



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
HIPERTERMIA BASADA EN NANOPARTÍCULAS
PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

Autor: Alberto Ferreras Mayo

Fecha: Julio 2020

Tutor: Marco Filice

1. RESUMEN

La aplicación de la nanotecnología a la salud se encuentra en avance exponencial en los últimos años. La hipertermia basada en nanopartículas se presenta como una técnica potencialmente beneficiosa en biomedicina, especialmente en el tratamiento del cáncer. Con esta finalidad, las nanopartículas más empleadas son las de óxido de hierro (IONPs) que utilizan su particular superparamagnetismo para generar calor bajo un campo magnético alterno. Por otro lado, la resonancia por plasmón superficial basada en la aplicación de ondas del infrarrojo cercano también ha dado buenos resultados, por lo que se están desarrollando otras estrategias basadas en nanopartículas de oro (AuNPs) y nanotubos de carbono (CNTs).

Para aumentar la selectividad del tratamiento, se deberá profundizar en los cambios metabólicos y estructurales que se produce en las masas tumorales respecto al tejido sano, siendo la vectorización, tanto activa como pasiva, la técnica más exitosa. Además, para mejorar su farmacocinética en el organismo, en la mayoría de los casos deberemos proceder a una funcionalización de la nanopartícula mediante el recubrimiento, el dopamiento o el cambio de su potencial iónico.

Estas nanopartículas presentan muchas aplicaciones en cánceres de diferente naturaleza, desde más externos como el cáncer epidermoide de piel a más internos como el glioblastoma cerebral. Presentan la opción de utilizarse particularmente o en combinación con la quimioterapia para mejorar sus resultados. También han mostrado eficacia en la reducción de las masas de células madre cancerosas tan problemáticas. Se abordará también la termoablación, un tipo especial de hipertermia en la que se alcanzan mayores temperaturas. Además de su utilización como tratamiento, la hipertermia basada en nanopartículas presenta aplicaciones más desarrolladas en el diagnóstico por imagen y como transportadores de fármacos, o menos como en la inmunomodulación.

Palabras clave: cáncer, hipertermia, magnetismo, nanopartículas, plasmón superficial.

2. INTRODUCCIÓN

Para definir el fundamento de esta técnica dentro de la terapia oncológica hay que apoyarse en dos campos fundamentales en crecimiento exponencial: la nanomedicina y la hipertermia.

2.1. Nanomedicina

La nanomedicina es una de las ciencias más esperanzadoras para el desarrollo clínico de este siglo. Se define como la rama de la medicina que trabaja a nivel molecular con diferentes nanoestructuras para conseguir un mejor control, saneamiento y mejora de los sistemas biológicos humanos con el fin de mejorar la salud [1]. Opera a escala nanométrica (1-100 nm de diámetro), con lo que consigue aprovechar los cambios fisiológicos a nivel celular y vascular que se manifiestan en distintas patologías infecciosas, tumorales y cardiovasculares.

En particular en el campo de la oncología, la aplicación de nanopartículas metálicas y otras nanoestructuras ha permitido avances notables ya que, debido a su pequeño tamaño, presentan propiedades físicas, químicas, electromagnéticas y ópticas útiles que no están presentes en sus respectivos materiales macroscópicos (*bulk*) [2].

2.2. Hipertermia

La hipertermia basada en nanopartículas es un tratamiento experimental de corte oncológico que consiste en la elevación de la temperatura local de la masa tumoral hasta el rango de 41-46°C induciendo efectos a nivel celular y tisular. A nivel celular, el estrés por calor lleva a la expresión de altos niveles de proteínas de choque térmico (HSP), a la desnaturalización y plegamiento de proteínas, y a la apoptosis. A nivel tisular, se induce una acidificación del pH, una degeneración endotelial y un aumento de la coagulación sanguínea, que inducen una menor perfusión y oxigenación del microambiente tumoral. La aplicación de temperaturas mayores o una duración del tratamiento más larga de lo indicado llevarían a la necrosis del tejido [3] [4]. Además de su utilización como terapia individual, la hipertermia se puede usar en combinación con otras terapias tradicionales como la radioterapia o la quimioterapia, potenciando su eficacia, ya que el tumor se sensibiliza al exponerse a este estrés térmico.

El tratamiento oncológico basado en la hipertermia comenzó a desarrollarse a raíz de diversos casos clínicos en los que pacientes oncológicos con erisipelas (infección causada por *Streptococcus pyogenes*) que padecían fuertes fiebres mostraban una reducción de los síntomas e incluso regresión del tumor [5]. Tradicionalmente la hipertermia era administrada utilizando dispositivos externos como láseres y más tarde utilizando ultrasonidos y radiofrecuencia, pero todos presentaban limitaciones en común: penetración limitada y sobrecalentamiento de tejido sano que llevaba a quemaduras y ampollas. Sin embargo, con el descubrimiento de la aplicación de los dos mecanismos descritos a continuación, se pudo empezar a utilizar la hipertermia de una manera más optimizada [4].

2.2.1. Hipertermia por magnetismo

El fundamento de esta técnica reside en la conversión de la energía magnética en calor. En general, todos los materiales ejercen fuerzas de repulsión o atracción unos sobre otros (magnetismo) debido al movimiento de sus electrones, lo que genera momentos magnéticos. Como se observa en la Tabla 1, los materiales ferromagnéticos como el hierro poseen un momento magnético único y permanente en ausencia de campos externos. A diferencia de los paramagnéticos, en los que los momentos individuales de cada átomo se disponen al azar y solo se alinean al aplicar un campo magnético externo. Debido a su estructura electrónica, en los materiales ferromagnéticos los momentos magnéticos de átomos adyacentes se ordenan. Esto crea grandes regiones con dipolos alineados llamadas dominios magnéticos [6].

Material	Ausencia campo magnético	Aplicando campo magnético	Ejemplos
Diamagnético	No hay dipolos, no hay magnetismo	Dipolos se orientan en dirección opuesta al campo, hay magnetismo	Cobre, plata, oro
Paramagnético	Cada átomo posee un dipolo orientado al azar → valor neto 0, no hay magnetismo	Dipolos se orientan hacia el campo, hay magnetismo	Aluminio, litio, platino
Ferromagnético	Dipolos magnéticos permanentes alineados, hay magnetismo	Dipolos se orientan hacia el campo, hay magnetismo	Hierro, cobalto, níquel

Tabla 1. Comparación entre los distintos materiales según su naturaleza magnética [6].

La eficacia de absorción de un material cuando se aplica un campo magnético alterno (AMF) se mide con el índice de absorción específico (SAR) y la pérdida específica de energía (SPL). Las nanopartículas magnéticas de óxido de hierro (IONPs) han mostrado valores más altos en estos índices que otros materiales micrométricos [7].

Cuando se aplica un AMF, las IONPs se cargan de energía magnética pasando a un estado de excitación superior. Para volver al estado inicial, estas nanopartículas deberán someterse a una relajación, que será principalmente interna (o de Néel) al regresar los momentos magnéticos de la estructura cristalina a su estado inicial, pero también externa (o browniana) debido a la rotación de estas partículas en el medio. El cambio rápido de los momentos magnéticos genera pérdidas de energía en forma de calor debido al rozamiento molecular con el medio. Este hecho se conoce como pérdida por histéresis y produce una situación de hipertermia en la zona donde se aplica el AMF. Los parámetros de AMF con los que mayores valores de SPL se obtienen son a una frecuencia de 500 kHz y una amplitud de 10 kA/m [4].

Por todo esto, a la hora de diseñar las IONPs hay que tener en cuenta el radio de dominio único (RSD), que indica el tamaño mínimo para que se formen dominios magnéticos; y el radio superparamagnético (RSPM), que se refiere al tamaño máximo que pueden tener las partículas de óxido de hierro (material ferromagnético a nivel macroscópico) para que se observen comportamientos paramagnéticos. Este fenómeno recibe el nombre de superparamagnetismo y se puede observar en la Figura 1. A partir de una cierta temperatura (temperatura de Curie, T_c), en ausencia de un campo magnético externo, la magnetización de las IONPs es aparentemente nula. En este estado, las nanopartículas tienen gran susceptibilidad de ser magnetizadas por un dispositivo hacia el punto donde se quiere aplicar la hipertermia [8].

