

Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas magnéticas

Milagros Ramos¹ y Claudia Castillo²

Resumen

Los nanomateriales han adquirido recientemente un gran interés debido a la gran variedad de aplicaciones que pueden llegar a tener en el ámbito de la biomedicina. La utilización de nanomateriales en biomedicina es un área multidisciplinaria que abarca especialidades aparentemente muy alejadas entre sí que pueden ir desde la física, ingeniería o ciencias de los materiales hasta la medicina, biología y química. Los nuevos nanomateriales poseen múltiples aplicaciones relacionadas tanto con el diagnóstico como con la terapia de enfermedades muy variadas.

Dentro de los nanomateriales utilizados en biomedicina, concretamente las nanopartículas magnéticas (NPMs) muestran un interés especial por las características físicas que poseen. Su comportamiento magnético y su pequeño tamaño, les permite interactuar a niveles celulares, subcelulares e incluso moleculares, haciendo de ellas un nanomaterial con gran utilidad para ser empleado como agente de contraste en imagen de resonancia magnética (RM) y por tanto ser de gran utilidad en el diagnóstico de diferentes patologías. Otra de las aplicaciones potenciales de las NPMs en biomedicina se encuentra en el ámbito de la terapia, por ejemplo, la destrucción de tumores mediante hipertermia al aprovecharse la capacidad que poseen las partículas para producir calor en respuesta a la aplicación de campos magnéticos externos. El núcleo magnético de las NPMs también permite que puedan ser guiadas y focalizadas hacia zonas de interés específicas. Una vez situadas en la zona de interés, las NPMs son capaces de liberar de forma localizada fármacos o drogas terapéuticas con los que previamente han sido cargadas, evitando los potenciales efectos secundarios que puedan tener estos fármacos en el organismo, al ser administrados de forma generalizada. Para conseguir la especificidad en su acción, las NPMs deben ser biofuncionalizadas utilizando para ello los polímeros que forman parte de su envoltura externa. Mediante los grupos funcionales de la envoltura polimérica se pueden unir a las NPMs diferentes moléculas biológicas que aportan especificidad para reconocer dianas orgánicas concretas.

En este artículo se revisan los últimos avances realizados en el campo de la biomedicina en relación con las NPMs en el ámbito del diagnóstico, tanto *in vitro* como *in vivo*, y de la terapia. También se analizarán los últimos avances relativos a la utilización de las NPMs en terapias de sustitución celular en enfermedades neurodegenerativas.

Palabras clave: nanopartículas magnéticas, aplicaciones biomédicas, diagnóstico, terapia, MRI, liberación de fármacos, hipertermia, toxicidad.

¹Profesora-Investigadora en la rama de Biología Molecular, Universidad Politécnica de Madrid. mramos@cbm.uam.es

²Profesora-Investigadora en la rama de Ciencia Biomédicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. claudia@gmail.com

Summary

The next review comprehends the latest developments in Biomedicine and its work with “Magnetic Nanoparticles” (MNPs) to diagnose and be used for therapy *in vitro and within the living*. Although, we look further about the latest in MNPs developments used for therapies for cellular substitution of neurodegenerative diseases.

Nowadays there's a big interest about nanomaterials, due to a wide variety of apps in Biomedics, whereas they can be used to diagnose a disease up to treat it. They can be applied in so many different fields of study, from: physics, engineering or science of materials, to medicine, biology or chemistry. Nanomaterials used in Biomedics, specially magnetic nanoparticles (MNPs), stands out for their physical characteristics they possess. Their magnetic behavior and tiny size, facilitates to work on cellular and subcellular levels, even up to molecular levels. That makes it a great nanomaterial, capable of working as a contrasting agent for magnetic resonance imaging (MRI); which is of great utility to diagnose different pathologies. Also, they can be used in therapy (e.g. in tumor removal) using the hyperthermia; thanks to the ease of particles to heat as a reaction of applying outer magnetic fields onto them. The magnetic core on MNPs allows them to be guided and located into certain areas. Once they are located on the spot of interest, the MNPs are capable of release therapeutic drugs –previously loaded within the MNPs- without compromising the patient's health with any secondary effects.

In order to make MNPs capable to do specific tasks, their outer layer is composed of polymers, which allow the MNPs to bond with biologic molecules, thus it can be recognized by other enzymes structures.

Keywords: magnetic nanoparticles, biomedic apps, diagnosis, therapy, magnetic resonance imaging (MRI), drugs delivery, hyperthermia, toxicity.

Introducción

Actualmente, las nanopartículas magnéticas (NPMs) tienen una gran variedad de aplicaciones en el campo de la biomedicina, fundamentalmente en las áreas del diagnóstico y la terapia. Las NPMs, en su forma más sencilla, están compuestas por un núcleo magnético y una envoltura polimérica. Su tamaño final, que se sitúa en el rango nanométrico, se conoce como tamaño hidrodinámico y es la suma del tamaño del núcleo magnético más la capa de polímero que las recubre. Las NPMs más utilizadas en

biomedicina oscilan entre 5 y 100 nm de diámetro.

El interés de las NPMs deriva fundamentalmente de las propiedades físicas de su núcleo magnético, de su alta relación superficie/tamaño y de la capacidad que poseen para unir moléculas de interés biológico a su superficie. Además, su pequeño tamaño posibilita su interacción con estructuras celulares, ofreciendo una herramienta de trabajo útil para manipular diferentes funciones e interactuar con estructuras subcelulares y moleculares. Por

todo ello, las NPMs están siendo ampliamente investigadas para ser utilizadas como agentes de contraste en imagen de resonancia magnética (RM),³ como agentes terapéuticos encargados de transportar drogas farmacológicas a zonas específicas del organismo⁴ o para producir muerte celular mediante hipertermia en respuesta a la aplicación de un campo magnético externo.⁵ Por tanto, las NPMs poseen un amplio espectro de aplicaciones tanto en el campo del diagnóstico como en el tratamiento de patologías tan diferentes como cáncer, enfermedades cardiovasculares y enfermedades neurodegenerativas.⁶

En su forma más sencilla, una nanoplataforma biomédica está formada por una nanopartícula con núcleo magnético de tamaño variable, rodeada de una cobertura polimérica biocompatible que le proporciona estabilidad en condiciones fisiológicas. Esta cobertura polimérica suministra los grupos funcionales necesarios para que se puedan unir a ella diferentes moléculas biológicas como anticuerpos, proteínas, péptidos o ácidos nucleicos que van a dotar a la NPM de una alta especificidad para reconocer dianas biológicas determinadas.⁷

