco. UPV/EHU.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	3
RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	4
2. OBJETIVO	6
3. METODOLOGÍA	7
4. DESARROLLO	8
4.1. Síntesis de las nanopartículas de oro y diferentes tipos	9
4.2. Características de las nanopartículas de oro	11
4.2.1. Tamaño y forma	11
4.2.2. Resonancia de plasmón superficial (SPR).....	12
4.2.3. Funcionalización de la superficie.....	13
4.2.4. Biocompatibilidad.....	14
4.3. Consideraciones generales de las nanopartículas de oro en el cáncer 15	
4.3.1. PEGilación	15
4.3.2. Efecto de la permeabilidad y retención aumentada (EPR).....	16
4.4. Nanopartículas de oro en el diagnóstico del cáncer	17
4.5. Nanopartículas de oro en el tratamiento del cáncer	19
4.6. Limitaciones y ventajas de las nanopartículas de oro	22
4.7. Avances recientes en los ensayos clínicos	23
5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVA DE FUTURO	24
BIBLIOGRAFÍA	25

ABREVIATURAS

AECC: Asociación española contra el cáncer

APS: 3-aminopropiltriétoxisilano

AuNPs: Nanopartículas de oro

CTAB: Bromuro de cetiltrimetilamonio

EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico

EPR: Efecto de la permeabilidad y retención aumentada

GSH: Glutation

NIR: Infrarrojo cercano

OMS: Organización Mundial de la Salud

PDT: Terapia fotodinámica

PEG: Polietilenglicol

PTT: Terapia fototérmica

RMN: Resonancia magnética nuclear

ROS: Especies reactivas de oxígeno

RX: Rayos X

siRNA: RNA pequeños de interferencia

SPR: Resonancia de plasmón superficial

UV-VIS: Ultravioleta-Visible

RESUMEN

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo. Los avances en el campo de la nanomedicina en los últimos años han hecho posible que las nanopartículas sean interesantes en el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad. Las nanopartículas de oro (AuNPs) se consideran prometedoras en la aplicación biomédica gracias a sus características y propiedades, que incluyen la fácil síntesis en diferentes formas y tamaños, la funcionalización de la superficie, la resonancia de plasmón superficial, la naturaleza estable y el efecto de retención y permeabilidad aumentada. En este trabajo se proporciona una visión general de los avances recientes de las AuNPs en el diagnóstico por imagen y en el tratamiento con quimioterapia, radioterapia, terapias plasmónicas y terapia génica, además de las limitaciones y ventajas de estas AuNPs y los recientes ensayos clínicos.

1. INTRODUCCIÓN.

Cáncer se denomina a un conjunto de enfermedades relacionadas, que tienen en común la rápida multiplicación de células anormales que se extienden más allá de los límites habituales y pueden invadir órganos y tejidos adyacentes produciendo metástasis [1].

El cáncer sigue constituyendo una de las principales causas de morbi-mortalidad en el mundo, con aproximadamente 18,1 millones de casos nuevos en el mundo en el año 2018 y las estimaciones poblacionales indican que en los siguientes años esta cifra se verá incrementada hasta 29,5 millones de casos al año en el 2040. Analizando un informe anual editado por la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) se pueden obtener los datos de incidencia, mortalidad, supervivencia y prevalencia del cáncer en España en el año 2020. El número de cánceres diagnosticados en España en 2020 se estima que alcanzó los 277.394 casos según los cálculos de la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN), siendo los más frecuentes los de colon y recto, próstata, mama, pulmón y vejiga urinaria [2]. Esta enfermedad causó a nivel mundial aproximadamente 10 millones de muertes en el año 2020 de acuerdo con los datos aportados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [1], y en España, constituyó la segunda causa de muerte con el 26,4% de los fallecimientos, un 1,3% menos que el año anterior. De forma general, el número de fallecimientos ha experimentado un

descenso en las últimas décadas. Esta tendencia puede deberse a campañas preventivas, diagnóstico precoz y avances terapéuticos [2].

Según un estudio elaborado por la consultora estratégica Oliver Wyman para la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC) que analiza el impacto económico del cáncer en el año 2020 estima que el cáncer supone a la sociedad española alrededor de 19.300 millones de euros. El tratamiento supone el ítem más costoso de la enfermedad y las soluciones se basan en la prevención y detección precoz de la enfermedad [3].

Los métodos de diagnóstico se pueden clasificar en pruebas analíticas, pruebas de imagen y estudio de tejidos en función de la técnica empleada. Las pruebas analíticas se basan en análisis de sangre, marcadores tumorales y otras pruebas como análisis de orina, del líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, heces y exudado nasofaríngeo. En el diagnóstico por imagen se obtienen imágenes que determinan la localización, tamaño y extensión de la enfermedad e incluye radiografía por rayos X (RX), tomografía computerizada (TC), resonancia magnética nuclear (RMN), gammagrafía, tomografía SPECT y PET, que se basan las tres en la misma técnica, ecografía y endoscopia [4].

Las principales modalidades de tratamiento de esta enfermedad se basan en métodos de cirugía, radioterapia y quimioterapia [1]. Se seleccionan una o varias en función de una serie de factores relacionados con el tumor, como el tamaño y localización, tipo de tumor y la afectación de ganglios o de otros órganos, y relacionados con el paciente, como la edad, el estado general de salud, otras enfermedades importantes y el deseo del propio paciente [5].

La cirugía suele ser el principal tratamiento en cánceres que no se han extendido a otros órganos y trata de extirpar el tumor conservando, la mayoría de las veces, el órgano donde se encontraba el tumor y su función, además de diagnosticar y estudiar la extensibilidad de la enfermedad. Por otro lado, seis de cada diez enfermos de cáncer reciben radioterapia como parte del tratamiento, únicamente o asociado a otra terapia. Este método consiste en la administración de radiaciones externas o internas que destruyen el tumor. En el caso de la externa la radiación se administra mediante un acelerador lineal que genera la radiación, mientras que en la interna se introducen directamente en el paciente isótopos en el tumor o muy próximos a él. Por último, la quimioterapia es una de las modalidades más empleadas en el tratamiento del cáncer. Trata de destruir las células que componen el tumor mediante la administración y

diseminación por todo el organismo de fármacos antineoplásicos o quimioterápicos por vía oral o intravenosa. Existen también otras modalidades de tratamiento frente a esta enfermedad que se emplean con menos frecuencia, como la terapia hormonal, inmunoterapia, radioterapia intraoperatoria, radioterapia esterotáxica, cirugía con láser y crioterapia [5].

El avance tecnológico ha permitido desarrollar métodos de diagnóstico y tratamientos más eficaces contra el cáncer y menos tóxicos para el organismo. Sin embargo, a menudo, los tratamientos con quimioterapia y radioterapia producen efectos adversos no deseados en los pacientes como cansancio, caída del cabello, alteraciones de la médula ósea, alteraciones de la piel o efectos secundarios digestivos [6]. Los efectos adversos producidos por la quimioterapia se deben a que los fármacos antineoplásicos administrados se diseminan por todo el organismo y solo una fracción del fármaco es capaz de alcanzar el tumor, produciendo efectos tóxicos en las células no cancerosas. Además, las células cancerígenas pueden generar resistencia a los fármacos e incrementar su metabolismo y alterar las dianas farmacológicas [7]. En el caso de la radioterapia, al ser un tratamiento local, los efectos adversos aparecen únicamente en la zona que ha recibido la radiación, ya que esta destruye las células tumorales, pero también las células del tejido sano de alrededor [6].