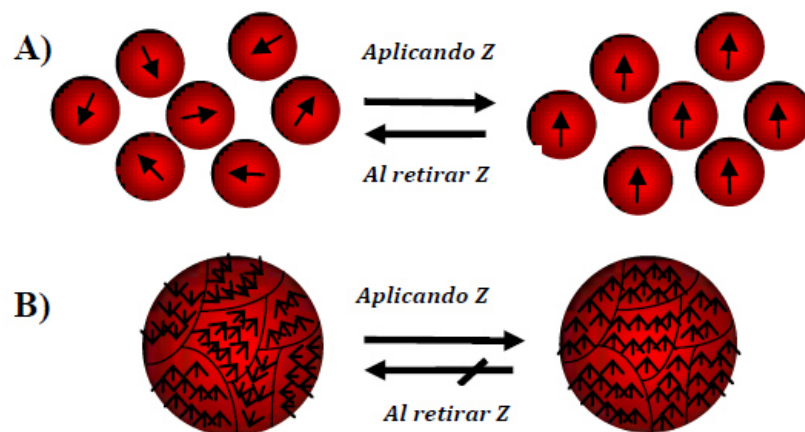


Figura 1. A) Las nanopartículas en presencia de campo magnético son monodominios con todos los espines en una misma dirección, al retirarlo hay una pérdida de magnetización. B) El mismo material *bulk* presenta cooperatividad de los diferentes dominios en presencia del campo magnético y una coercitividad no nula en su ausencia [9].

2.2.2. Hipertermia por resonancia de plasmón superficial (SPR)

Este fenómeno se puede desarrollar gracias a que al diseñar estos materiales a escala nanométrica su superficie específica aumenta mucho respecto al material *bulk* (mayor proporción de átomos en la superficie). Como se observa en la Figura 2, al excitar su superficie con luz visible u ondas del infrarrojo cercano (NIR) se generan plasmones de superficie localizados (u oscilaciones de la densidad superficial de electrones). Para regresar al estado

de reposo original, los electrones liberan la energía en forma de calor de forma muy eficiente. En otros términos, se forma un dipolo eléctrico en la partícula, diferenciando a los electrones libres a un lado, y al resto del núcleo metálico y electrones internos al otro lado (red catiónica). Así se genera una carga negativa en un lado y una carga opuesta positiva en el otro. Esta situación generará una fuerza restauradora del equilibrio en forma de calor susceptible de ser utilizado para la promoción de la hipertermia terapéutica [10].

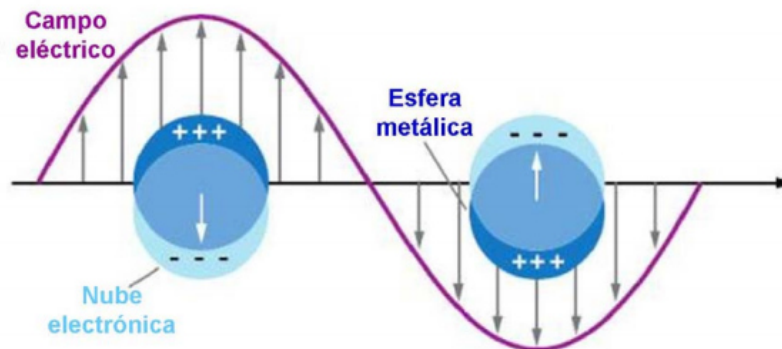


Figura 2. Representación esquemática del fenómeno de deslocalización de la carga de una nanopartícula al someterla a un campo eléctrico incidente [11].

La teoría de Mie, que se explica a través de las ecuaciones de Maxwell, define qué fracción de luz será absorbida, y qué fracción disipada en la nanopartícula metálica [12]. Esta primera fracción se expresará mediante un coeficiente de extinción o absorptividad. Así cuanto más pequeña es la partícula, mayor absorptividad presenta y por tanto mayor es la frecuencia de SPR. Al contrario, al aumentar el tamaño disminuye la absorción y aumenta la dispersión de luz. Por lo tanto, resulta interesante no superar los 100 nm en el diseño de las nanoestructuras y la utilización, entre otros, de nanopartículas de oro (AuNPs) y nanotubos de carbono (CNTs), que presentan coeficientes de extinción especialmente altos. Es más, se ha comprobado que el coeficiente de extinción de estos materiales es notablemente superior a cromóforos naturales como la melanina o la hemoglobina [12].

En su aplicación clínica, generalmente en forma de láser, las ondas NIR (700-900 nm) son preferibles a las del espectro visible, al mostrar estas una mayor tasa de penetración en el tejido dérmico [13].

3. OBJETIVOS

El objetivo de este Trabajo de Fin de Grado es la revisión bibliográfica del conocimiento acumulado por la sociedad científica y médica (estado del arte) sobre la técnica de la hipertermia basada en la aplicación de nanomateriales en terapias oncológicas. En particular, este trabajo se centra en la evaluación de las nanopartículas más utilizadas haciendo énfasis en los principios fisicoquímicos que rigen su comportamiento, en su ruta sintética y en sus características particulares para poder presentar aplicación biomédica. Seguidamente, se desglosarán ejemplos de aplicaciones concretas para terapia oncológica avaladas por investigaciones y estudios clínicos recientes.

4. METODOLOGÍA

El procedimiento utilizado a lo largo del trabajo ha consistido en la búsqueda y análisis de la literatura académica más relevante en el campo de la hipertermia y en particular de la hipertermia con nanopartículas. Para ello se han recopilado resultados de diferentes publicaciones científicas de impacto con fecha posterior a 2005 por medio de buscadores especializados como PubMed, Google Scholar o Scopus.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta los fundamentos físicos de la hipertermia, a continuación, se abordará el análisis de la información relativa a las características y desarrollo de las nanoestructuras necesarias y su valor terapéutico en diferentes ensayos clínicos.

5.1. Nanopartículas de óxido de hierro (IONPs)

5.1.1. Propiedades fisicoquímicas

Son las primeras nanopartículas que se sintetizaron con esta finalidad y por lo tanto las más desarrolladas técnicamente. Tienen una estructura básica formada por un núcleo metálico (*core*) a partir de moléculas de óxido de hierro y un recubrimiento (*coating*) constituido por moléculas orgánicas o inorgánicas.

Los principales materiales con propiedades magnéticas utilizados para fabricar el núcleo son los óxidos de hierro. Presentan la ventaja de que se preparan eficazmente a escala nanométrica, y sus huecos atómicos y su superficie polar poblada de OH⁻, hacen fácil su manipulación y funcionalización superficial. Entre los núcleos magnéticos más usados destacan la magnetita (Fe₃O₄) y la maghemita (γ-Fe₂O₃), que conforman las nanopartículas de óxido de hierro superparamagnéticas (SPIONs) con un diámetro de 50-180 nm. También se pueden fabricar las SPIONs ultra pequeñas (USPIONs) con un diámetro de 10-50 nm, y las muy pequeñas (VSPIONs) con un diámetro inferior a 10 nm [7].

Para una administración intravenosa óptima, las IONPs deben tener un diámetro de 10-100 nm. Esto es debido a que por debajo de estos valores las partículas sufren una excreción renal muy rápida y por encima de 200 nm experimentan una fuerte fagocitosis por parte de células del sistema inmune (fuerte retención en el bazo). Como alternativa, se está ensayando su posible administración oral, que permitiría el uso de nanopartículas de mayor tamaño [14].

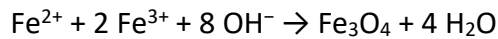
5.1.2. Síntesis

La magnetita tiene la particularidad de contener las dos formas iónicas del hierro, Fe²⁺ y Fe³⁺, con estructura de espín inversa. Por ello, se caracteriza por un rápido salto de electrones por estos cationes de la red octaédrica. Se obtiene principalmente por los siguientes métodos:

a) *Coprecipitación*

Se basa en el método de Massart, que consiste en la coprecipitación de cloruro férrico y ferroso en medio acuoso con la adición de una base como NaOH o amoníaco. El método original ha sufrido modificaciones como la adición de citrato como agente estabilizante, la

adición de agentes tampones para controlar el pH y la peptidación con HNO₃ o la síntesis a altas presiones para mejorar la eficacia [15].



b) Descomposición térmica

Compuestos organometálicos como carboxilatos o acetilacetonatos de hierro se descomponen en ebullición en medio orgánico como el difeniléter. Para que la síntesis sea eficiente en términos nanométricos, deben añadirse surfactantes como 1,2-hexadecanodiol, oleilamina o ácido oleico [15].

c) Microemulsiones

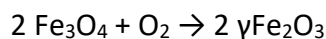
Se parte de una microemulsión formada por una fase oleosa de octano y una fase acuosa con NaBH₄ y FeCl₃. Gracias a la adición del surfactante CTAB, se produce la pasivación de los iones de hierro que lleva a la formación de las cápsulas [15] [16].