Las NPMs más utilizadas e investigadas hasta el momento son las partículas con núcleo magnético formado por óxido de hierro, debido fundamentalmente a sus propiedades magnéticas y a su sencillo proceso de síntesis. Típicamente estas NPs están formadas por magnetita (Fe_3O_4) o maghemita (Fe_2O_3) nanocristalinas aisladas por una cubierta polimérica. Además de por sus propiedades magnéticas, la utilidad de las NPs de óxido de hierro viene dada por su alta biocompatibilidad y fácil biodegradación en el organismo. Después de ser metabolizadas, los iones de hierro de estas partículas son añadidos a los depósitos de hierro del organismo y eventualmente son incorporados por los eritrocitos como parte de la hemoglobina.⁸

En la actualidad se están investigando nuevos metales como componentes del núcleo magnético de las NPs, que posean mayores momentos magnéticos tales como núcleos de óxido de hierro dopados con otros metales como Mn, Co o Ni.⁹ De esta forma se intenta mejorar la señal que se obtiene en la imagen de RM al utilizar NPMs como agentes de contraste, pero antes de pasar a ser utilizados en clínica, se debe probar que estas partículas carecen de efectos citotóxicos y comprobar que son absolutamente biocompatibles.

³ Corot *et al.*, 2006

⁴ Dobson, 2006.

⁵ Jordan *et al.*, 1999.

⁶ Pankhurst, 2003.

⁷ Huang *et al.*, 2009.

⁸ Weissleder *et al.*, 1989.

⁹ Lee *et al.*, 2007.

En ausencia de recubrimientos, las NPMs muestran superficies hidrofóbicas que facilitan la formación de aglomerados entre ellas dando lugar a agregados de gran tamaño.¹⁰ Aunque tengan propiedades superparamagnéticas, las partículas tienden a agregarse, especialmente en fluidos biológicos, debido a la presencia de sales y proteínas plasmáticas. Estos agregados de NPMs son incompatibles con su utilización en aplicaciones biomédicas, debido a la alta posibilidad de que se produzca una obstrucción de pequeños capilares. La cubierta polimérica proporciona una barrera física que previene la aglomeración de las partículas.

Utilizando unos recubrimientos de superficie adecuados, las NPMs pueden dispersarse fácilmente en soluciones fisiológicas formando suspensiones homogéneas llamadas ferrofluidos. Estas suspensiones pueden interactuar con un campo magnético externo y ser posicionadas en un área específica, facilitando la imagen de resonancia magnética para diagnóstico médico de diferentes patologías.

Las NPMs recubiertas de polímeros biodegradables muestran una menor toxicidad y tienen una mayor biocompatibilidad que las NPMs inorgánicas sin recubrir con polímeros. Los polímeros más utilizados como

¹⁰ Lu *et al.*, 2007.

recubrimientos de NPMs son el polisacárido dextrano, utilizado por su alta biocompatibilidad y alta afinidad por el hierro¹¹ y el polietilenglicol (PEG), con gran capacidad antiadherente que reduce la captación de las partículas por los macrófagos, aumentando su tiempo de circulación en sangre.¹²

Otros polímeros utilizados de forma habitual como recubrimientos para NPMs son el polivinilalcohol (PVA)¹³ con buenas propiedades emulsionantes y el quitosano que proporciona una envoltura biocompatible, catiónica e hidrofílica.¹⁴ Materiales no poliméricos como oro y sílice, también son utilizados para recubrir NPs magnéticas. El oro protege los núcleos de óxido de hierro de la oxidación proporcionando además propiedades ópticas interesantes, biocompatibilidad y una superficie con buena capacidad para ser biofuncionalizada.¹⁵ El sílice es un material que forma una cubierta de diferentes grosores alrededor de los núcleos magnéticos de las NPMs. Debido a su carga negativa, estas NPMs son dispersables y muy estables en soluciones acuosas.¹⁶

¹¹ Weissleder *et al.*, 1990.

¹² Storm *et al.*, 1995.

¹³ Gupta *et al.*, 2007.

¹⁴ Lee *et al.*, 2011.

¹⁵ Daniel y Astruc, 2004.

¹⁶ Lu y *et al.*, 2007.

Un parámetro a tener en consideración para que las NPMs sean de interés desde el punto de vista clínico, es su tiempo de circulación en sangre tras ser inyectadas en el organismo. Este tiempo debe ser suficientemente largo para permitir que alcancen sus dianas finales. Una forma de aumentar su biodisponibilidad es evitando que sean eliminadas por el sistema retículoendotelial (RES), que incluye macrófagos del hígado, del bazo y de los nódulos linfáticos¹⁷. El RES o sistema monocito-macrófago está formado por células encargadas de reconocer y eliminar todas las partículas extrañas que entran en el organismo y por tanto, también provoca la eliminación de las NPMs, haciendo que su detección no sea muy eficaz en el resto del organismo. La eliminación rápida de la circulación sanguínea de las NPMs puede reducir su eficacia biomédica. Esta eliminación se produce principalmente por la capacidad de las proteínas plasmáticas para unirse a las NPMs, lo que las hace fácilmente reconocibles por los macrófagos del RES, produciendo su eliminación. Este fenómeno se conoce como opsonización y provoca que las NPMs sean eliminadas de la circulación sin haber alcanzado sus dianas finales.

Las propiedades fisicoquímicas de las NPMs como son tamaño, morfología, carga y especialmente la química de su superficie, van a determinar el destino final de las

partículas en el organismo vivo. El tamaño de las NPMs debe ser suficientemente pequeño para evitar su captura por el bazo, (menor de 200nm),¹⁸ pero suficientemente grande para evadir la filtración directa por los riñones (mayor de 5nm).¹⁹ Por tanto, las NPMs que oscilan entre 10 y 100nm poseen el tamaño más adecuado para lograr una distribución óptima *in vivo*.

La forma final de los nanomateriales también está siendo objeto de estudio ya que se ha comprobado que se puede influir en la función que ejercen las NPMs en los sistemas biológicos controlando su forma. Se ha comprobado que se puede aumentar el tiempo de circulación en sangre hasta 48h cuando se utilizan NPs alargadas o “*nanoworms*”.²⁰

La carga superficial de las NPMs tiene una gran influencia en el tiempo de circulación sanguíneo. Los recubrimientos fabricados con polímeros cargados positivamente tienden a unirse de forma inespecífica a las membranas de las células, mientras que NPs recubiertas de polímeros con carga negativa o sin carga poseen unos tiempos de circulación en sangre mucho mayores. Variando la carga de la superficie de las NPs se puede influir en el tiempo de circulación, el cual puede llegar a aumentar desde 1 min hasta 3h.²¹

¹⁷ Anzai *et al.*, 2003.