A pesar de este progreso mencionado anteriormente, se necesitan métodos de diagnóstico más precisos y tempranos y terapias individualizadas. En los últimos años, los nanomateriales y las nanopartículas se han estudiado como aplicación clínica del cáncer por su fácil manipulación. De todas las nanopartículas, las nanopartículas de oro (AuNPs) han sido objeto de estudio en el diagnóstico y terapia del cáncer por sus características y propiedades fisicoquímicas, que se describen más adelante.

2. OBJETIVO.

El objetivo de este trabajo es describir las características y propiedades de las nanopartículas de oro, así como su síntesis, y sus posibles aplicaciones en el diagnóstico y tratamiento del cáncer.

3. METODOLOGÍA.

Este trabajo de fin de grado se basa en una revisión bibliográfica sobre las AuNPs en relación con el cáncer. Para ello, la información se obtuvo de la base de datos científica PubMed y de páginas web oficiales como la AECC o la OMS.

En PubMed se realizaron dos búsquedas diferentes para obtener una información más completa ya que eran demasiados términos para una única búsqueda. Por un lado, interesaba obtener información de las AuNPs y su síntesis en los últimos cinco años y las palabras clave y conectores fueron *"gold nanoparticles" AND "cancer" AND "synthesis" AND "cytotoxicity"*. Por otro lado, para obtener información relacionada de las AuNPs con la enfermedad del cáncer y su terapia, tratamiento y diagnóstico en los últimos cinco años se utilizaron los términos *"gold nanoparticles" AND "cancer" AND "therapy" AND "treatment" AND "diagnostic" AND "applications"*. En la primera búsqueda resultaron 88 artículos y en la segunda 54, de los cuales leyendo el título y el resumen se descartaron 102 porque se trataban de estudios no concluyentes, no se relacionaban con la enfermedad del cáncer, no se centraban en las AuNPs o eran estudios demasiado específicos con un tipo concreto de nanopartícula. Finalmente, se obtuvieron 40 artículos en total que en un principio abarcaban toda la información necesaria de las AuNPs para la realización del trabajo. Tras haber leído los artículos finales, la información se adquirió de 16 artículos ya que eran los que mejor explicaban todos los objetivos de este trabajo de una forma más completa y entendible, además de aportar ejemplos de estudios clínicos importantes. A parte, se buscaron tres artículos de años anteriores a esta búsqueda debido a su mención en varios de los artículos finales por su importancia en el tema.

También se analizaron los últimos avances en los ensayos clínicos en la página web ClinicalTrials.

4. DESARROLLO.

El término “nanopartícula” se define como un grupo de átomos o moléculas que presentan un diámetro entre 2 y 100 nm. Las nanopartículas pueden obtenerse a partir de diferentes materiales incluyendo compuestos inorgánicos o polímeros orgánicos, entre otros, dando como resultado nanopartículas metálicas, poliméricas, liposomas, micelas, puntos cuánticos y dendrímeros [8].

De todas las nanopartículas mencionadas anteriormente, los investigadores en los últimos años comenzaron a estudiar las propiedades ópticas y la biocompatibilidad de las AuNPs y a manipular la forma, el tamaño, la composición y funcionalización de la superficie para aplicarlas en el campo de la biomedicina (figura 1) [9]. Sus características hacen que puedan ser utilizadas como biosensores, en inmunoensayos, liberación de fármacos, técnicas de fotoimagen, terapias fototérmicas (*Photothermal therapy, PTT*) y terapias fotodinámicas (*Photodynamic therapy, PDT*) [10].

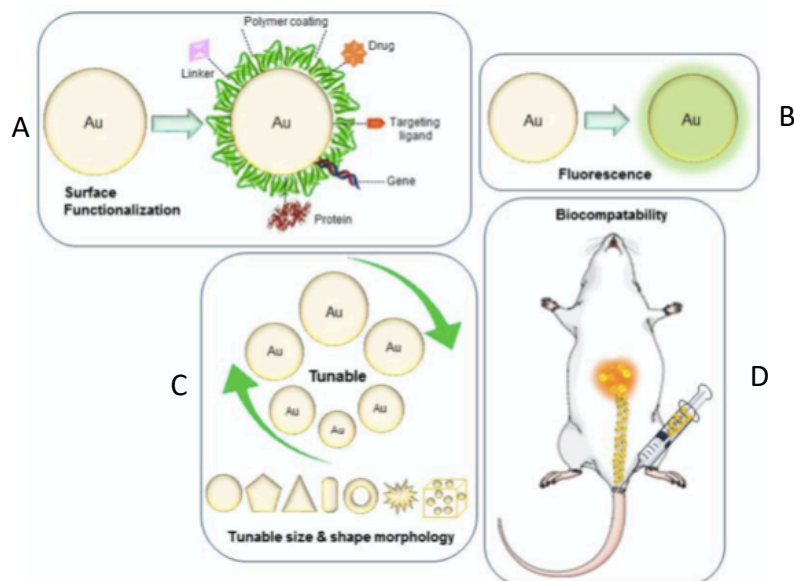


Figura 1. Resumen gráfico de algunas de las propiedades de las AuNPs: (A) funcionalización de la superficie, (B) obtención de imágenes por fluorescencia, (C) modificación de la forma y tamaño y (D) biocompatibilidad. Imagen modificada de [10].

4.1. Síntesis de las nanopartículas de oro y diferentes tipos

Dependiendo de las características de la nanopartícula deseada se pueden sintetizar las AuNPs mediante métodos químicos o biológicos.

Generalmente, las AuNPs se producen mediante la reducción de un precursor del oro como el ácido tetracloroáurico (HAuCl_4), cuya estructura química se corresponde a la Figura 2 A. Los iones Au^{3+} se reducen a átomos de oro neutros mediante diferentes agentes reductores como NaBH_4 , hidracina o citrato en agua, haciendo que se produzca una solución saturada y los átomos de oro precipiten en partículas nanométricas. Es necesario el uso de agentes estabilizadores para evitar la agregación de las AuNPs [8].

En 1951, Turkevitch *et al.* desarrollaron una de las rutas sintéticas más comunes conocida como el método de reducción de citrato en agua en la cual se forman AuNPs de tamaño y forma controlada variando el ratio citrato/oro (Figura 2 (1)) [9, 11].

En 1994, Brust *et al.* introdujeron un nuevo procedimiento de elaboración en el que se incluían ligandos tiolados en la superficie de las AuNPs para controlar el núcleo y la dispersión de las nanopartículas (Figura 2 (2)) [9, 12].

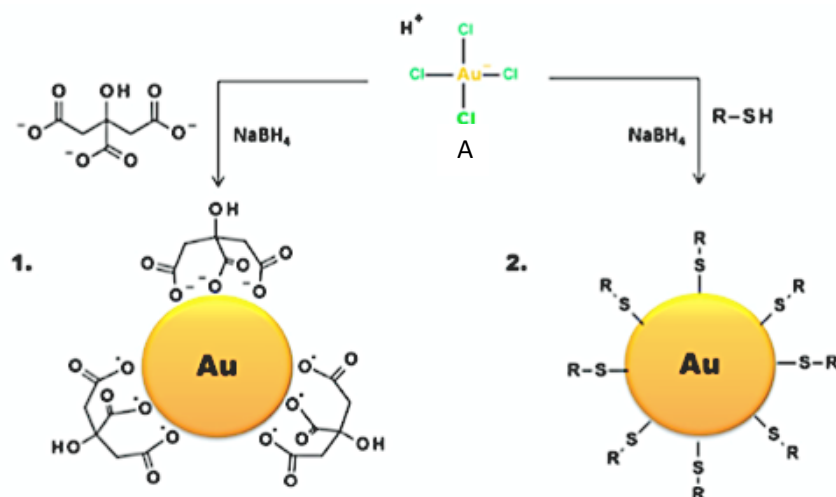


Figura 2. Esquema de la síntesis de las AuNPs a partir del (A) ácido tetracloroáurico (1) por el método de reducción de citrato y (2) por el método de ligandos tiolados. Imagen modificada de [9].