Como se observa en la Tabla 2, la elección de un método u otro depende del balance de la calidad del perfil farmacocinético necesario con los factores económicos.

Técnica	Ventajas	Inconvenientes
Coprecipitación	<ul style="list-style-type: none"> - Reactivos baratos - Condiciones suaves - Síntesis directa en medio acuoso - Modificación superficial sencilla 	<ul style="list-style-type: none"> - Gran cantidad de parámetros a controlar - Poblaciones polidispersas
Descomposición térmica	<ul style="list-style-type: none"> - Estructura cristalina ordenada (↑ propiedades magnéticas) - Recubrimiento de alcohol hidrofílico favorece su dispersión en H₂O 	<ul style="list-style-type: none"> - Temperaturas elevadas
Microemulsiones	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor saturación de magnetización (↑ eficacia térmica) - Poblaciones monodispersas - Bases orgánicas sirven como recubrimiento posterior 	<ul style="list-style-type: none"> - Complejidad en el manejo de micelas inversas - Maduración de Ostwald (disolución lenta) difícil de evitar

Tabla 2. Comparación de las ventajas e inconvenientes de las principales técnicas de síntesis de IONPs [15].

La maghemita es isoestructural con la magnetita, pero con más vacantes catiónicas que hacen que sea menos magnética pero más estable que esta. Puede sintetizarse por métodos similares a la magnetita o por su oxidación [16].



5.1.2. Funcionalización

Uno de los mayores problemas de las IONPs es su baja vida media sanguínea. Esto es debido al proceso de opsonización, que consiste en que células fagocíticas del sistema inmune destruyen la nanopartícula gracias a su sistema reticuloendotelial (RES), produciéndose un

rápido aclaramiento hepático o esplénico. Otros inconvenientes son la toxicidad originada por los cationes Fe^{2+} libres, que inducen la formación de vacuolas y otros daños celulares que llevan a la muerte de la célula; y su tendencia a la agregación que lleva a un aumento de tamaño dificultando su cinética [17].

Para solucionar estos problemas farmacocinéticos, se suele proceder al recubrimiento de la superficie, produciéndose, en algunos casos, una funcionalización adicional y/o un dopamiento del núcleo metálico con otros heteroátomos.

a) *Recubrimiento superficial*

Los materiales más utilizados son los polímeros naturales, entre los que destaca [18]:

- Polietilenglicol (PEG): Con una estructura de $[-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-]_n$. Además de mejorar el tiempo de semivida y la captación celular (*uptake*) del SPION, su hidroxilo terminal permite la posterior funcionalización. Se han descrito posibles interacciones con la enzima alcohol deshidrogenasa.
- Alcohol polivinílico (PVA): Con una estructura similar al PEG de $[-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-]_n$. Destaca por reducir la opsonización temprana que ocurre en las SPIONs convencionales, además de prevenir la frecuente aglomeración que se da en venas estrechas.
- Quitosano: Es un polisacárido poliacetilado formado por unidades de glucosamina. Su gran afinidad hacia grupos tiólicos permite a la nanopartícula unirse eficazmente a glicoproteínas, pero su naturaleza catiónica incrementa la generación de células inflamatorias. Esto puede ser neutralizado con la adición de grupos aniónicos como sulfonatos o fosfatos.
- Dextrano: Previene la opsonización de la nanopartícula al retrasar su reconocimiento por las células fagocíticas. Por la contra, es internalizado con más dificultad debido a su naturaleza neutra. Debe garantizarse la estabilidad de la cápsula ya que causa efectos tóxicos al degradarse. Por ello suele incorporarse un agente reticulante (*cross-linker*) como la epiclóridina.

Además de estos, también se puede utilizar polivinilpirrolidona (PVP), ligandos de ácido oleico o cítrico añadidos como moléculas estabilizadoras, o recubrimientos inorgánicos como la sílice o el oro, que se comentarán más adelante.

b) *Dopamiento*

La adición de heteroátomos a la estructura cristalina del óxido de hierro se conoce como dopamiento. Para que estos heteroátomos puedan introducirse deben tener un buen carácter magnético, el tamaño apropiado y una buena dispersabilidad. Hay que tener en cuenta que en el caso de las IONPs será más sencillo el dopamiento con materiales metálicos como el cobalto, que se introducirán mejor en la red cristalina sustituyendo a otro catión de hierro. El cobalto consigue mejorar las características magnéticas de la IONP incrementando su tasa específica de absorción y con ello la generación de calor. Sin embargo, el cobalto no se elimina tan fácilmente como el hierro y a grandes cantidades resulta tóxico para el organismo. Por lo tanto, resulta interesante sustituir parcial o

totalmente el dopamiento con este elemento por otras partículas no metálicas como el nitrógeno o el carbono que también resultan eficaces. Estas deben introducirse en los espacios intersticiales de la red y, por lo tanto, su adición deberá hacerse a unas condiciones de temperatura y presión más elevadas [19].

Para su aplicación biomédica, además de sus propiedades volumétricas, magnéticas y cristalinas, es necesario tener en cuenta otros parámetros como la carga superficial y la lipofilia, que van a limitar su capacidad de penetración en tejidos o atravesamiento de barreras como la barrera hematoencefálica (BHE).

c) Carga superficial

Una partícula magnética está compuesta de cargas positivas y negativas que se anulan entre sí, pero aun así quedarán polos libres en la superficie. Son estos los que definen la carga superficial neta. Se sabe que las IONPs cargadas negativa o positivamente se internalizan en tejidos más rápidamente que las neutras al interactuar con la carga de la membrana celular. La carga superficial jugará un papel muy importante y se verá fuertemente influenciada por el medio. Hay que fijarse en dos parámetros: el punto de carga cero (PCZ), que es el valor de pH para el que la densidad de carga superficial es nula y cuyo valor debe situarse entre 3 y 8; y el potencial Z (ζ) cuyo signo y valor da idea de la estabilidad coloidal de las nanopartículas. Para considerarlo estable debe situarse en $\zeta < -30$ mV ó $\zeta > +30$ mV [5] [14].

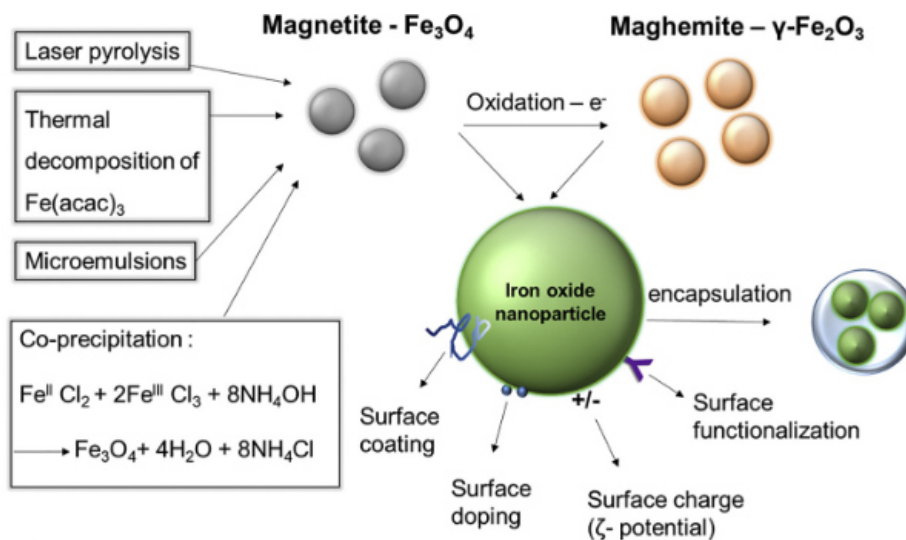


Figura 3. Descripción de los principales métodos de formación de los núcleos metálicos y las principales modificaciones superficiales que pueden sufrir [20].

5.2. Nanopartículas de oro (AuNPs)

5.2.1. Propiedades fisicoquímicas y síntesis

El oro es un metal que, debido a su naturaleza, resulta biocompatible. Los 3 tipos principales de nanopartículas de oro que se pueden sintetizar se observan en la Figura 4. Según su tamaño, forma y propiedades físicas tenemos las nanoesferas de oro (*gold nanospheres*), los nanocilindros de oro (*gold nanorods*) y las nanocápsulas de sílice-oro (*silica-gold nanocapsules*).