¹⁸ Chen y Weiss, 1973.

¹⁹ Choi *et al.*, 2007.

²⁰ Park, 2008.

²¹ Chouly *et al.*, 1996.

El uso de polímeros como fuente de grupos funcionales es un método eficaz para diseñar nanomateriales con amplias aplicaciones biomédicas. Además de aportar carácter hidrofílico, monodispersión y biocompatibilidad, con el polímero se consigue la capacidad de obtener una funcionalización superficial de las NPMs.

Tras su inyección intravenosa y cuando se consiguen unos tiempos de circulación en sangre largos, las NPMs tienden a acumularse en los lugares donde existe una alteración de la vasculatura del tejido, esto ocurre en ciertas patologías concretas como los tumores. La acumulación de las NPs en zonas tumorales es debida al efecto denominado de permeabilidad y retención aumentada que poseen los tejidos tumorales o efecto EPR (por sus siglas en inglés, *enhanced permeation and retention effect*).²² Este hecho se origina debido a que los capilares en los tejidos tumorales son creados rápidamente y en una gran medida son capilares fenestrados, lo que indica que permiten el goteo de moléculas de mayor tamaño de lo normal al tejido tumoral adyacente. Este fenómeno, unido al hecho de que en el tejido tumoral existe un sistema de drenaje linfático defectuoso, provoca la acumulación de NPMs, de tamaños en el rango de 10 a 100nm, en las zonas tumorales. La acumulación de NPMs en tumores por el

efecto EPR, se utiliza para realizar tareas de diagnóstico al facilitarse la detección de masas tumorales mediante imagen de RM, utilizando las NPMs como agentes de contraste. La acumulación inespecífica de NPs en las zonas tumorales también se usa con fines terapéuticos. Las NPs se pueden utilizar como vehículos para transportar fármacos o agentes citotóxicos a las zonas tumorales, así como para el tratamiento de tumores mediante técnicas de hipertermia.

Para conseguir un buen rendimiento de las NPMs en diagnóstico y terapia, hay que lograr una unión más específica a determinadas dianas con interés biológico. Para ello es necesario realizar la funcionalización de la superficie de las NPMs con diferentes biomoléculas como enzimas, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, anticuerpos o aptámeros, que las doten de especificidad. La alta relación superficie/volumen y la buena dispersión de las NPMs, hace que se pueda conseguir la unión de un gran número de ligandos biológicos por partícula. La biofuncionalización es el proceso de conjugación química de los grupos funcionales de las NPMs con moléculas biológicas dotándolas de una alta especificidad. Esta propiedad se consigue utilizando los polímeros de su cubierta como fuente de grupos funcionales. El tipo de polímero que recubre las NPMs permite unir

²² Maeda *et al.*, 2000.

diferentes moléculas biológicas utilizando reacciones químicas adecuadas a cada tipo de grupo funcional.²³

Por tanto, los trabajos que se están llevando a cabo en la actualidad consisten en la generación de NPMs que se utilicen como agentes de contraste que posean coberturas y ligandos funcionales que impidan su rápida inactivación por el sistema reticuloendotelial y que les otorguen especificidad para dirigirse a los tejidos diana.²⁴

Aplicaciones biológicas de las NPMs biofuncionalizadas

Uno de los mayores retos en biomedicina en la actualidad es detectar o diagnosticar las enfermedades en su fase más inicial, antes de que ocurran lesiones irreparables. Esto hace posible la aplicación del tratamiento en el lugar y tiempo adecuados utilizando la mínima dosis posible de fármacos para evitar posibles efectos secundarios.

El objetivo final de la biofuncionalización de NPMs es lograr su acumulación en zonas específicas del organismo que son reconocidas por los ligandos biológicos unidos a ellas. Estos ligandos reconocen moléculas de afinidad expresadas exclusivamente o sobre-expresadas en un tipo

determinado de células. De esta forma se puede conseguir que interacciones receptor-ligando o antígeno-anticuerpo sean de utilidad para marcar magnéticamente ciertos tipos de células, como por ejemplo células tumorales.²⁵

Las NPMs como agentes de diagnóstico

Diagnóstico *in vivo*. Agentes de contraste para RMI

La imagen de RM es una de las técnicas más utilizadas en la actualidad para realizar diagnóstico de forma no invasiva.²⁶ Los agentes de contraste para imagen de RM permiten una mejor interpretación de las imágenes obtenidas al aumentar las diferencias entre tejidos normales y tejidos patológicos, aumentando (paramagnéticos) o disminuyendo (superparamagnéticos) la intensidad de la señal subsiguiente al acortamiento de los tiempos de relajación de los protones en los tejidos. Los avances que se están realizando en el campo del diagnóstico utilizando nuevos agentes de contraste basados en nanopartículas pueden llegar a ser de gran utilidad en el diagnóstico por imagen utilizando RM debido a que las NPMs producen un alto contraste en estas imágenes.²⁷ Las NPMs pueden ser utilizadas

²³ McCarthy *et al.*, 2007.

²⁴ Sun *et al.*, 2008.

²⁵ Huh *et al.*, 2005.

²⁶ Mitchell y Cohen, 2004.

²⁷ Burtea *et al.*, 2010.

como agentes de contraste para la detección de enfermedades como cáncer, arterioesclerosis y diferentes enfermedades inflamatorias.²⁸

En un principio las NPMs se han utilizado como agentes de contraste inespecíficos para diagnosticar tumores sólidos. Debido al efecto EPR, descrito anteriormente, las NPMs son capaces de detectar lesiones de pequeño tamaño en diferentes tipos de tumores.²⁹ Sin embargo, en la actualidad las NPMs son capaces de unirse selectivamente a moléculas específicas presentes en células tumorales o en la vascularización tumoral, debido a su funcionalización con ligandos de afinidad. Estos ligandos están basados en anticuerpos o aptámeros que reconocen su diana de forma específica.³⁰

Las NPMs se han funcionalizado con una gran variedad de moléculas como integrinas,³¹ el factor de crecimiento epidérmico (EGF),³² la hereceptina, un anticuerpo que se une de forma específica al marcador HER2/neu que está sobreexpresado en la superficie de células de cáncer de mama y de ovario³³ y con antígeno carcinoembrionario (CEA).³⁴ Todas estas

moléculas están dirigidas a reconocer dianas concretas para lograr la detección activa de tumores o de su vascularización, mediante imagen de RM.