En los últimos años se ha incrementado el interés por los métodos de síntesis “verdes” que utilizan agentes reductores fitoquímicos alternativos al NaBH_4 , hidracina o citrato

por su alto grado de toxicidad medioambiental [9]. En estos métodos se parte de una solución de HAuCl_4 y se le añade un agente reductor, que puede ser el extracto de una planta, un hongo, una bacteria, enzimas o biopolímeros. Las materias primas utilizadas en estos métodos son renovables y dependiendo de los materiales escogidos el proceso de elaboración será diferente [13].

Mediante una variación estos métodos de síntesis mencionados se pueden obtener nanoesferas de oro, *nanorods* de oro, *nanocages* de oro y *nanoshells* de oro, que son las formas que aparecen en los estudios clínicos con más relevancia.

El tamaño de partícula de las nanoesferas de oro se encuentra entre 2 y 100 nm y se sintetizan mediante la reducción de HAuCl_4 con el agente reductor citrato trisódico. Este reductor es capaz de generar nanoesferas de oro monodispersables con diferente tamaño de partícula ajustando la concentración de citrato y de esta forma se evita la formación de nanoesferas de oro grandes de forma irregular. También se pueden sintetizar utilizando otros agentes reductores como hidrocloreto de hidroxilamina, ácido ascórbico o peróxido de hidrógeno [10].

Los *nanorods* de oro (GNRs) presentan un tamaño de partícula entre 10 y 100 nm y un ratio entre 1 y 7. Se sintetizan reduciendo una solución de la sal de oro en presencia de un agente reductor fuerte como el NaBH_4 [8]. Esta solución se añade a una mezcla de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), un agente reductor suave como el ácido ascórbico y de nuevo HAuCl_4 . La forma alargada en forma de elipse de las micelas de CTAB permite el crecimiento de las AuNPs en alargado (“rod”) [9]. Estudios recientes han confirmado que los GNRs son capaces de absorber radiación infrarroja y convertirla en calor causando la muerte de la célula cancerosa por apoptosis y/o necrosis, útil en la terapia fototérmica [8].

Las *nanocages* de oro son nanoestructuras huecas que presentan un tamaño de partícula aproximadamente entre 40 y 50 nm. Pueden ser sintetizadas mediante la síntesis galvánica reaccionando nanocubos de plata (AgNO_3) y la sal de oro (HAuCl_4) con el agente reductor etilenglicol. En un principio se generan nanocristales de plata que pueden ser transformados en AuNPs con estructura hueca por la sustitución galvánica [10].

Los *nanoshells* de oro están compuestos por un núcleo de un material dieléctrico, que puede ser sílica o poliestireno, cubierto con una capa fina de oro. Un método común




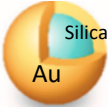
para la preparación de los *nanoshells* de oro es la modificación del núcleo con un ligando bifuncional que mejora el revestimiento con la capa de oro. En el caso del núcleo de sílica, la superficie se modifica con 3-aminopropiltrietoxisilano (APS). Los grupos etoxi del APS se conjugan covalentemente a la superficie de sílica a través de los grupos hidroxil, mientras que los grupos amino se conjugan con la partícula de oro [10].

4.2. Características de las nanopartículas de oro

4.2.1. Tamaño y forma

El tamaño y la forma de las nanopartículas se pueden manipular en su síntesis para así obtener varios tipos de AuNPs como nanoesferas, *nanorods*, *nanocages*, *nanoshells*, *nanostars* y *nanoclusters*. En función de su forma y tamaño las aplicaciones terapéuticas varían y las más utilizadas se encuentran resumidas en la tabla 1 [14].

Tabla 1. Tabla resumen de los tipos de las AuNPs más comúnmente utilizadas en el tratamiento del cáncer [Modificación 14].

AuNPs	Aplicaciones terapéuticas
 Nanoesfera (2-100 nm)	<ul style="list-style-type: none"> • Imagen celular (luz visible) • Terapia fototérmica (luz visible) • Liberación de sustancias terapéuticas
 Nanorod (10-100 nm)	<ul style="list-style-type: none"> • Imagen tumoral (mejora la propiedad de radiación; NIR) • Terapia fototérmica (mejora la propiedad de no radiación; NIR) • Liberación de sustancias terapéuticas
 Nanocage (40-50 nm)	<ul style="list-style-type: none"> • Imagen tumoral (mejora la propiedad de radiación; NIR) • Terapia fototérmica (mejora la propiedad de no radiación; NIR) • Terapia fotodinámica (forma y estructura) • Liberación de sustancias terapéuticas
 Nanoshell (100 nm)	<ul style="list-style-type: none"> • Imagen tumoral (mejora la propiedad de radiación; NIR) • Terapia fototérmica (mejora la propiedad de no radiación; NIR) • Terapia fotodinámica (forma y estructura) • Liberación de sustancias terapéuticas

El tamaño y la forma de las AuNPs son factores críticos que determinan la distribución por los vasos sanguíneos, alcanzar la célula diana y su eliminación del organismo. Es por ello que las nanopartículas de más de 10 nm son demasiado grandes para eliminarse de los capilares normales. Además, las nanopartículas de menor tamaño difunden mejor por los vasos sanguíneos. Sin embargo, las nanopartículas más grandes pueden acumularse y permanecer más tiempo en el lugar de acción [15]. Además, al reducir el tamaño del metal se incrementa el área superficial y aumenta la posibilidad de funcionalización de la superficie, una propiedad que se explica más adelante [16].

La forma y el tamaño de las nanopartículas se caracterizan mediante técnicas de microscopía electrónica de transmisión (TEM) o microscopía electrónica de escáner (SEM) [9].

4.2.2. Resonancia de plasmón superficial (SPR)

Las AuNPs tienen una propiedad única denominada resonancia de plasmón superficial (SPR), que es la que proporciona las características ópticas. SPR se refiere a la resonancia de la oscilación de los electrones libres del metal como resultado de la incidencia de luz externa (Figura 3).

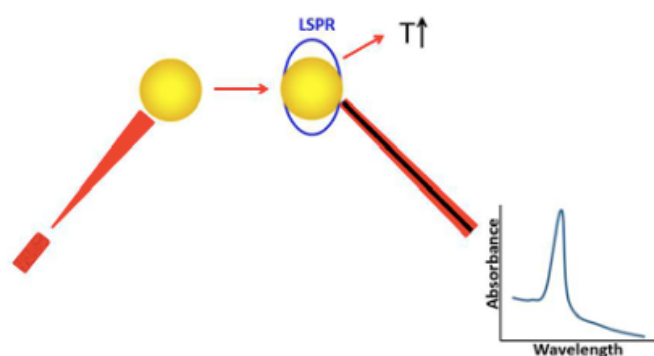


Figura 3. Ilustración de la resonancia de plasmón superficial de las AuNPs [17].