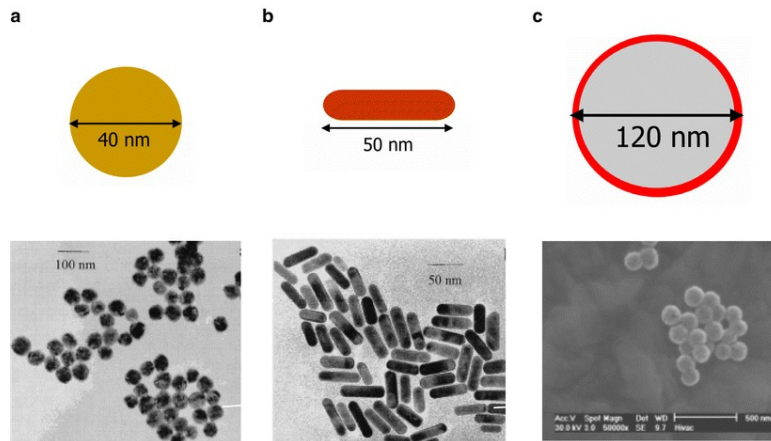


Figura 4. Principales tipos de nanopartículas de oro representados de forma esquemática y mediante una imagen tomada por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Se observa a) nanosferas de oro, b) nanocilindros de oro y c) nanocápsulas de oro-sílice [21].

➤ Nanosferas de oro

Son las más desarrolladas. Su tamaño entre 2-100 nm les permite una buena acumulación en tumores, aunque no tengan una gran tasa de penetración [22]. Su pico de absorción de luz se sitúa entre 510-550 nm, aunque el incremento del tamaño de la partícula permite una onda de frecuencia más larga [23].

Para su fabricación se parte de una baja concentración de un soluto de un complejo o sal metálica, un agente reductor y una agente estabilizante, que evita la agregación. Será importante la relación oro/reductor (citrato o tiol) y la velocidad con la que se añada [23]. Así, las dos técnicas más desarrolladas para conseguir formas esféricas son:

a) Método de Turkevich

Se lleva a cabo en medio acuoso. Se basa en la oxidación de citrato de sodio a dicarboxiacetona, que lleva a la reducción del cloruro de oro, de Au^{3+} a Au^{1+} . Para la nucleación debe establecerse un complejo multimolecular intermedio, condicionado por la velocidad de la degradación de la carboxiacetona que se va descomponiendo a altas temperaturas. También se puede hacer a temperatura ambiente utilizando rayos ultravioletas. A mayor proporción de ácido cítrico respecto a oro, menor será el diámetro de las nanopartículas [24].

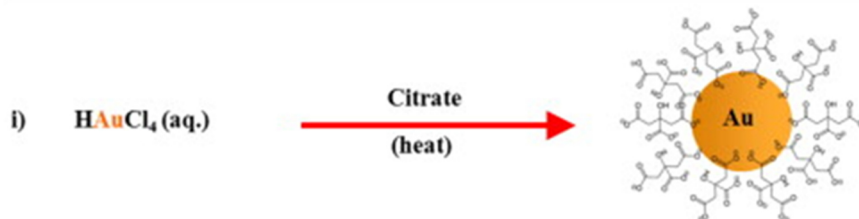


Figura 5. Principales reactivos empleados en el método de Turkevich [25].

b) Método de Brust-Schiffrin

Si se quiere obtener una nanopartícula más pequeña, se sintetizan en fase orgánica por este otro método basado en una reducción directa del catión metálico. Primero, el bromuro de tetrabutilamonio (TOAB) transfiere el oro de un medio orgánico a inorgánico.

Después, la adición de ligandos orgánicos como los tioles adsorben estos cationes en el llamado autoensamblaje molecular, que evita su agrandamiento. A mayor proporción de tiol respecto al oro más pequeñas y monodispersas serán las partículas [24].

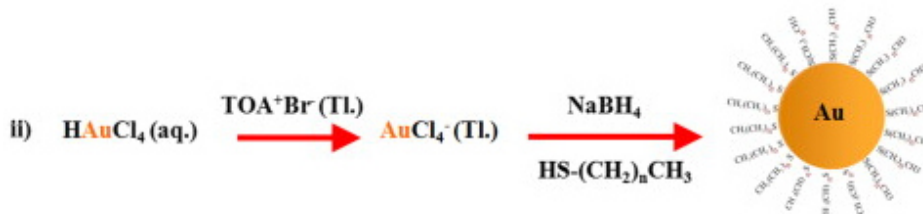


Figura 6. Principales reactivos empleados en el método de Brust-Schiffrin [25].

➤ Nanocilindros de oro

La síntesis de nanocilindros de oro se lleva a cabo por un método patrón de deposición electroquímica del oro en los poros de membrana de aluminio o policarbonato nanoporoso. El diámetro del cilindro se controla por el diámetro del poro de la membrana mientras que su longitud se controla por la cantidad de oro depositada. También puede sintetizarse por el método de Turkevich, pero para conseguir la polarización de las esferas en cilindros se requiere el uso de un surfactante. El más usado es el bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) pero, debido a su potencial toxicidad, se ha de eliminar con una centrifugación con PEG. Los nanocilindros consiguen un tiempo de semivida y una mayor eficiencia fototermal que las nanoesferas [20].

➤ Nanocápsulas de sílice-oro

Para la fabricación de estas nanopartículas se deben preparar núcleos de sílice, que son los que determinarán el tamaño del nanomaterial y después, deberán recubrirse con una capa de oro de espesor variable, que es la que determinará la dureza de este. El pico de absorción de luz de estas nanopartículas es en el infrarrojo cercano (700-900nm), pero el tamaño y la dureza de la nanopartícula harán variar este espectro [23].

El núcleo de sílice se prepara mediante el método de Stöber, que consiste en una reducción básica de tetraetil-ortosilicato en etanol. Posteriormente, se añaden nanopartículas de oro de pequeño tamaño (2-4 nm) y, utilizando un silano con radicales amínicos, se consigue su reducción y fijación en el núcleo de sílice. Se está estudiando la utilización de otras sustancias como núcleo como por ejemplo el microgel, que consigue reducir la agregación [23].

5.2.2. Funcionalización

Debido a su alta constante dieléctrica, la conjugación de otras moléculas sobre la superficie de las AuNPs es sencilla. En la mayoría de los casos es recomendable añadir una capa de recubrimiento de PEG de al menos 5000 g/mol de peso molecular, para así evitar el ataque por las células fagocíticas durante unas horas, lo que aumenta su estabilidad y semivida plasmática. En este caso la técnica de dopamiento no ha dado buenos resultados [22].

Las AuNPs han demostrado ser una alternativa interesante a las IONPs debido a su reducida citotoxicidad (el oro ya se utiliza como tratamiento en la artritis reumatoide), sus parámetros superficiales fácilmente optimizables, su estabilidad y su biocompatibilidad en condiciones *in vivo* [22].

5.3. Nanotubos de carbono (CNTs)

5.3.1. Propiedades fisicoquímicas

Los CNTs están formados por una lámina de grafeno enrollada en forma de tubo. El grafeno está constituido por átomos de carbono ordenados con un patrón hexagonal regular, formando una estructura muy resistente. Como se observa en la Figura 7, los nanotubos pueden estar formados por solo una lámina enrollada (*single-walled*, SWCNT) teniendo un diámetro de 0,4-2 nm, o varias (*multi-walled*, MWCNT) teniendo un diámetro de 2-100 nm. En general, los MWCNTs han demostrado absorber con mayor eficacia la radiación infrarroja debido a su mayor cantidad de electrones libres y su mayor peso metálico, lo que puede reducir la cantidad de ondas NIR administradas respecto a los SWCNTs [26].

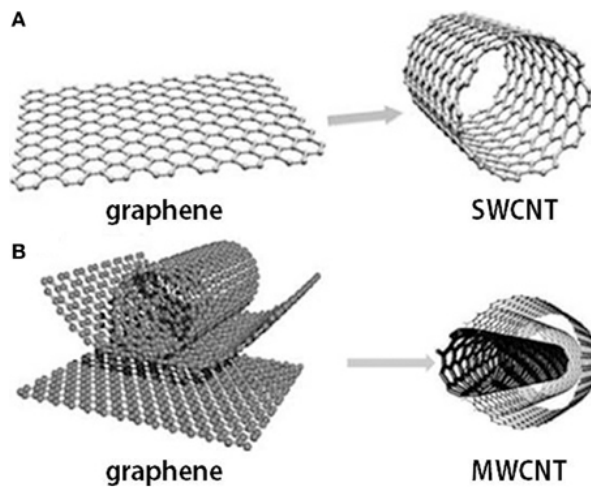


Figura 7. Representación de la estructura hexagonal del grafeno y cómo se forma un SWCNT (A) o un MWCNT (B) en función de las láminas que se utilicen [27].