Actualmente, también se están sintetizando nuevas NPMs para realizar el diagnóstico de enfermedades inflamatorias, con una futura aplicación en enfermedades tan comunes como aterosclerosis, esclerosis múltiple o artritis reumatoide, en las que los macrófagos juegan un papel fundamental. Para detectar estas enfermedades mediante imagen de RM se aprovecha la avidéz que poseen los macrófagos por las NPMs.³⁵ Por tanto, la fagocitosis de NPMs por los macrófagos actúa como un potente marcador de zonas de inflamación perfecto para visualizar placas de aterosclerosis mediante imagen de RM.³⁶

Otra aplicación de las NPs funcionalizadas es su capacidad para reconocer y capturar células tumorales circulantes por el torrente sanguíneo. Las NPMs, funcionalizadas con moléculas específicas para reconocer un receptor sobreexpresado en células tumorales, se unen a las células diana, quedando marcadas magnéticamente por las NPMs lo que facilita su captura utilizando imanes. Esta técnica también posibilita la concentración de células tumorales a partir de un gran volumen de sangre. Por tanto, se amplían los límites de

²⁸ Gossuin *et al.*, 2009.

²⁹ Jun *et al.*, 2005.

³⁰ McCarthy y Weissleder, 2008.

³¹ Akers *et al.*, 2010.

³² Aaron *et al.*, (2006).

³³ Lee *et al.*, 2007.

³⁴ Li *et al.*, 2010.

³⁵ Chellat *et al.*, 2005.

³⁶ von Zur Muhlen *et al.*, 2007.

detección de células tumorales y aumenta la posibilidad de realizar un diagnóstico de certeza temprano.³⁷

Diagnóstico *in vitro*

Las NPMs también pueden ser utilizadas como herramientas de diagnóstico en ensayos realizados *in vitro*. Entre estos ensayos se pueden destacar los resultados obtenidos al desarrollar métodos ultrasensibles para detectar proteínas de interés, presentes a muy bajas concentraciones en fluidos biológicos. La utilización de NPMs funcionalizadas con anticuerpos que reconocen dichas proteínas, permite su concentración a partir de grandes volúmenes de muestras biológicas, como un paso previo a su detección mediante métodos convencionales, utilizando por ejemplo, técnicas de ELISA. Esta estrategia incrementa la sensibilidad del ensayo en varios niveles de magnitud. Este método se utiliza para detectar ciertos antígenos tumorales en sangre como el antígeno específico tumoral de próstata (PSA)³⁸ o para medir la concentración de biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer presentes en el líquido cefalorraquídeo.³⁹ De esta forma, las NPMs pueden ser utilizadas como herramientas para diagnosticar enfermedades, al detectar proteínas que sirven como

biomarcadores de diferentes patologías y que debido a su baja concentración (<1pM) en los fluidos biológicos, no son detectables manejando otros métodos convencionales.

La misma estrategia se puede utilizar en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, para detectar bajas concentraciones de bacterias en sangre. Las concentraciones bajas de bacterias son difíciles de revelar y normalmente requieren largos tiempos de inducción. Mediante NPMs multifuncionales, conjugadas con fluoróforos y también con vancomicina, la cual forma fuertes interacciones con los residuos de alanina presentes en la superficie bacteriana, se pueden capturar y posteriormente detectar por microscopia de fluorescencia diferentes tipos de bacterias Gram-positivas, presentes en la sangre en concentraciones excepcionalmente bajas.⁴⁰ Con este procedimiento se consigue una detección rápida, sensible y a muy bajo coste de un mínimo número de bacterias en sangre.

Las NPMs como agentes terapéuticos

Si a la propiedad que tienen las NPMs de dirigirse a células específicas haciendo posible su detección mediante RM, unimos la capacidad que tienen para actuar como agentes terapéuticos, transportando fármacos

³⁷ Galanzha *et al.*, 2009.

³⁸ Nam *et al.*, 2003.

³⁹ Georganopoulou *et al.*, 2005.

⁴⁰ Gu *et al.*, 2003.

o produciendo incrementos de temperatura, obtenemos unos agentes multifuncionales de gran utilidad en diagnóstico y terapia de diferentes enfermedades.

Liberación de fármacos

Una aplicación biomédica muy común de las NPMs, es su utilización como transportadores de fármacos para su liberación en sitios concretos del organismo. La posibilidad de utilizar atracción magnética externa o la funcionalización de las NPMs con moléculas que reconocen dianas sobre las que actuar, hace que sea posible el guiado de las NPMs a las zonas de interés, donde debe producirse la liberación del fármaco. Esta función de liberación focalizada de drogas terapéuticas, conlleva la reducción de la dosis del fármaco y la desaparición de efectos secundarios no deseados sobre otras células o tejidos sanos.

El principio básico para que se produzca la liberación controlada de fármacos en tumores, usando NPMs inyectadas intravenosamente, es que las NPs reconozcan algún receptor presente en la membrana de la célula tumoral, se unan a él y difundan al interior de la célula. Una vez dentro de la célula la NP libera la droga de forma precisa en el lugar donde realmente se necesita. Para que la carga farmacológica que lleva la partícula sea capaz de actuar en el interior de

la célula, lo primero que tiene que ocurrir es que las NPMs sean internalizadas por las células diana sobre las que tienen que actuar. Generalmente las partículas de tamaños entre 50 y 100nm, recubiertas de los polímeros adecuados, son internalizadas eficazmente por numerosos tipos celulares. Una vez en el interior de la célula las partículas deben liberar el agente terapéutico antes de pasar a los compartimentos lisosomales donde su carga biológica puede ser inactivada.⁴¹

En la actualidad se están desarrollando nuevos nanosistemas que están programados para alterar su estructura y propiedades durante el proceso de liberación de la droga. La alteración de la estructura se consigue por la incorporación a la nanopartícula de sensores moleculares que son capaces de responder a diferentes estímulos químicos o biológicos como cambios en el pH, cambios en el potencial redox o actividades enzimáticas que producen la liberación de su contenido farmacológico.⁴² Además, mediante fuerzas físicas como campos magnéticos o eléctricos, ultrasonidos, hipertermia o luz se puede conseguir dirigir y desencadenar la liberación del fármaco de las partículas.⁴⁰

Actualmente existen alrededor de 150 productos farmacológicos basados en agentes nanométricos, algunos de ellos ya aprobados

⁴¹ Zhang *et al.*, 2002.