La longitud de onda máxima alcanzada a una frecuencia específica se denomina SPR. Dos procesos ocurren cuando la luz externa incide sobre la materia; absorción y dispersión de la luz. La SPR dependerá de la forma, tamaño y estructura de la AuNP, así como de las propiedades dieléctricas del metal y del medio [14]. Es importante que la longitud de onda de absorción de las AuNPs se encuentre dentro de la zona cercana al infrarrojo (NIR) (650 – 1300 nm) debido a que esta zona es la ventana terapéutica u óptica. La luz puede penetrar en los tejidos profundos ya que otras especies biológicas

no absorben a esa longitud de onda. Debido a este efecto, estudios se están realizando para la aplicación de las AuNPs en terapia, imagen y diagnóstico del cáncer, como se puede observar en la figura 4 [16].

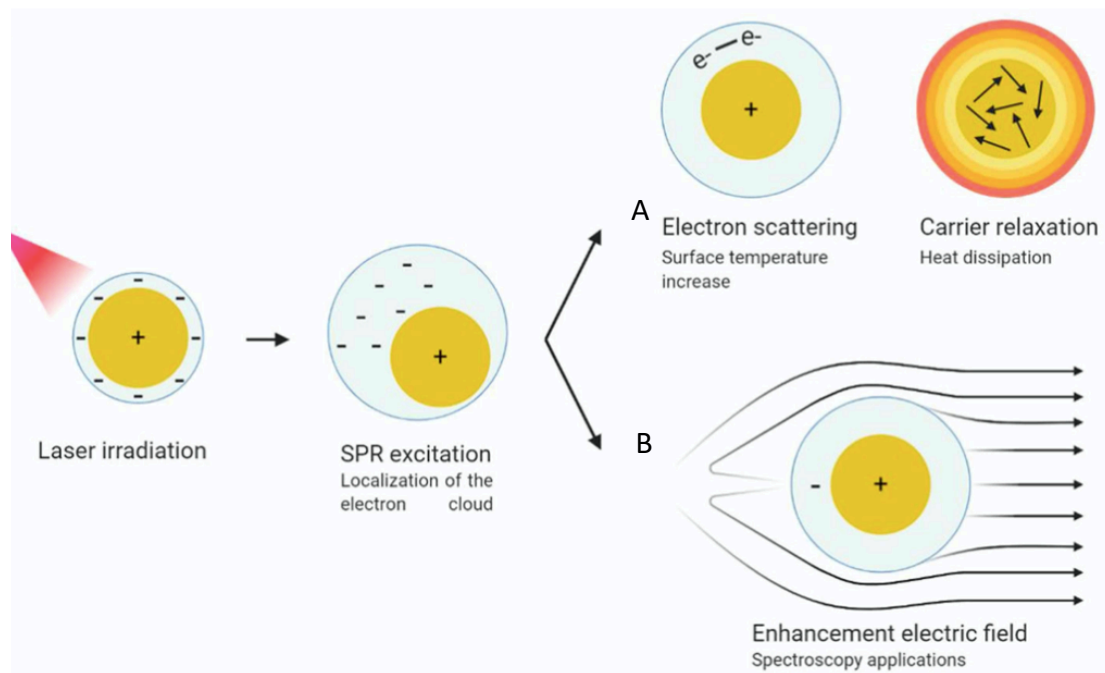


Figura 4. Resonancia de plasmón superficial de las AuNPs y su aplicación en terapia fototérmica (A) e imagen para el diagnóstico (B). Imagen modificada de [16].

La espectroscopía UV-VIS caracteriza las propiedades ópticas, es decir, la longitud de onda a la cual absorbe que puede correlacionarse con la forma y el tamaño [9].

4.2.3. Funcionalización de la superficie

Otra propiedad importante es la funcionalización de la superficie (figura 5). La superficie puede ser funcionalizada con una amplia posibilidad de ligandos como fármacos, anticuerpos, polímeros, material genético, proteínas o marcadores. Estos ligandos mejoran la estabilidad de las AuNPs y controlan y aumentan la liberación del fármaco en las células tumorales, además de poder actuar como sensores en el diagnóstico de la enfermedad. También son útiles en terapias fototérmicas y fotodinámicas, en terapias inmunológicas y en terapias génica [14].

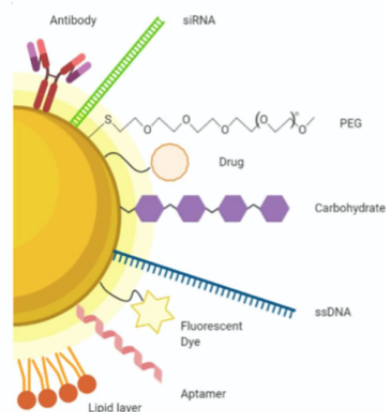


Figura 5. Componentes funcionales de la superficie de la nanopartícula de oro [16].

Se puede funcionalizar la superficie de las nanopartículas a través de cuatro vías sintéticas diferentes [9]:

- i) Se pueden utilizar moléculas bifuncionales, que se unen a la superficie de las AuNPs y al ligando, actuando como un agente estabilizador.
- ii) Conjugación directa de grupos aminados o tiolados a la superficie de las AuNPs.
- iii) Adición de un agente estabilizador a la superficie de la nanopartícula para intercambiarse con el ligando.
- iv) Modificación de las moléculas presentes en la estructura de las AuNPs.

La difracción de rayos X (XRD) se utiliza para obtener información de la estructura cristalina y composición [9].

4.2.4. Biocompatibilidad

A pesar de todos los beneficios de las propiedades de las AuNPs, la biocompatibilidad con el organismo es un factor a tener en cuenta para poder ser utilizadas en la clínica. La naturaleza de las AuNPs es inerte y hace que sean relativamente biocompatibles. En cambio, una vez se introducen en el organismo generan citotoxicidad debido a su forma, tamaño, composición química superficial y carga superficial.

El tamaño de partícula es el parámetro básico que determina la citotoxicidad. Estudios muestran que AuNPs con tamaño inferior a 2 nm presentan alta citotoxicidad debido a su capacidad para penetrar en el núcleo celular debido a la permeabilidad tumoral. Cuando el tamaño de partícula aumenta hasta 10 nm la citotoxicidad disminuye porque

la capacidad de penetración disminuye. Sin embargo, por encima de 10 nm la citotoxicidad se ve aumentada porque la acumulación en el tumor y en los tejidos sanos es mayor [18]. Por otro lado, estudios confirman que la citotoxicidad de las AuNPs se debe principalmente a la forma de las nanopartículas, siendo las nanoesferas las nanopartículas más seguras [19].

Las AuNPs pueden ser redox activas e inducir la formación intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS), que se relaciona con la toxicidad. Los resultados de este aspecto algunas veces son contradictorios y dependen mayoritariamente de las características de los materiales y moléculas que constituyen las AuNPs [16].

La morfología y su estabilidad coloidal en el medio puede afectar a su fagocitosis por los macrófagos y alterar las funciones fisiológicas de las membranas celulares y orgánulos. La dispersión de las nanopartículas también afecta a la citotoxicidad. Wang *et al.* demostraron que la agregación de las nanopartículas en las células aumenta el tiempo de permanencia e incrementa la generación de ROS que ocasiona daño y alteración de la función celular [20].

Por otro lado, la distribución de las AuNPs dependerá de la dosis administrada, la carga superficial de la nanopartícula y del tejido tumoral. La excreción de las AuNPs dependerá de su tamaño y forma y estudios añaden que las partículas de tamaño comprendido entre 10 y 100 nm ralentizan la activación del proceso de fagocitosis, pero no evitan la filtración renal [16].

4.3. Consideraciones generales de las nanopartículas de oro en el cáncer

En este apartado se presentan algunos de los aspectos de las AuNPs que tienen que ser considerados para que puedan ser utilizadas en el diagnóstico y en el tratamiento del cáncer.