5.3.2. Síntesis

La deposición química de vapor (CVD) se muestra como la técnica más eficiente en su síntesis. Se parte de un catalizador que se construye disolviendo nitrato de hierro y nitrato de cobalto en una sílice mesoporosa MCM-41. La síntesis se lleva a cabo depositando etileno en el catalizador y calentando a 750°C en una atmósfera de nitrógeno, con una posterior purificación ácida con ácido fluorhídrico [28].

5.3.3. Funcionalización

Es muy corriente que se produzca el dopamiento de estas estructuras con nitrógeno, ya que demuestra un incremento notable en la estabilidad farmacocinética y permite una posterior funcionalización más sencilla con otras biomoléculas.

La ventaja de estos materiales es que tienen señales de espectroscopía Raman muy altas respecto a las AuNPs. En esta técnica se mide la dispersión de la luz, obteniendo el espectro de las vibraciones específicas de una molécula determinada. Esto facilitaría la monitorización de las nanopartículas en el organismo. Por ello, podrían ser también interesantes en el diagnóstico por imagen. Sin embargo, su utilización se prevé todavía limitada debido a su baja solubilidad y dispersión, su posible toxicidad y sus efectos secundarios en el sistema inmunológico que se comentarán más adelante, además de un coste muy elevado [29].

5.4. Mecanismos de vectorización

La vectorización se basa en la capacidad de las nanopartículas para acumularse preferente en el tejido tumoral (donde se produce el proceso hipertérmico) y reducir los efectos colaterales en tejidos adyacentes. Se distinguen dos tipos:

5.4.1. Vectorización pasiva

Por un lado, la vectorización pasiva se justifica por el efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR) [17]. Este fenómeno observable en la Figura 8 se basa en que algunas sustancias (como es el caso de las nanopartículas) se extravasan con mayor facilidad en los tejidos tumorales que en los tejidos sanos. Esto es debido a que las masas de tejido tumoral proliferan muy velozmente, y esto provoca también un crecimiento muy irregular y una menor densidad de su sistema vascular. Así, se han creado espacios intersticiales muy grandes que aumentan mucho la permeabilidad vascular. No obstante, las células endoteliales de los capilares que irrigan tejidos normales están más juntas, teniendo una permeabilidad más discreta [30].

Sin embargo, ciertos tejidos como el hígado, el bazo y la médula ósea, debido a su fisiología, tienen grandes discontinuidades en su red vascular, por lo que las nanopartículas también se acumularán preferentemente en ellos. Esto puede suponer un efecto aditivo si recae en ellos la patología, o colateral y tóxico si esta recae sobre otro órgano.

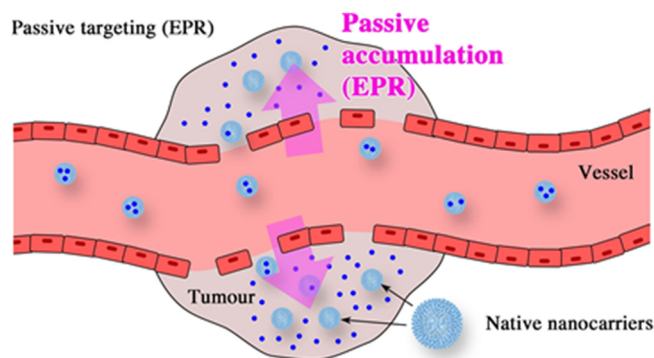


Figura 8. La angiogénesis que conlleva la formación de una masa tumoral es menos eficaz que la normal. Se formarán espacios entre las células endoteliales que las nanopartículas aprovecharán para atravesar [31].

5.4.2. Vectorización activa

Por otro lado, la vectorización activa consiste en la funcionalización de las nanopartículas con biomoléculas como el ácido fólico, péptidos como un anticuerpo y proteínas de choque térmico (HSP) u otros ligandos que puedan ser reconocidos por receptores específicos de las células diana. Como muestra la Figura 9, en adición al efecto EPR, las proteínas de la membrana de estas células reconocen específicamente estas moléculas y son solo internalizadas por el tejido u órgano sobre el que se quiere actuar. En este caso, también se produce una reducción de los efectos sistémicos que pueden resultar citotóxicos para otras células [8] [30].

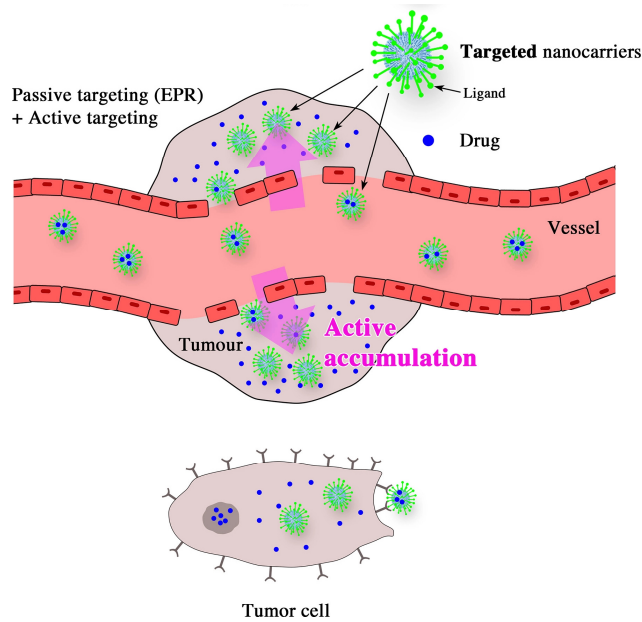


Figura 9. La funcionalización de las nanopartículas con marcadores tumorales permite su reconocimiento y liberación específica en la zona en adición al efecto EPR [31].

Cuando las células sanas se transforman en cancerosas sufren varias modificaciones metabólicas. Una de las principales es el efecto Warburg, por el cual estas células necesitan una mayor cantidad de glucosa (incluso 200 veces mayor que las células normales). Esto es debido a que en vez de producir energía principalmente por la vía aerobia mitocondrial, catabolizan la glucosa preferiblemente en el citosol por la vía fermentativa anaerobia, mucho menos eficaz. Es más, se ha demostrado el incremento del transportador GLUT1 en muchos tumores, que es el que utiliza la glucosa mayoritariamente para internalizarse en las células. Por todo esto, se está empezando a hacer estudios experimentales con IONPs recubiertos de 2-desoxiglucosa para conseguir un efecto vectorizante [32].

5.5. Investigaciones clínicas de aplicación de la hipertermia en terapia oncológica

Como se ha comentado anteriormente, las nanopartículas han mostrado gran eficacia en la reducción de masa tumoral en modelos *in vitro* y murinos. Como demostración de la traslacionalidad de esta investigación, a continuación, se detallarán ejemplos de éxitos científicos que establecen las bases para posibles aplicaciones en la clínica humana.

5.5.1. Hipertermia en tumores externos y localizados

En primer lugar, se probó la técnica en tumores subcutáneos localizados, como puede ser el carcinoma epidermoide de la piel [33]. Para su tratamiento, se inyectaron SWCNTs PEGilados por vía intratumoral en modelos murinos con estas masas tumorales y se aplicó radiación infrarroja a 785 nm durante 45 días. Al cabo de este periodo en la mayoría de estas ratas el tumor se había hecho impalpable. A diferencia de aquellas ratas a las que les fueron administradas solo las nanopartículas, solo el láser o ninguno de los dos, en las que la masa tumoral continuó desarrollándose. Como se observa en la Figura 10, tras monitorizar el aumento de temperatura local de la masa tumoral en diferentes grupos, se concluyó que la presencia o mayor concentración de SWCNTs provoca un mayor incremento de temperatura. Este aumento está directamente relacionado con la rapidez y eficacia del tratamiento [33].