⁴² Jain, 2010.

clínicamente y otros muchos en diferentes fases de desarrollo más o menos avanzadas⁴³. Todos estos agentes terapéuticos nanoparticulados ayudan a solucionar el problema de la falta de solubilidad del agente terapéutico, que es uno de los factores esenciales para que la droga sea efectiva y alcance su lugar de acción. Otra de las ventajas que poseen los agentes nanoparticulados es que en algunos casos se facilita el paso de la droga a través de las barreras biológicas, incluida la barrera hematoencefálica, que en muchas ocasiones impide el paso del agente terapéutico a los tumores cerebrales.⁴³ Además, el uso de estas NPMs permite reducir la dosis del fármaco y combinar en un mismo producto diagnóstico y terapia de enfermedades tumorales.

Una alternativa reciente a la liberación controlada de fármacos utilizando NPMs es la utilización de las propias nanopartículas como agentes citotóxicos en sí mismos. En este tipo de NPMs el núcleo está formado por una aleación de FePt recubierto de CoS₂, un material relativamente poroso. Tras ser capturadas por las células tumorales mediante procesos de endocitosis, las NPMs son expuestas al ambiente ácido del interior de los lisosomas donde su núcleo es oxidado produciendo especies tóxicas de platino-II (Pt(II)). La permeabilidad de la cobertura del mineral de cobalto, permite la salida de estas

especies tóxicas Pt(II) que pueden alcanzar el núcleo celular, dañando la doble cadena de ADN y desencadenando fenómenos de muerte celular por apoptosis.⁴⁴ El mecanismo de acción de estas NPs es muy similar al de la droga cisplatina, comúnmente utilizada en tratamientos antitumorales. Sin embargo, en el caso de las NPMs la liberación de las especies Pt(II) tóxicas tiene lugar de forma localizada, evitando los efectos secundarios en células sanas.

Hipertermia

El núcleo magnético de las nanopartículas permite que puedan ser manipuladas por un campo magnético externo, lo que les proporciona muchas ventajas para diferentes aplicaciones biomédicas. Las NPMs pueden responder a la aplicación de un campo magnético alterno externo produciendo calor, lo que ofrece una interesante propuesta terapéutica para eliminar células tumorales mediante hipertermia. La hipertermia es una terapia antitumoral basada en el aumento localizado de la temperatura por encima de 43°C en la zona tumoral.⁴⁵

Diferentes formas de energía son utilizadas para la destrucción de células tumorales a las que no se puede tener acceso mediante cirugía convencional. La terapia por ablación

⁴³ Gao *et al.*, 2007.

⁴⁴ Gao *et al.*, 2007.

⁴⁵ Jordan *et al.*, 1999.

térmica es un método prometedor pero está limitado por producir una ablación incompleta del tumor y por producir daños en el tejido adyacente. Hasta el momento se habían utilizado técnicas de ablación mediante radiofrecuencia, proceso que requiere la colocación invasiva de una aguja en la zona del tumor y que se ve limitada por la precisión de la aplicación. Mediante la utilización de nanopartículas se ha conseguido el refinamiento de esta técnica. Varios nanomateriales se han utilizado para ello, incluyendo NPs de oro, de hierro, nanohilos magnéticos o nanotubos de carbono.^{46,47,48} La producción de calor utilizando estos nanodispositivos se puede lograr por la aplicación de campos magnéticos externos, láser de longitud de onda apropiada, ultrasonidos, terapia fotodinámica y rayos X de baja potencia. Asimismo, se ha observado que la hipertermia es de gran utilidad cuando se combina con otras técnicas utilizadas comúnmente para destruir células tumorales, como la radioterapia. Las células tumorales, de naturaleza hipóxica son resistentes a las radiaciones, sin embargo el calor destruye por igual células hipóxicas y células normales. Se ha demostrado que se requiere una dosis menor de radiación para destruir la misma proporción de células tumorales cuando se

someten previamente a procesos de hipertermia.⁴⁹

Por todo ello, las NPMs se pueden considerar como herramientas muy prometedoras para la eliminación no invasiva de pequeños tumores utilizando calor inducido magnéticamente. Nanopartículas funcionalizadas con un anticuerpo anti-receptor2 del factor de crecimiento epidérmico (anti-HER2), se han utilizado para producir hipertermia focalizada en células tumorales que muestran una sobreexpresión de HER2. En estos experimentos, realizados en células en cultivo, se consigue que el 60% de las NPMs sean internalizadas. La posterior aplicación de un campo magnético alternante, produce el aumento de la temperatura hasta 42,5°C causando fuertes efectos citotóxicos.⁵⁰

Las NPMs en terapias de sustitución celular

La terapia celular incluye el tratamiento o la prevención de enfermedades mediante la administración de células que han sido expandidas, seleccionadas y tratadas fuera del organismo.

El sistema nervioso central (SNC) adulto tiene una capacidad de regeneración limitada, por lo que la reversión de sus lesiones es muy

⁴⁶ Huff *et al.*, 2007.

⁴⁷ Krishnan *et al.*, 2010.

⁴⁸ Chakravarty *et al.*, 2008.

⁴⁹ Jain, 2008.

⁵⁰ Ito *et al.*, 2004.

complicada. Los precursores neurales son células multipotentes que tienen un gran interés como fuente de células en terapias de restauración celular de enfermedades neurodegenerativas. Estas células, tras ser expandidas *in vitro*, pueden ser trasplantadas al cerebro dañado. Posteriormente, debido a su capacidad de renovación y su carácter multipotente promueven la reparación del tejido nervioso dañado como consecuencia de enfermedades neurodegenerativas, isquemia o daño traumático.⁵¹ Por otra parte, los precursores neurales tienden a migrar hacia áreas patológicas del SNC, como tumores o focos neurodegenerativos. Por tanto estas células se consideran una buena alternativa para reemplazar las células perdidas y también unos vectores apropiados para suministrar moléculas terapéuticas al tejido nervioso en degeneración.

En los estudios de sustitución o reemplazamiento celular es crucial poder seguir el destino de las células trasplantadas, con el fin de averiguar su localización final y evaluar los progresos realizados, correlacionándolos con las mejoras funcionales que puedan observarse tras el trasplante. Para ello, antes de ser trasplantadas, las células progenitoras pueden ser marcadas con NPMs que sirven como agentes de contraste para localizar la zona del trasplante mediante imagen de RM.⁵² El

marcaje de las células precursoras con NPMs no altera la viabilidad celular, su capacidad de diferenciación y migración, ni sus características electrofisiológicas.⁵³ El marcaje con NPMs de las células progenitoras también permite que, tras su inyección en el torrente sanguíneo, las células se dirijan a órganos determinados mediante la aplicación de campos magnéticos de alto gradiente.⁵⁴ Esta técnica permite concentrar las células trasplantadas en sitios específicos del organismo por ejemplo en la médula espinal, en experimentos de seccionamiento medular, mediante técnicas no invasivas.