4.3.1. PEGilación

Las AuNPs se administran en solución por vía intravenosa y se distribuyen por el organismo alcanzando el tejido diana. Sin embargo, las proteínas plasmáticas presentes en el medio forman una capa en la superficie de las nanopartículas llamada "corona". Se forman complejos proteína-nanopartícula que afectan a su biodistribución porque se aumenta la fagocitosis por las células del sistema reticuloendotelial, y, por consiguiente,

su eliminación del sistema vascular (Figura 6 A) [10]. Para evitar el reconocimiento por el sistema inmune, las AuNPs se pueden recubrir con un polímero inerte, generalmente polietilenglicol (PEG), mediante un proceso denominado PEGilación. De este modo se enmascara la superficie de la nanopartícula previniendo el reconocimiento por el sistema inmune y prolongando su permanencia y actividad (Figura 6 B) [8].

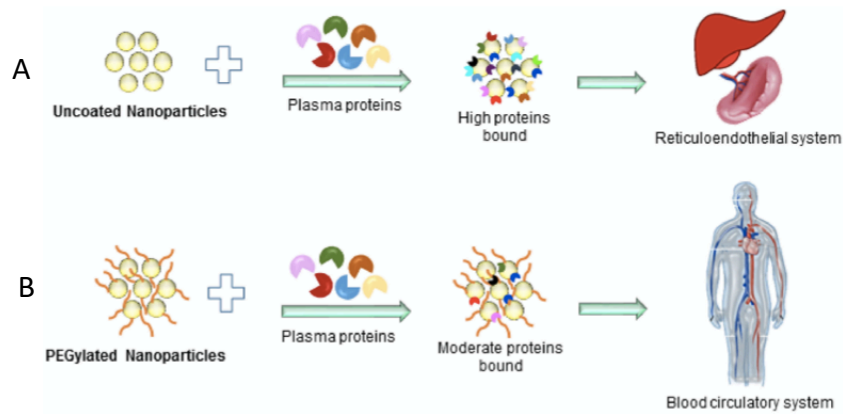


Figura 6. Complejos proteína-nanopartícula y el proceso de PEGilación. Figura modificada de [8].

4.3.2. Efecto de la permeabilidad y retención aumentada (EPR)

En 1986 Matsumura y Maeda informaron que los vasos sanguíneos de la mayoría de los tumores presentan una alta permeabilidad vascular, lo que permite la acumulación de agentes anticancerígenos en el tejido tumoral. A este fenómeno lo llamaron efecto de la permeabilidad y retención aumentada (EPR) [8].

Las AuNPs pueden acceder al tumor y acumularse de forma pasiva gracias a este efecto. Este fenómeno se debe a que la vasculatura del tumor es muy permeable y permite una extravasación mayor de las nanopartículas al tejido tumoral que al tejido sano, como se muestra en figura 7 B. Sin embargo, no todos los tumores poseen una alta permeabilidad vascular y por ello se utiliza la forma de acceso activo. Con este método se conjugan ligandos de biomarcadores específicos del tumor como anticuerpos monoclonales, péptidos y vitaminas en la superficie de las nanopartículas con el fin de interactuar con los receptores expresados en las células tumorales o en el medio alrededor del tumor y acceder por endocitosis (Figura 7 A). El acceso de las AuNPs al tumor es mayor mediante el acceso activo [9].

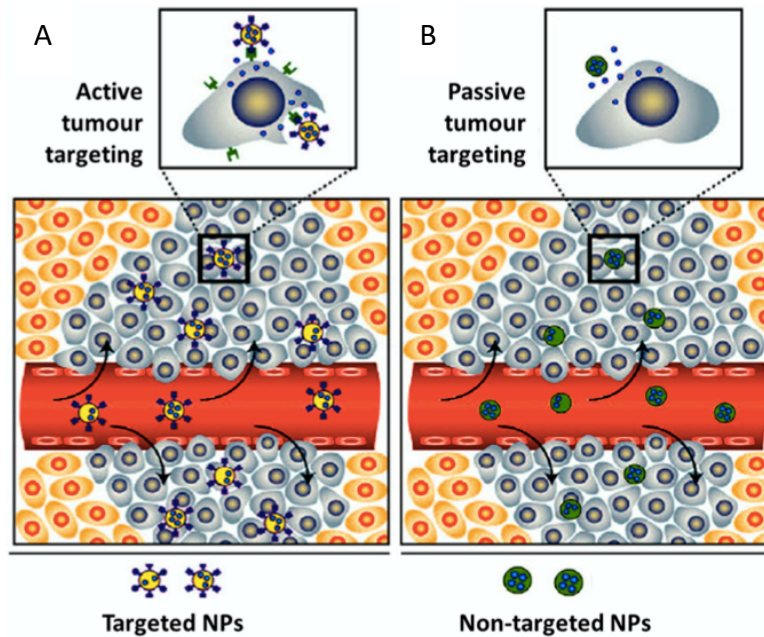


Figura 7. Ilustración de la acumulación de las nanopartículas en el tejido tumoral: A de forma activa y B, de forma pasiva [9].

4.4. Nanopartículas de oro en el diagnóstico del cáncer

El mejor método para mejorar el pronóstico de los tumores es el diagnóstico temprano. Las AuNPs pueden actuar como sensores en el diagnóstico del cáncer debido a su capacidad de interactuar con la luz visible y mejorar la señal emitida. Además, ofrecen ventajas en comparación con los agentes de contraste convencionales debido a su baja toxicidad y propiedades espectroscópicas [16].

A continuación, se exponen las diferentes técnicas que utilizan estas nanopartículas y que están en estudio para el diagnóstico del cáncer.

Los Rayos-X y la tomografía computacional (TC) son dos técnicas convencionales que se utilizan en el diagnóstico y en la determinación de la fase en la que se encuentra el tumor. El mayor problema que se presenta en estas técnicas es la dificultad de distinguir entre el tejido tumoral y el tejido sano por falta de especificidad de los agentes de contraste por las células tumorales. Las propiedades ópticas de las AuNPs mejoran la precisión de las imágenes de estas técnicas 2,5 veces gracias a la absorción de luz externa y al aumento del tiempo de permanencia en el tejido. Es por ello que las AuNPs pueden ser utilizadas como agente de contraste y así se puede utilizar una dosis de

radiación emitida más baja para obtener las imágenes y reducir los posibles efectos adversos [16].

En la figura 8, obtenida de un estudio publicado por Ashton *et al.*, aparece un ejemplo de este efecto en el que se utilizaron diferentes dosis de AuNPs para mejorar el contraste en TC. En la imagen A se muestra el ratón antes de la administración de las AuNPs. En la imagen B se muestra al ratón 6 horas después de haberle administrado AuNPs sin funcionalizar. En la imagen C se muestra al ratón 6 horas después de haberle administrado AuNPs funcionalizadas con el receptor del factor de crecimiento antiepidérmico (EGFR). En las imágenes se observa el tumor con mayor claridad cuando se administran las AuNPs funcionalizadas [16, 21].