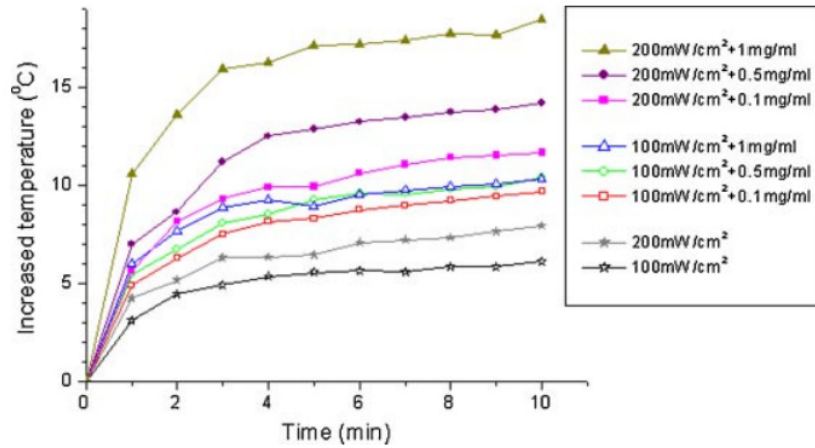


Figura 10. Aumento de la temperatura del tumor según la intensidad del láser aplicado y la concentración de nanopartículas administrado en cada grupo [33].

Posteriormente, se mostró también una eficacia similar mediante su administración intravenosa en tumores localizados en modelo murino. Sin embargo, aún debe perfeccionarse en otros tipos de cáncer más extendidos para garantizar una buena seguridad [34].

5.5.2. Hipertermia en sitios de difícil acceso

Debido a la barrera hematoencefálica, muchos fármacos son incapaces de pasar a nivel cerebral a concentraciones terapéuticas y provocan gran toxicidad sistémica. Esto hace especialmente interesante la potencial utilización de esta tecnología en gliomas malignos como el glioblastoma, que suelen ser resistentes a quimioterapia y radioterapia [20].

En un trabajo publicado por G. Rego y colaboradores se evaluó la eficacia de la hipertermia utilizando IONPs recubiertas de aminosilano. Para ello, se realizó un estudio *in vivo* en ratones, a los que les fue implantado tejido tumoral en el córtex frontal derecho combinado con enzimas luciferasa. Esto permitió evaluarlos con imagen por bioluminiscencia antes y 21 días después del tratamiento con hipertermia magnética. La Figura 11 muestra que la viabilidad celular de estas células marcadas se redujo un 52% después del tratamiento [35].

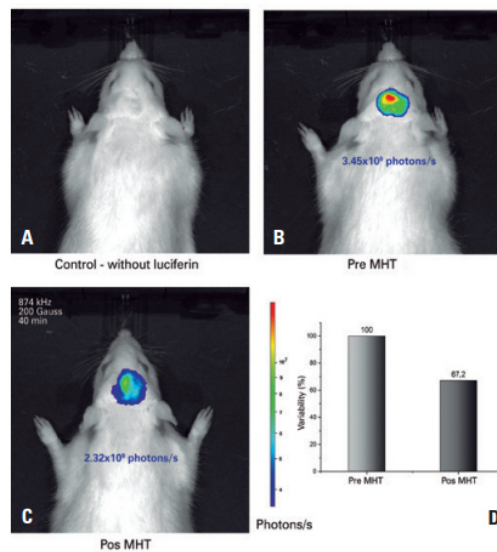


Figura 11. Imágenes de la señal fotoluminiscente obtenida en uno de los ratones del ensayo. Los colores cálidos indican una mayor intensidad (mayor densidad celular) que los fríos [35].

5.5.3. Coadyuvante en la resistencia a quimioterápicos

El paclitaxel (PTX) es un antineoplásico de la familia de los taxanos que actúa uniéndose a la tubulina y produciendo una hiperestabilización microtubular, que causa un tipo de muerte celular llamada *mitotic catastrophe*. Esta consiste en la formación de micronúcleos por una desregulación en la degradación de las ciclinas B, que lleva a la apoptosis. Este fármaco se utiliza en el tratamiento de muchos carcinomas ováricos, de mama y de pulmón [36].

En al menos la mitad de los pacientes se observa un mecanismo de resistencia por el que las células quedan en “bloqueo mitótico”. Sin embargo, Giovinazzi descubrió que una respuesta de choque térmico suficiente (hipertermia fisiológica) lleva a la misma respuesta apoptótica en estas células resistentes [36]. Por ello, se quiso experimentar la respuesta ante el tratamiento con el paclitaxel, la hipertermia externa y la hipertermia con SPIONs (solas y en combinación) en células *in vitro* de pacientes con adenocarcinoma de mama PTX-resistentes y PTX-sensibles.

Después del tratamiento, las células fueron tratadas con bismencemida y las imágenes obtenidas en la prueba de fluorescencia se analizaron contando el número de células y su forma nuclear. La Figura 12 muestra, como resultado destacable, la ausencia de un efecto terapéutico de la hipertermia con SPIONs por sí sola, pero una disminución notable de células viables en asociación a paclitaxel (la asociación a hipertermia externa también se mostró ineficaz a dosis terapéuticas) [36].

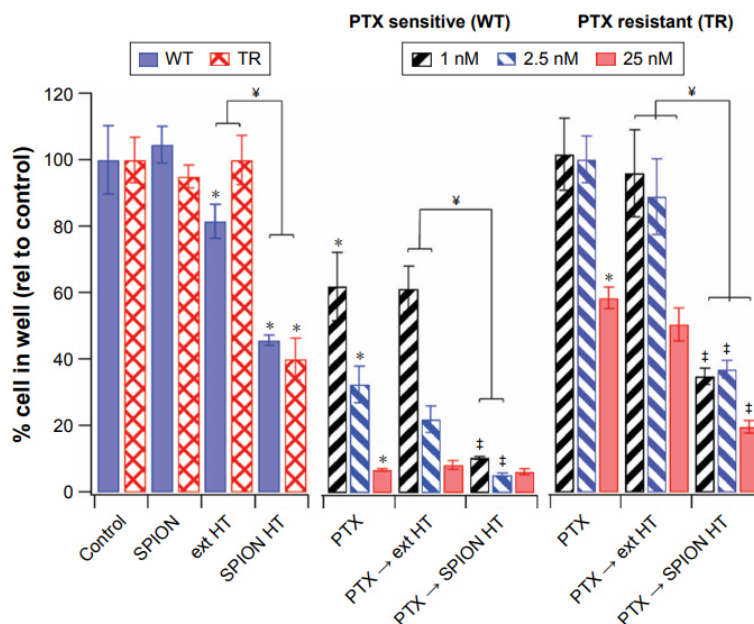


Figura 12. A la izquierda se muestra la diferencia de viabilidad celular entre el control y las terapias con SPIONs, hipertermia y SPIONs + hipertermia en tumores sensibles (WT) y resistentes (TR) al paclitaxel. A la derecha se compara la reducción de la viabilidad celular con el tratamiento con paclitaxel en estos tumores a diferentes dosis y en combinación con hipertermia e hipertermia + SPIONs [36].

5.5.4. Sensibilización de células madre cancerosas

Se cree que el origen de muchos tumores son las llamadas células madre cancerosas (*cancer stem cells*, CSC) [37]. Atacando estas células, se inhibiría el progreso del tumor, reduciendo su

potencial metastásico. Sin embargo, estas resultan resistentes ante muchos quimioterápicos y complican la clínica. Es el caso del metotrexato, que actúa inhibiendo la enzima polimerasa II y como agente intercalante del ADN, lo que induce rupturas en este que generan apoptosis. Es también uno de los tratamientos indicados para el melanoma, pero la inespecificidad de estas células con sus marcadores-CSC impiden su reconocimiento por el fármaco.

Se quiso probar la combinación de AuNPs + microondas y metotrexato en un cultivo celular *in vitro* de este tejido tumoral (melanoma). El objetivo es incrementar la penetración del agente quimioterápico y provocar un daño coadyuvante mediante terapia hipertérmica. Los resultados presentados en la Figura 13 fueron concluyentes, mostrando que el tratamiento dual tiene efectos en la reducción de la tasa de supervivencia celular del tejido tumoral de la piel e infiriéndose que se consigue un mayor ataque a CSCs [37]. Estudios en condiciones similares para el osteosarcoma han mostrado resultados parecidos [38].