Por lo tanto, la utilización de NPMs para marcar células en terapia celular abre la posibilidad de utilizar nuevas técnicas de imagen para seguir la evolución de los trasplantes facilitando la realización de estudios longitudinales y por tanto consiguiendo una disminución notable del número de animales necesarios para llevar a cabo dichos experimentos.

Toxicidad de las NPMs

Tras su inyección intravenosa, las NPMs se acumulan mayoritariamente en el hígado (del 80 al 90%), del 5 al 8% en el bazo y en la médula ósea del 1 al 2%.⁵⁵ Aunque tras su

⁵¹ Ruff y Fehlings, 2010.

⁵² Bulte y Kraitchman, 2004.

⁵³ Guzman *et al.*, 2007.

⁵⁴ Hamasaki *et al.*, 2005.

⁵⁵ Duguet *et al.*, 2006.

inhalación, las NPMs también se pueden encontrar en el cerebro y en los pulmones.⁵⁶ Esta biodistribución final de las NPs viene determinada por el tamaño, la naturaleza de su cobertura y la química de su superficie.

Tras ser internalizadas por las células mediante endocitosis, las partículas más comunes, las formadas por óxidos de hierro, pasan a los lisosomas donde son degradadas por enzimas hidrolíticas a iones de hierro que se incorporan a las rutas metabólicas endógenas del hierro.¹¹ Pero no todas las NPMs que se inyectan son degradadas de forma tan eficaz.

La citotoxicidad de las NPMs se ha evaluado tanto en estudios *in vitro*⁵⁷ como en ensayos realizados *in vivo*.⁵⁸ Las NPs se acumulan intracelularmente e incluso pueden encontrarse en orgánulos subcelulares como la mitocondria y el núcleo, por lo que pueden llegar a interferir en procesos tan importantes como la producción de energía mitocondrial o la expresión de genes.⁵⁹

De las NPMs utilizadas, las más biocompatibles son las de óxido de hierro, de las que apenas se han descrito efectos negativos. Los efectos citotóxicos observados debido a la exposición a este tipo de

partículas solo ocurren a altas concentraciones (superiores a 100 µg/ml).⁶⁰ Igualmente, los estudios de toxicidad realizados en modelos animales, demuestran la biocompatibilidad de las partículas de óxido de hierro a las concentraciones y vías de administración utilizadas en clínica. En estos estudios se observa que el hierro se acumula en los tejidos pero sin producir alteraciones considerables en los análisis histológicos.⁵⁶

Cada vez existen más evidencias que sugieren que determinadas propiedades de las NPMs pueden tener efectos citotóxicos por sí mismas o bien amplificar los que producen los componentes con los que se han biofuncionalizado. El estrés oxidativo es uno de los daños celulares más comúnmente asociado a la presencia de partículas en el interior de las células. Se manifiesta por un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), seguido de una respuesta proinflamatoria y daños en el DNA que llevan a la célula a sufrir muerte apoptótica.⁶¹ Sin embargo, estos efectos tóxicos de las NPMs que generan especies reactivas de oxígeno intracelulares y llevan a la muerte celular, sólo tienen lugar en presencia de altas concentraciones de NPMs. Por tanto, el uso de concentraciones bajas de NPMs es un objetivo importante para evitar el

⁵⁶ Kwon *et al.*, 2008.

⁵⁷ Peters *et al.*, 2007.

⁵⁸ Kim *et al.*, 2006.

⁵⁹ Gojova *et al.*, 2007.

⁶⁰ Jeng y Swanson, 2006.

⁶¹ Nel *et al.*, 2006.

daño celular producido por el estrés oxidativo.⁶²

Tanto la dosis utilizada como la composición del núcleo metálico de las NPMs, su tamaño, el polímero utilizado en su cobertura, la química de su superficie y la forma de administración, juegan un papel decisivo en el resultado final de su toxicidad o biocompatibilidad.

Todavía quedan muchos retos por resolver antes de la posible utilización de forma generalizada de las NPMs como agentes terapéuticos. Existe preocupación acerca de la toxicidad potencial de las NPMs y se están realizando investigaciones a profundidad para resolver este problema. En la actualidad, no existe un consenso acerca de los riesgos reales sobre la utilización de los nanomateriales en biomedicina. La evaluación de riesgos al día de hoy, cuenta con numerosos obstáculos como son la escasez de datos, el alto número de nanomateriales a analizar y la falta de marcos de evaluación de riesgos, todavía sin desarrollar.

Bibliografía

Aaron, J.S., J. Oh, T. A. Larson, S. Kumar, T. E. Milner y K. V. Sokolov (2006), "Increased optical contrast in imaging of epidermal growth factor receptor using magnetically

actuated hybrid gold/iron oxide nanoparticles", *Opt Express*. 14 (26), pp. 12930-43.

Akers, W. J., Z. Zhang, M. Berezin, Y. Ye, A. Agee, K. Guo, R. W. Fuhrhop, S. A. Wickline, G. M. Lanza y S. Achilefu (2010), "Targeting of alpha(nu)beta(3)-integrins expressed on tumor tissue and neovasculature using fluorescent small molecules and nanoparticles", *Nanomedicine (Lond)*. 5 (5), pp. 715-26.

Anzai, Y., C. W. Piccoli, E. K. Outwater, W. Stanford, D. A. Bluemke, P. Nurenberg, S. Saini, K. R. Maravilla, D. E. Feldman, U. P. Schmiedl, J. A. Brunberg, I. R. Francis, S. E. Harms, P. M. Som y C. M. Tempany (2003), "Evaluation of neck and body metastases to nodes with ferumoxtran 10-enhanced MR imaging: phase III safety and efficacy study", *Radiology*, 228, pp. 777.

Bulte, J.W. y D. L. Kraitchman (2004), "Monitoring cell therapy using iron oxide MR contrast agents", *Curr Pharm Biotechnol*, 5, pp. 567-84.

Burtea, C., S. Laurent, I. Mahieu, L. Larbanoix, A. Roch, M. Port, O. Rousseaux, S. Ballet, O. Murariu, G. Toubeau, C. Corot, L. Vander Elst y R. N. Muller (2010), "In vitro biomedical applications of functionalized iron oxide nanoparticles, including those not related to magnetic properties", *Contrast Media Mol Imaging*, (aceptado para publicación).