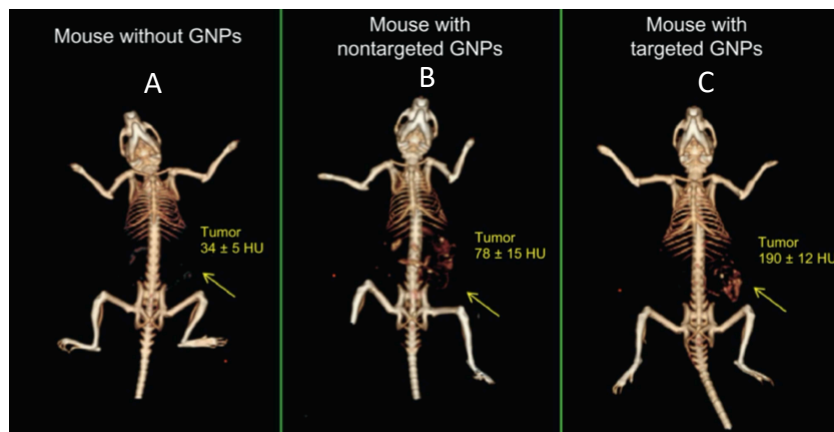


Figura 8. Imágenes por tomografía computacional de rayos X *in vivo* modificadas de [16, 21].

La fluorescencia es un fenómeno común en la naturaleza y se puede utilizar en el diagnóstico del cáncer. El principio de obtención de la imagen por fluorescencia se basa en la relación entre la intensidad de la señal fluorescente emitida por la sustancia fluorescente y la cantidad de sustancia. Normalmente, para obtener imágenes por fluorescencia se administra al paciente sustancias fluorescentes derivadas del yodo, pero el tiempo que permanecen en sangre es inferior a 10 minutos y además presentan poca especificidad por las células tumorales. Las AuNPs pueden ser útiles en el diagnóstico temprano del cáncer gracias a sus propiedades ópticas y acumulación en el tumor [7].

Liu JB *et al.* realizaron un estudio con tumores de ratón marcados con diferentes sustancias para obtener imágenes por fluorescencia (Figura 9). Por un lado, obtuvieron las imágenes por fluorescencia del tumor con AuNPs modificadas con glutatión (GSH)

y, por otro, imágenes del tumor con la molécula fluorescente IRDye 800CW. Los resultados mostraron que las AuNPs como agente fluorescente eran más adecuadas para la detección tumoral que la molécula IRDye 800CW. Además, estas nanopartículas modificadas con GSH mejoran el efecto EPR y se eliminan rápido de los tejidos una vez obtenida la imagen. Este resultado, además confirma la excreción renal de las nanopartículas fluorescentes en el diagnóstico del cáncer [7, 22].

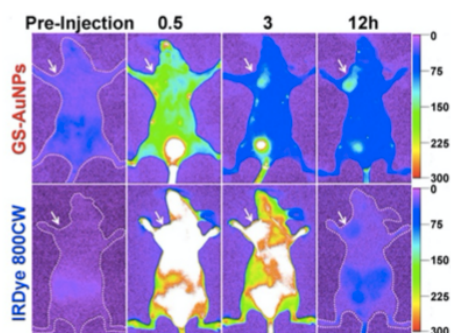


Figura 9. Imágenes obtenidas por fluorescencia de un tumor de ratón inyectado con GSH-AuNPs y IRDye 800CW [7, 22].

También la imagen fotoacústica (PAI) es un nuevo método de imagen biomédica no invasivo y no ionizante que se utiliza en el diagnóstico del cáncer. En este método pulsos de láser no ionizante inciden sobre el tejido biológico haciendo que los agentes de contraste exógenos absorban la energía de la luz y se obtienen imágenes características del tejido. Las AuNPs presentan una absorción elevada, mil veces mayor en comparación con los agentes de contraste comúnmente utilizados rodamina o indocianina verde y es por ello que se han realizado estudios en células cancerígenas animales *in vivo* [7].

4.5. Nanopartículas de oro en el tratamiento del cáncer

La quimioterapia y la radioterapia son dos de los tratamientos más comunes en oncología. Uno de los retos de la quimioterapia es incrementar el tiempo de permanencia y la acumulación de los agentes quimioterapéuticos en las células tumorales, mejorando la eficacia del tratamiento y reduciendo los efectos adversos. En los últimos años se han estudiado las AuNPs como nanotransportadores de fármacos antineoplásicos debido a la capacidad de funcionalización de su superficie. La mayoría de los agentes quimioterápicos se pueden conjugar a la superficie, incluyendo metotrexato, cisplatino, doxorubicina, temozolomida, bortezomib y docetaxel [16]. Un estudio realizado por Steckiewicz *et al.* evaluó el potencial antitumoral de AuNPs con

GSH y conjugó en su superficie los agentes quimioterapéuticos doxorubicina, citarabina y gemcitabina. Se midió la efectividad frente al cáncer de mama, de páncreas y osteosarcoma y demostró que las AuNPs conjugadas con estos fármacos eran más selectivas por las células tumorales que los fármacos administrados solos. Además, permitía administrar una menor cantidad de fármaco y por consecuencia reducir los efectos adversos y el coste económico del tratamiento [23].

El problema que resulta del tratamiento con radioterapia es su efectividad. Esto se debe a que no se daña suficiente el DNA de las células tumorales y su reparación es corta. Las AuNPs se han estudiado para ser utilizadas como radiosensibilizadores en radioterapia ya que pueden acelerar el proceso de ruptura del DNA de las células tumorales cuando los rayos X o gamma inciden sobre el organismo [7].

Por otro lado, se encuentran las terapias que se basan en las propiedades plasmónicas de las AuNPs para inducir daño celular a través del efecto SPR, que son la terapia fototérmica (PTT) y la terapia fotodinámica (PTD).

La PTT se basa en el estrés celular mediado por hipertermia ya que cuando la temperatura de las células se sitúa por encima de los 43 °C se produce un daño celular irreversible. Los efectos de la hipertermia en los procesos intracelulares y extracelulares incluyen cambios en la señal de transducción, desnaturalización de proteínas, ruptura de las membranas celulares, inducción de la apoptosis y reducción de la perfusión y oxigenación tumoral [16, 20]. Las AuNPs, principalmente *nanorods* y *nanostars*, presentan ventajas en la absorción y emisión de NIR (longitud de onda entre 650 y 900 nm), como se explicaba anteriormente. Las AuNPs son capaces de absorber esa luz incidente y transformarla en calor, como se observa en la figura 10. Después de la excitación SPR mediada por la irradiación laser NIR, se forma un gas de electrones caliente alrededor de la nanopartícula que rápidamente se enfría y se produce el intercambio de energía con la red cristalina próxima. La energía se transfiere al medio produciendo calor y causando el daño celular [16].

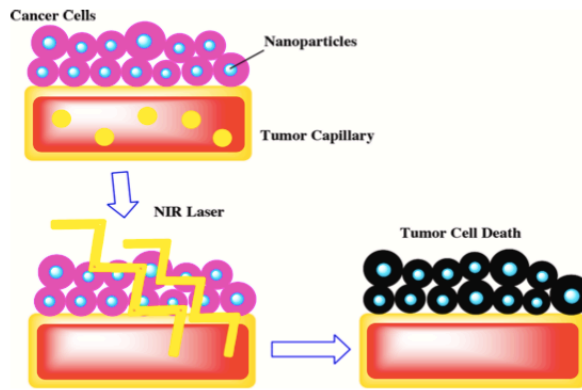


Figura 10. Esquema de la terapia fototérmica utilizando AuNPs [24].

A continuación, en la figura 11, extraída del estudio publicado por Liu Y *et al.*, se muestran imágenes de un ratón con un tumor antes y después del tratamiento PTT con *nanostars* de oro. Se observa la remisión del tumor en el ratón tratado con las AuNPs mientras que el tumor en el ratón tratado con una solución salina como control aumentó de tamaño [25].