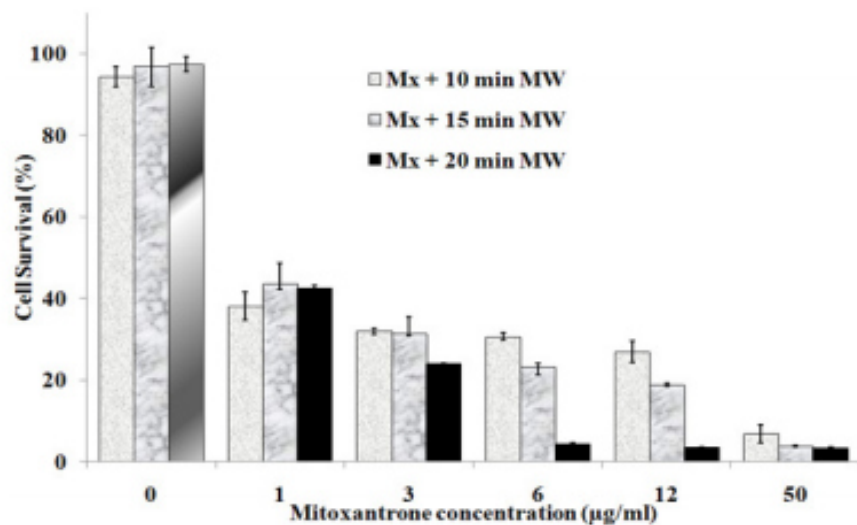


Figura 13. Comparación del porcentaje de supervivencia celular de la terapia combinada de metotrexato y AuNP-HT a diferentes dosis de fármaco y tiempos de exposición a la hipertermia [37].

5.5.5. Hipertermia a altas temperaturas: Termoablación

Esta técnica consiste en aplicar temperaturas más altas que la hipertermia, entre 46 y 56°C. La aplicación de este protocolo terapéutico se ha mostrado controvertida debido a sus efectos necróticos colaterales en células sanas adyacentes [4]. Para ello, se realizó un estudio *in vivo* en ratones con cáncer renal en el que se veían los efectos a largo plazo de usar MWCNTs con una aplicación de láser NIR. El tratamiento mostró efectividad reduciendo el volumen y el tamaño del tumor. A pesar de que meses después era visible una mancha negra subcutánea en el lugar de la inyección debido a la acumulación de los nanotubos, los órganos adyacentes no se mostraban subfuncionalizados ni inflamados. La masa tumoral se mostró inalterada en los ratones del grupo control, tratados solo con NIR o solo con MWCNTs [26].

Esta técnica solo se puede aplicar en tumores superficiales que no impliquen penetración tisular tóxica, ya que la forma de administración es siempre intratumoral [26].

5.6. Otras aplicaciones de las nanopartículas en el campo oncológico

5.6.1. Nanopartículas como agentes de contraste en MRI

La nanotecnología también ha mostrado utilidad en el campo diagnóstico como agentes de contraste en imagen por resonancia magnética (MRI). Las nanopartículas con esta aplicación pueden dividirse en tres grupos según sus propiedades magnéticas [39]:

- Medios de contraste T1: Generan un contraste positivo (iluminación) acortando el tiempo de relajación longitudinal de las moléculas de agua. Destacan los agentes moleculares a base de gadolinio como el ácido gadopentético.
- Medios de contraste T2: Generan un contraste negativo (obscuración) al acortar el tiempo de relajación transversal de los protones del agua. En esta categoría se encuentran las SPIONs y USPIONs.
- Agentes tipo CEST (transferencia por saturación de intercambio químico): Intercambian sus protones presaturados por los del agua y son fácilmente activables y desactivables con pulsos de radiofrecuencia, por lo que también pueden considerarse de contraste negativo. Entre estos tenemos el H_2O_2 y el NH_3 , que deberán ser vehiculizados por otras nanopartículas como liposomas o micelas.

Nos centraremos en las IONPs, que han mostrado gran utilidad *in vivo*. El Feridex® (SPION recubierto de dextrano) fue uno de los primeros aprobados en clínica para la detección de células hepáticas lesionadas. [39]. Las células hepáticas malignas no poseen células de Kupffer fagocíticas, que en condiciones normales internalizarían la nanopartícula reduciendo la señal negativa. Así, estas zonas malignas se muestran más iluminadas en el MRI. Otra aplicación probada *in vivo* es el seguimiento de cómo migran las células madre neurales inyectadas en tumores cerebrales, aunque aún se observan fuertes efectos colaterales [39].

Por otro lado, tenemos el Ferumoxtran-10® (USPION recubierto de dextrano) que se quiere emplear en la identificación de nódulos linfáticos malignos. Después de administrarse por vía intravenosa, pasan a los nódulos linfáticos sanos produciendo una ausencia de señal en el T2-MRI, mientras que los malignos no son capaces de incorporarlos. Pretende ser una alternativa a la tradicional detección por disección quirúrgica, aunque aún se encuentra en ensayos clínicos al presentar una tasa alta de falsos positivos [39].

5.6.2. Nanopartículas como transportadores en *smart drug delivery systems* (SDDS)

Una potencial aplicación de la anteriormente nombrada vectorización activa es la adhesión de un agente quimioterápico a la superficie de la nanopartícula, actuando este como vehículo portador del fármaco y constituyendo un verdadero sistema específico de liberación en el mismo tumor o SDDS. La eficacia del tratamiento aumenta y los efectos citotóxicos sistémicos se ven reducidos [17].

Por ejemplo, se ha comprobado que al unir trastuzumab, un anticuerpo monoclonal que se une específicamente al receptor tipo 2 del factor de crecimiento epidermoide humano (HER2) sobreexpresado en tumores de ovario, a la superficie de SPIONs de magnetita, se consigue un reconocimiento más específico por las células ováricas, aumentando la internalización del fármaco en este tejido [8].

5.6.3. Inmunomodulación

Esta es una de las aplicaciones menos estudiadas. Se pretende modificar las nanopartículas para que puedan producir un efecto inmunosupresor, que sería deseable en enfermedades autoinmunes, reacciones alérgicas desmesuradas o aceptación de trasplantes; o bien un efecto inmunoestimulador, que sería deseable para una respuesta vacunal efectiva o para que se produzca la llamada respuesta inmune anticancerígena. El papel del sistema inmunitario en el receso de procesos oncológicos es fundamental. Los pacientes no deben mantener unos niveles leucocitarios demasiado bajos en los que no se alcance esta respuesta (como ocurre en las pancitopenias causadas por una quimioterapia muy agresiva) [40] [41].

En cuanto a las nanopartículas estudiadas, en modelo murino se han notificado variaciones en la producción de prostaglandinas, en la capacidad de procesamiento antigénico de las células T o en la estimulación de diferentes interleuquinas, que han llevado a situaciones de inmunosupresión. Estos informes son más recurrentes en los CNTs, menos en las AuNPs y aislados en las IONPs y deben ser corregidos antes de su comercialización para garantizar la seguridad y efectividad del tratamiento [41].

6. CONCLUSIONES

La hipertermia se presenta como una herramienta prometedoras en la lucha contra el cáncer por las numerosas investigaciones que la avalan. Así, se vislumbra una terapia alternativa a las monoterapias convencionales mediante agentes quimioterápicos o radioterapia, que se han mostrado ineficaces ante algunas modalidades de cáncer. Esto es debido a la resistencia celular o taquifilaxia que pueden adquirir estos tejidos o a la dificultad de acceso que puede tener el fármaco por la presencia de barreras fisiológicas o por una baja irrigación.

La principal ventaja de la utilización de nanopartículas en terapia es su gran multifuncionalidad y flexibilidad. Su superficie es fácilmente optimizable mediante la adición de ligandos biomoleculares o poliméricos y esto le permite, además de como tratamiento hipertérmico, un abanico de aplicaciones, como agentes de vectorización de otros fármacos, como agentes de contraste en imagen por diagnóstico e incluso como inmunomoduladores.

Los resultados obtenidos en laboratorio muestran indudablemente un freno en el progreso tumoral y los métodos de síntesis empleados obtienen un grado de pureza muy alta. Sin embargo, la necesidad de ciertos reactivos y condiciones termodinámicas la hacen muy costosa y aún inviable a nivel industrial (especialmente en el caso de los nanotubos de carbono). Además, presentan algunos defectos técnicos como su difícil mantenimiento y monitorización de la temperatura deseada y cierta heterogeneidad en su distribución por el organismo. Es crucial mantener unos niveles estables y uniformes dentro de la masa tumoral para que el tratamiento sea efectivo y no cause efectos adversos. Además, aún debe perfeccionarse una completa biocompatibilidad de las nanopartículas para que su administración intravenosa tenga una capacidad invasiva mínima y no resulte en una generación inespecífica de calor en otras partes del cuerpo.