Chakravarty, P., R. Marches, N. S. Zimmerman, A. D. Swafford, P. Bajaj, I. H. Musselman, P. Pantano, R. K. Draper y E. S. Vitetta (2008), "Thermal ablation of tumor cells with antibody-functionalized single-walled carbon nanotubes", *Proc Natl Acad Sci USA*, 105, pp. 8697-8702.

Chellat, F., Y. Merhi, A. Moreau y L. Yahia (2005), "Therapeutic potential of nanoparticulate systems for macrophage targeting", *Biomaterials*, 26 (35), pp. 7260-75.

Chen, L.T. y L. Weiss (1973), "The role of the sinus wall in the passage of erythrocytes through the spleen", *Blood*, 41, pp. 529-37.

62 Naqvi *et al.*, 2010.

- Choi, H.S., W. Liu, P. Misra, E. Tanaka, J. P. Zimmer, B. Itty Ipe, M. G. Bawendi y J. V. Frangioni (2007), "Renal clearance of quantum dots", *Nat Biotechnol* 25, pp. 1165–70.
- Chouly C., D. Pouliquen, I. Lucet, J. J. Jeune y P. Jallet (1996), "Development of superparamagnetic nanoparticles for MRI: Effect of particle size, charge and surface nature on biodistribution", *Journal of Microencapsulation*, 13, pp.245–255.
- Corot, C., *et al.* (2006), "Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, pp. 1471–1504.
- Daniel, M. C. Y D. Astruc (2004), "Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology", *Chem Rev* 104 (1), pp. 293–346.
- Dobson, J. (2006), "Magnetic nanoparticles for drug delivery", *Drug Development Research*, 67, pp. 55–60.
- Duguet, E., S. Vasseur, S. Mornet y J. M. Devoisselle (2006), "Magnetic nanoparticles and their applications in medicine", *Nanomed* 1 (2), pp.157–68.
- Galanzha E. I., E. V. Shashkov, T. Kelly, J. W. Kim, L. Yang y V. P. Zharov (2009), "In vivo magnetic enrichment and multiplex photoacoustic detection of circulating tumour cells", *Nat Nanotechnol*, 4, pp. 855-860.
- Gao, J., G. Liang, B. Zhang, Y. Kuang, X. Zhang y B. Xu (2007), "FePt@CoS(2) yolk-shell nanocrystals as a potent agent to kill HeLa cells", *J Am Chem Soc.*, 129 (5). pp. 1428-33.
- Georganopoulou, D. G., L. Chang, J. M. Nam, C. S. Thaxton, E. J. Mufson, W. L. Klein y C. A. Mirkin (2005) "Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer's disease", *Proc Natl Acad Sci U S A*. 102 (7), pp. 2273-6.
- Gojova, A., B. Guo, R. S. Kota, J. C. Rutledge, I. M. Kennedy y A. I. Barakat (2007), "Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: effect of particle composition", *Environ Health Perspect* 115 (3), pp. 403–9.
- Gossuin, Y., P. Gillis, A. Hocq, Q. L. Vuong y A. Roch (2009), "Magnetic resonance relaxation properties of superparamagnetic particles", *Nanomed Nanobiotechnol.*, 1 (3), pp. 299-310.
- Gu, H., P. L. Ho, K. W. Tsang, L. Wang y B. Xu (2003), "Using biofunctional magnetic nanoparticles to capture vancomycin-resistant enterococci and other gram-positive bacteria at ultralow concentration", *J Am Chem Soc.*, 125 (51), pp. 15702-3.
- Gupta, A. K., R. R. Naregalkar, V. D. Vaidya y M. Gupta (2007), "Recent advances on surface engineering of magnetic iron oxide nanoparticles and their biomedical applications", *Nanomed*, 2 (1), pp. 23–39.
- Guzman, R., N. Uchida, T. M. Bliss, D. He, K. K. Christopherson, D. Stellwagen, A. Capela, J. Greve, R. C. Malenka, M. E. Moseley, T.D. Palmer y G. K. Steinberg (2007), "Long-term monitoring of transplanted human neural stem cells in developmental and pathological contexts with MRI", *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, pp.10211-6.
- Hamasaki, T., N. Tanaka, O. Ishida, S. Yanada, N. Kamei, Y. Fujiwara, K. Nishida, K. Nakanishi, P. Sharman, S. Kawamata y M. Ochi (2005), "Characterization of labeled neural progenitor cells for magnetic targeting". *Neuroreport*, 16, pp.1641-5.
- Huang X., J. Zhuang, D. Chen, H. Liu, F. Tang, X. Yan, X. Meng, L. Zhang y J. Ren (2009), "General strategy for designing functionalized magnetic microspheres for different bioapplications", *Langmuir*, 25 (19), pp.11657-63.
- Huff, T. B., L. Tong, Y. Zhao, M. N. Hansen, J. X. Cheng y A. Wei (2007), "Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells", *Nanomedicine (Lond)*, 2, pp.125-132.