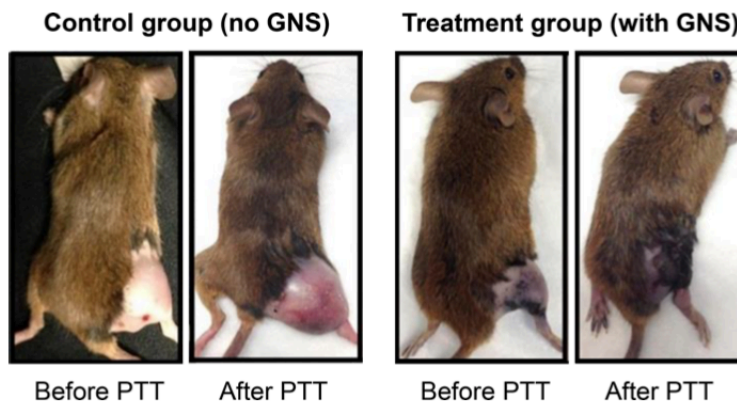


Figura 11. Imágenes de dos ratones antes y después de PTT con *nanostars* de oro (GNS) [25].

La PTD se basa en moléculas fotoactivas (fotosensibilizadores), que se administran por vía intravenosa, en la luz incidente y en el oxígeno de los tejidos [10]. Mediante esta terapia se induce la formación de ROS en las células tumorales, y como consecuencia la muerte celular por apoptosis. En esta técnica no está implicado de forma directa el efecto SPR de las AuNPs, sino que la luz incidente NIR hace que las moléculas fotosensibilizadoras administradas generen ROS en las células, como se observa en la figura 12 [16]. Sin embargo, la mayoría de las moléculas fotosensibilizadoras son hidrófobas e insolubles y no pueden administrarse correctamente. Además, se distribuyen por todo el organismo provocando efectos adversos [7]. Estudios recientes

muestran que estos fotosensibilizadores pueden conjugarse a la superficie de las AuNPs facilitando su liberación en el tumor [10]. La combinación de las AuNPs y los fotosensibilizadores mejoran la producción de oxígeno en las células si se compara con la administración de los fotosensibilizadores en ausencia de las AuNPs [7].

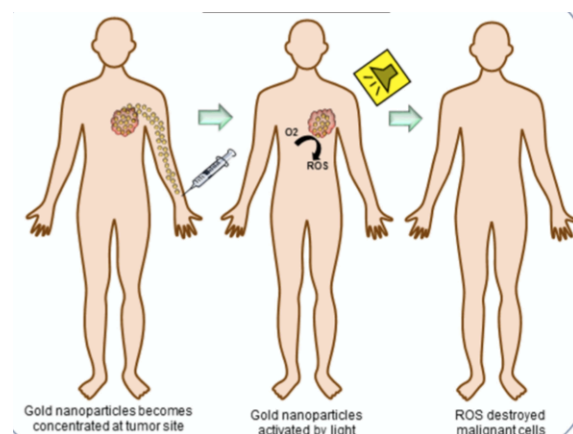


Figura 12. Esquema de la terapia fotodinámica (PDT) [10].

También se han realizado estudios con terapia génica. Es un nuevo tratamiento que comenzó a finales del siglo 20 en el que trata de introducir ácidos nucleicos en las células tumorales para regular su expresión. RNA pequeños de interferencia (*Small interfering RNAs* (siRNA)) han sido estudiados en el laboratorio para su incorporación en las células, pero resulta difícil aplicarlo en la clínica debido a su corta vida media, escasa estabilidad y rápida degradación. Estos siRNA pueden conjugarse a la superficie de las AuNPs, y así estas le aportan protección y pueden alcanzar las células diana [16]. Sin embargo, son necesarios más estudios que expliquen el mecanismo.

4.6. Limitaciones y ventajas de las nanopartículas de oro

La introducción de las AuNPs a la práctica clínica está restringida debido a la toxicidad en las células y tejidos. Esta toxicidad principalmente se debe a la acumulación de AuNPs en los órganos, como puede ser en el hígado. Una acumulación excesiva en este órgano puede causar inflamación y apoptosis del tejido [8]. Sin embargo, se necesita conocer de una forma clara la distribución de las AuNPs en el organismo, su interacción con las células cancerosas y no cancerosas y su mecanismo de excreción para determinar la seguridad y su posible extrapolación a la clínica [16].

Las AuNPs presentan numerosas ventajas por sus características, propiedades y su fácil síntesis y las hacen prometedoras en el campo de la nanobiomedicina. La

manipulación de la estructura y la funcionalización de la superficie juegan un papel clave en el desarrollo de las AuNPs, ya que permite optimizar sus aplicaciones en el diagnóstico y el tratamiento, como se ha mencionado anteriormente [16]. Por otro lado, las propiedades ópticas de las AuNPs hacen posible su utilización como agentes de contraste en imagen por resonancia magnética, por fluorescencia e imagen fotoacústica, entre otros. También pueden alcanzar el tumor y liberar agentes quimioterápicos en quimioterapia, terapia fotodinámica y terapia génica [7].

4.7. Avances recientes en los ensayos clínicos

Debido a esta toxicidad descrita anteriormente la FDA solo ha aprobado varios ensayos clínicos. De hecho, escribiendo en el buscador de la página web Clinical Trials los términos “*cancer*” en el apartado condición o enfermedad y “*gold nanoparticles*” en otros términos aparecen cinco ensayos clínicos, de los cuales dos se dejaron de investigar.

El primer ensayo clínico se realizó en la Universidad de Chicago y se encuentra terminado. El objetivo del estudio fue evaluar la seguridad del fármaco de estudio NU-0129, basado en un ácido nucleico esférico, a través de su administración intravenosa a pacientes con glioblastoma multiforme recurrente o gliosarcoma. El ensayo se llevó a cabo con ocho pacientes El fármaco se funcionalizó a la superficie de una nanopartícula de oro esférica y fue capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y alcanzar el tumor. Fue el primer ensayo humano en fase 1 para determinar la seguridad de este fármaco, pero los resultados siguen siendo objeto de estudio y no han sido publicados por el momento en ninguna revista científica [26].

El segundo ensayo clínico se realizó en el Hospital General de Massachussetts y su objetivo fue identificar nódulos linfoides a través de imagen por resonancia magnética en pacientes con cáncer de tiroides utilizando nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas. Estas nanopartículas no son el objetivo de estudio de este trabajo de fin de grado, por lo que no interesa este ensayo clínico [27].

El tercer ensayo clínico pertenece a la Universidad Médica Anhui en China. Los investigadores estudiaron la viabilidad del análisis del aliento para identificar enfermedades gástricas como el cáncer gástrico. Se obtuvieron dos muestras de aliento y de saliva por cada paciente y se analizaron utilizando una serie de nanosensores químicos basados en nanopartículas de oro funcionalizadas y nanotubos de carbono. Se trata de un estudio observacional de cohortes y prospectivo en el que participaron

1000 voluntarios. Primero se llevó a cabo un estudio piloto con 160 pacientes oncológicos, seguido de un ensayo clínico a gran escala para confirmar los resultados preliminares. El ensayo clínico no explica con claridad el objetivo de las nanopartículas de oro. El estudio se completó en enero de 2020 y los resultados no fueron publicados en ClinicalTrials [28].

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVA DE FUTURO.

Nuevas estrategias están en desarrollo para tratar la enfermedad del cáncer debido a su alta tasa de incidencia. Tras una búsqueda de información cabe destacar que la mayoría de estudios concluyentes se han realizado para el diagnóstico de la enfermedad. Esto se puede explicar por la menor complejidad del diagnóstico en comparación con el tratamiento de la enfermedad.