- Huh, Y. M., Y. W. Jun, H. T. Song, S. Kim, J. S. Choi, J. H. Lee, S. Yoon, K. S. Kim, J. S. Shin, J. S. Suh y J. Cheon (2005), "In vivo magnetic resonance detection of cancer by using multifunctional magnetic nanocrystals", *J Am Chem Soc*, 127, pp. 12387–91.
- Ito, A., Y. Kuga, H. Honda, H. Kikkawa, A. Horiuchi, Y. Watanabe y T. Kobayashi (2004), "Magnetite nanoparticle-loaded anti-HER2 immunoliposomes for combination of antibody therapy with hyperthermia", *Cancer Lett*, 212, pp.167-175.
- Jain, K. K. (2008), *A Handbook of Nanomedicine* Totowa, NJ: Humana/Springer.
- Jain, K. K. (2010), "Advances in the field of nanooncology", *BMC Med.*, 8, pp. 83-94.
- Jeng, H. A. y J. Swanson (2006), "Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells". *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 41 (12), pp. 2699–711.
- Jordan, A., R. Scholz, P. Wust, H. Schirra, T. Schiestel, H. Schmidt y R. Felix (1999), "Endocytosis of dextran and silan-coated magnetite nanoparticles and the effect of intracellular hyperthermia on human mammary carcinoma cells in vitro", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 194 (1–3), pp, 185–196.
- Jun, Y. W., Y. M. Huh, J. S. Choi, J. H. Lee, H. T. Song, S. Kim, S. Yoon, K. S. Kim, J. S. Shin, J. S. Suh y J. Cheon (2005), "Nanoscale size effect of magnetic nanocrystals and their utilization for cancer diagnosis via magnetic resonance imaging", *J Am Chem Soc.*, 127, pp. 5732–3.
- Kim, J.S., T. J. Yoon, K. N. Yu, B. G. Kim, S. J. Park, H. W. Kim, K. H. Lee, S. B. Park, J. K. Lee y M. H. Cho (2006), "Toxicity and tissue distribution of magnetic nanoparticles in mice", *Toxicol Sci*, 89 (1), pp. 338–47.
- Krishnan, S., P. Diagaradjane y S. H. Cho (2010), "Nanoparticle-mediated thermal therapy: evolving strategies for prostate cancer therapy", *Int J Hyperthermia*, 26, pp. 775-789. 33.
- Kwon, J.T., S. K. Hwang, H. Jin, D. S. Kim, A. Minai-Tehrani, H. J. Yoon, M. Choi, T. J. Yoon, D. Y. Han, Y. W. Kang, B. I. Yoon, J. K. Lee y M. H. Cho (2008), "Body distribution of inhaled fluorescent magnetic nanoparticles in the mice", *J Occup Health*, 50 (1), pp.1–6.
- Lee, C. M., D. Jang, J. Kim, S. J. Cheong, E. M. Kim, M. H. Jeong, S. H. Kim, D. W. Kim, S. T. Lim, M. H. Sohn, Y. Y. Jeong, H. J. Jeong (2011), "Oleyl-Chitosan Nanoparticles Based on a Dual Probe for Optical/MR Imaging in Vivo", *Bioconjug Chem.*, 22 (2), pp.186-92.
- Lee, J. H., Huh, Y. M., Y. W. Jun, J. W. Seo, J. T. Jang, H. T. Song, S. Kim, E. J. Cho, H. G. Yoon, J. S. Suh y J. Cheon (2007), "Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging", *Nat Med.*, 13 (1), pp. 95-9.
- Lee, J. H., Y. M. Huh, Y. W. Jun, J. W. Seo, J. T. Jang, H. T. Song, S. Kim, E. J. Cho, H. G. Yoon, J. S. Suh y J. Cheon (2007), "Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging", *Nat Med.*, 13 (1), pp. 95-9.
- Li, J., H. Gao, Z. Chen, X. Wei y C. F. Yang (2010), "An electrochemical immunosensor for carcinoembryonic antigen enhanced by self-assembled nanogold coatings on magnetic particles", *Anal Chim Acta*. 665 (1), pp. 98-104.
- Lu, A. H., E. L. Salabas y F. Schüth (2007), "Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application", *Angew Chem Int Ed Engl.*, 46 (8), pp. 1222–44.
- Maeda, H., J. Wu, T. Sawa, Y. Matsumura y K. Hori (2000), "Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review", *Journal of Controlled Release*, 65, pp. 271–284.
- McCarthy, J. R., K. A. Kelly, E. Y. Sun y R. Weissleder (2007), "Targeted delivery of multifunctional magnetic nanoparticles", *Nanomed*, 2 (2), pp. 153–67.
- McCarthy, J. y R. Weissleder (2008), "Multifunctional magnetic nanoparticles for

- targeted imaging and therapy”, *Adv Drug Deliv Rev.*, 60 (11), pp. 1241–1251.
- Mitchell, D. y M. Cohen (2004), *MRI principles*, Philadelphia, PA: Saunders.
- Nam, J. M., C. S. Thaxton y C. A. Mirkin (2003) “Nanoparticle-based bio-bar codes for the ultrasensitive detection of proteins”, *Science*, 301 (5641), pp.1884-6.
- Naqvi, S., M. Samim, M. Abdin, F. J. Ahmed, A. Maitra, C. Prashant y A. K. Dinda (2010), “Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress”, *Int J Nanomedicine*. 5, pp. 983-9.
- Nel, A., T. Xia, L. Mädler, N. Li (2006), “Toxic potential of materials at the nanolevel”. *Science*, 311 (5761), pp. 622–7.
- Pankhurst, Q. A. (2003), “Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine”, *J Phys D: Appl Phys.*, 36, pp. 167–181.
- Park, J. (2008), “Magnetic iron oxide nanoworms for tumor targeting and imaging”, *Advanced Materials*, 20, pp.1630–1635.
- Peters, K., R. E. Unger, A. M. Gatti, E. Sabbioni, R. Tsaryk y C. J. Kirkpatrick (2007), “Metallic nanoparticles exhibit paradoxical effects on oxidative stress and proinflammatory response in endothelial cells in vitro”, *Int J Immunopathol Pharmacol.*, 20 (4), pp. 685–95.
- Ruff, C. A., y M. G. Fehlings (2010) “Neural stem cells in regenerative medicine: bridging the gap”, *Paininerva Med.*, 52, pp. 125-47.
- Storm, G., S. Belliot, T. Daemen y D. D. Lasic (1995), “Surface modification of nanoparticles to oppose uptake by the mononuclear phagocyte system”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 17, pp. 31–48.
- Sun, C., J. S. Lee y M. Zhang (2008), “Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery” *Adv. Drug Delivery Rev.*, 60, pp. 1252-65.
- von Zur Muhlen, C., D. von Elverfeldt, N. Bassler, I. Neudorfer, B. Steitz, A. Petri-Fink ,H. Hofmann, C. Bode y K. Peter K (2007), “Superparamagnetic iron oxide binding and uptake as imaged by magnetic resonance is mediated by the integrin receptor Mac-1 (CD11b/CD18): Implications on imaging of atherosclerotic plaques”, *Atherosclerosis*. 193, pp. 102–11.
- Wagner, E. (2007), “Programmed drug delivery: nanosystems for tumor targeting”, *Expert Opin Biol Ther.*, 7, pp. 587-593.
- Weissleder, R., G. Elizondo, J. Wittenberg, C. A. Rabito, H. H. Bengel y L. Josephson (1990), “Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: Characterization of a new class of contrast agents for MR imaging”, *Radiology*, 175, pp. 489–493.
- Weissleder, R., D. D. Stark, B. L. Engelstad, B. R. Bacon, C. C. Compton, D. L. White, P. Jacobs y J. Lewis (1989), “Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity” *AJR Am J Roentgenol.*, 152 (1), pp. 167-73.
- Zhang, Y., N. Kohler y M. Zhang (2002), “Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake” *Biomaterials*, 23, pp. 1553–1561.