En cuanto al tratamiento de la enfermedad resultan prometedoras las terapias plasmónicas ya que son métodos novedosos que aprovechan las propiedades de estas AuNPs, pero actualmente no se encuentran en la clínica.

A pesar de todos los avances, se necesitan más estudios que describan con mayor profundidad las características de las AuNPs, así como la naturaleza del complejo proteína-nanopartícula que afecta a la distribución de las AuNPs y a su eliminación del organismo por el sistema reticuloendotelial. También es importante conocer el grado de internalización de las AuNPs en las células, la respuesta inmunológica y la excreción del cuerpo humano.

BIBLIOGRAFÍA.

- [1] Organización Mundial de la Salud. Cáncer. [Internet]. [Consultado 15 Mar 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/cancer>
- [2] Sociedad Española de Oncología Médica. Las cifras de cáncer en España en 2020. [Internet] 2020. [Consultado 15 Mar 2021] Disponible en: [https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras del cancer 2020.pdf](https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras_del_cancer_2020.pdf)
- [3] AECC. Oliver Wyman. El impacto económico y social del cáncer en España. [Internet] 2020. [Consultado 16 Mar 2021] Disponible en: <https://www.aecc.es/sites/default/files/content-file/Informe-Los-costes-cancer.pdf>
- [4] AECC. Diagnóstico del cáncer. [Internet]. [Consultado 16 Mar 2021]. Disponible en: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/que-es-cancer/diagnostico-cancer>
- [5] AECC. Tratamiento del cáncer. [Internet]. [Consultado 16 Mar 2021]. Disponible en: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tratamientos/eleccion-tratamiento>
- [6] AECC. Efectos secundarios del cáncer. [Internet]. [Consultado 5 Abr 2021]. Disponible en: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tratamientos/efectos-secundarios/por-que-se-producen-efectos-secundarios-tratamiento>
- [7] Fan M, Han Y, Gao S, Yan H, Cao L, Li Z, et al. Ultrasmall gold nanoparticles in cancer diagnosis and therapy. *Theranostics*. 2020 Mar 31;10(11):4944-4957.
- [8] Gerosa C, Crisponi G, Nurchi VM, Saba L, Cappai R, Cau F, et al. Gold Nanoparticles: A New Golden Era in Oncology? *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020 Ago 12;13(8):192.
- [9] Silva F, Cabral Campello MP, Paulo A. Radiolabeled Gold Nanoparticles for Imaging and Therapy of Cancer. *Materials (Basel)*. 2020 Dic 22;14(1):4.
- [10] Singh P, Pandit S, Mokkalapati VRSS, Garg A, Ravikumar V, Mijakovic I. Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer. *Int J Mol Sci*. 2018 Jul 6;19(7):1979.
- [11] Turkavich, J.; Stevenson, P.C.; Hillier, J. A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. *Discuss. Faraday Soc.* 1951, 11, 55.
- [12] Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D.J.; Whyman, R. Synthesis of thiol-derivatized gold nanoparticles in a 2-phase liquid-liquid system. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1994, 801–802.
- [13] Lee KX, Shameli K, Yew YP, Teow SY, Jahangirian H, Rafiee-Moghaddam R, et al. Recent Developments in the Facile Bio-Synthesis of Gold Nanoparticles (AuNPs)

and Their Biomedical Applications. *Int J Nanomedicine*. 2020 Jan 16;15:275-300.

[14] Guo J, Rahme K, He Y, Li LL, Holmes JD, O'Driscoll CM. Gold nanoparticles enlighten the future of cancer theranostics. *Int J Nanomedicine*. 2017 Ago 22;12:6131-6152.

[15] Ashikbayeva Z, Tosi D, Balmassov D, Schena E, Saccomandi P, Inglezakis V. Application of Nanoparticles and Nanomaterials in Thermal Ablation Therapy of Cancer. *Nanomaterials (Basel)*. 2019 Ago 24;9(9):1195.

[16] Guinart A, Perry HL, Wilton-Ely JDET, Tetley TD. Gold nanomaterials in the management of lung cancer. *Emerg Top Life Sci*. 2020 Dic 3;4(6):627-43.

[17] Tian L, Lu L, Qiao Y, Ravi S, Salatan F, Melancon MP. Stimuli-Responsive Gold Nanoparticles for Cancer Diagnosis and Therapy. *J Funct Biomater*. 2016 Jul 21;7(3):19.

[18] Feng Q, Shen Y, Fu Y, Muroski ME, Zhang P, Wang Q, et al. Self-Assembly of Gold Nanoparticles Shows Microenvironment-Mediated Dynamic Switching and Enhanced Brain Tumor Targeting. *Theranostics*. 2017 Abr 10;7(7):1875-1889.

[19] Steckiewicz KP, Barcinska E, Malankowska A, Zauszkiewicz-Pawlak A, Nowaczyk G, Zaleska-Medynska A, et al. Impact of gold nanoparticles shape on their cytotoxicity against human osteoblast and

osteosarcoma in in vitro model. Evaluation of the safety of use and anti-cancer potential. *J Mater Sci Mater Med*. 2019 Feb 12;30(2):22.

[20] Peng J, Liang X. Progress in research on gold nanoparticles in cancer management. *Medicine (Baltimore)*. 2019 May; 98(18):e15311.

[21] Ashton JR, West JL, Badea CT. In vivo small animal micro-CT using nanoparticle contrast agents. *Front Pharmacol*. 2015 Nov 4;6:256.

[22] Liu J, Yu M, Zhou C, Yang S, Ning X, Zheng J. Passive tumor targeting of renal-clearable luminescent gold nanoparticles: long tumor retention and fast normal tissue clearance. *J Am Chem Soc*. 2013 Abr 3;135(13):4978-81.

[23] Steckiewicz KP, Barcinska E, Sobczak K, Tomczyk E, Wojcik M, Inkielewicz-Stepniak I. Assessment of Anti-Tumor potential and safety of application of Glutathione stabilized Gold Nanoparticles conjugated with Chemotherapeutics. *Int J Med Sci*. 2020 Mar 12;17(6):824-833.

[24] Kumar S, Mongia A, Gulati S, Singh P, Diwan A, Shukla S. Emerging theranostic gold nanostructures to combat cancer: Novel probes for Combinatorial Immunotherapy and Photothermal Therapy. *Cancer Treat Res Commun*. 2020;25:100258.

[25] Liu Y, Ashton JR, Moding EJ, Yuan H, Register JK, Fales AM, et al. A Plasmonic

Gold Nanostar Theranostic Probe for In Vivo Tumor Imaging and Photothermal Therapy. *Theranostics*. 2015 May 23;5(9):946-60.

[26] ClinicalTrials. NU-0129 in Treating Patients With Recurrent Glioblastoma or Gliosarcoma Undergoing Surgery. [Internet]. [Consultado 5 May 2021]. Disponible en: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03020017?term=gold+nanoparticles&cond=Cancer&draw=2&rank=2>

[27] ClinicalTrials. Pre-Operative Nodal Staging of Thyroid Cancer Using USPIO

MRI: Preliminary Study. [Internet]. [Consultado 5 May 2021]. Disponible en: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01927887?term=gold+nanoparticles&cond=Cancer&draw=2&rank=3>

[28] ClinicalTrials. Diagnosis of Gastric Lesions From Exhaled Breath and Saliva. [Internet]. [Consultado 5 May 2021]. Disponible en: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01420588?term=gold+nanoparticles&cond=Cancer&draw=2&rank=4>