La comercialización y utilización de nanopartículas en el diagnóstico como Feridex® ya está en marcha. Seguramente en los próximos años se logrará optimizar estos inconvenientes y se integrarán también como una opción en el tratamiento de algunas patologías.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] P. Boisseau y B. Loubaton, «Nanomedicine, nanotechnology in medicine,» *Comptes Rendus Physique*, vol. 12, nº 7, pp. 620-636, 2011.
- [2] B. Issa, I. M. Obaidat, B. A. Albiss y Y. Haik, «Magnetic nanoparticles: surface effects and properties related to biomedicine applications,» *International journal of molecular sciences*, vol. 14, nº 11, pp. 21266-21305, 2013.
- [3] P. Kaur, M. L. Aliru, A. S.Chadla, A. Asea y S. Krishnan, «Hyperthermia using nanoparticles - Promises and pitfalls,» *International Journal of Hyperthermia*, vol. 32, nº 1, pp. 76-88, 2016.
- [4] C. S. Kumar y F. Mohammad, «Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery,» *Advanced drug delivery reviews*, vol. 63, nº 9, pp. 789-808, 2011.
- [5] H. R. Moyer y K. A. Delman, «The role of hyperthermia in optimizing tumor response to regional therapy,» *International Journal of Hyperthermia*, vol. 24, nº 3, pp. 251-261, 2008.
- [6] F. D'Agata, F. A. Ruffinatti, S. Boschi, I. Stura, I. Rainero, O. Abollino, R. Cavalli y C. Guiot, «Magnetic nanoparticles in the central nervous system: targeting principles, applications and safety issues,» *Molecules*, 23(1), 9, vol. 23, nº 1, pp. 9-33, 2018.
- [7] A. Jordan, P. Wust, H. Fähling, W. John, A. Hinz y R. Felix, «Inductive heating of ferrimagnetic particles and magnetic fluids: physical evaluation of their potential for hyperthermia,» *International journal of hyperthermia*, vol. 25, nº 7, pp. 499-511, 2009.
- [8] A. L. Cortajarena, D. Ortega, S. M. Ocampo, A. Gonzalez-García, P. Couleaud, R. Miranda y A. Ayuso-Sacido, «Engineering iron oxide nanoparticles for clinical settings,» *Nanobiomedicine*, vol. 1, nº Godište 2014, pp. 1-2, 2014.
- [9] P. Ruiz Briones, «Nanopartículas magnéticas para tratamiento y diagnóstico de cáncer,» *Universidad Complutense de Madrid*, p. 3, 2019.
- [10] D. A. Cruz, C. M. Rodríguez, J. M. López, V. M. Herrera, A. G. Orive y A. H. Creus, «Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda,» *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol. 3, nº 2, pp. 67-68, 2012.
- [11] C. Martín Sánchez, «Efecto del sustrato en la resonancia plasmónica de nanopartículas de oro,» *Universidad de Cantabria*, p. 8, 2017.
- [12] Y. Xia y D. J. Campbell, «Plasmons: why should we care?,» *Journal of chemical education*, vol. 84, nº 1, pp. 91-96, 2007.
- [13] J. F. Hainfeld, M. J. O'Connor, P. Lin, L. Qian, D. N. Slatkin y H. M. Smilowitz, «Infrared-transparent gold nanoparticles converted by tumors to infrared absorbers cure tumors in mice by photothermal therapy,» *PloS one*, vol. 9, nº 2, 2014.
- [14] A. A. Belanova, N. Gavalas, Y. M. Makarenko, M. M. Belousova, A. V. Soldatov y P. V. Zolotukhin, «Physicochemical properties of magnetic nanoparticles: implications for biomedical applications in vitro and in vivo,» *Oncology research and treatment*, vol. 41, nº 3, pp. 139-143, 2018.
- [15] C. Grüttner, K. Müller, J. Teller y F. Westphal, «Synthesis and functionalisation of magnetic nanoparticles for hyperthermia applications,» *International Journal of Hyperthermia*, vol. 29, nº 8, pp. 777-789, 2013.
- [16] G. Zhang, Y. Liao y I. Baker, «Surface engineering of core/shell iron/iron oxide nanoparticles from microemulsions for hyperthermia,» *Materials Science and Engineering*, vol. 30, nº 1, pp. 92-97, 2010.
- [17] A. L. B. Seynhaeve, M. Amin, D. Haemmerich, G. C. van Rhooen y T. L. M. Ten Hagen, «Hyperthermia and smart drug delivery systems for solid tumor therapy,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. in press, 2020.
- [18] J. Dulińska-Litewka, A. Łazarczyk, P. Hałubiec, O. Szafranski, K. Karnas y A. Karewicz, «Superparamagnetic iron oxide nanoparticles—Current and prospective medical applications,» *Materials*, vol. 12, nº 4, p. 617, 2019.
- [19] D. Cao, L. Pan, J. Li, X. Cheng, Z. Zhao, J. Xu y Q. Liu, «Investigation on the structures and magnetic properties of carbon or nitrogen doped cobalt ferrite nanoparticles,» *Scientific reports*, vol. 8, nº 1, pp. 1-9, 2018.
- [20] L. L. Israel, A. Galstyan, E. Holler y J. Y. Ljubimova, «Magnetic iron oxide nanoparticles for imaging, targeting and treatment of primary and metastatic tumors of the brain,» *ournal of Controlled Release*, vol. 320, pp. 45-62, 2020.

- [21] X. Huang, P. K. Jain, I. H. El-Sayed y M. A. El-Sayed, «Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles,» *Lasers in medical science*, vol. 23, nº 3, p. 219, 2008.
- [22] H. Park, D. J. Lim, J. B. Vines, J. H. Yoon y N. E. Ryu, «Gold nanoparticles for photothermal cancer therapy,» *Frontiers in chemistry*, vol. 7, p. 167, 2019.
- [23] W. Cai, T. Gao, H. Hong y J. Sun, «Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology,» *Nanotechnology, science and applications*, vol. 1, pp. 17-32, 2008.
- [24] P. Zhao, N. Li y D. Astruc, «State of the art in gold nanoparticle synthesis,» *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 257, nº 3-4, pp. 638-665, 2013.
- [25] R. González Antón, «Síntesis de nanopartículas de oro funcionalizadas con 1-dodecanotiol en un sistema bifásico. Desarrollo de sensores electroquímicos,» *Universidad de Valladolid*, p. 40, 2016.
- [26] A. Burke, X. Ding, R. Singh, R. A. Kraft, N. Levi-Polyachenko y H. C. Hatcher, «Long-term survival following a single treatment of kidney tumors with multiwalled carbon nanotubes and near-infrared radiation,» *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, nº 31, pp. 12897-12902, 2009.
- [27] R. Vidu, M. Rahman, M. Mahmoudi, M. Enachescu, T. D. Poteca y I. Opris, «Nanostructures: a platform for brain repair and augmentation,» *Frontiers in systems neuroscience*, vol. 8, nº 91, p. 3, 2014.
- [28] J. Verma, S. Lal y C. J. V. Noorden, «Nanoparticles for hyperthermic therapy: synthesis strategies and applications in glioblastoma,» *International journal of nanomedicine*, vol. 9, pp. 2863-2877, 2014.
- [29] R. Singh y S. V. Torti, «Carbon nanotubes in hyperthermia therapy,» *Advanced drug delivery reviews*, vol. 65, nº 15, pp. 2045-2060, 2013.
- [30] E. Alphandéry, «Biodistribution and targeting properties of iron oxide nanoparticles for treatments of cancer and iron anemia disease,» *Nanotoxicology*, vol. 13, nº 5, pp. 573-596, 2019.
- [31] M. F. Attia, N. Anton, J. Wallyn, Z. Omran y T. F. Vandamme, «An overview of active and passive targeting strategies to improve the nanocarriers efficiency to tumour sites,» *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 71, nº 8, p. 1188, 2019.
- [32] D. Barbaro, L. Di Bari, V. Gandin, C. Evangelisti, G. Vitulli, E. Schiavi y P. Salvadori, «Glucose-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles prepared by metal vapour synthesis are electively internalized in a pancreatic adenocarcinoma cell line expressing GLUT1 transporter,» *PLoS ONE*, vol. 10, nº 4, 2015.
- [33] N. Huang, H. Wang, J. Zhao, H. Lui, M. Korbelik y H. Zeng, «Single-wall carbon nanotubes assisted photothermal cancer therapy: Animal study with a murine model of squamous cell carcinoma,» *Lasers in surgery and medicine*, vol. 42, nº 9, pp. 798-808, 2010.
- [34] H. S. Huang y J. F. Hainfeld, «Intravenous magnetic nanoparticle cancer hyperthermia,» *International journal of nanomedicine*, vol. 8, pp. 2521-2532, 2013.
- [35] G. N. de Albuquerque Rego, J. B. Mamani, T. K. F. Souza, M. P. Nucci, H. R. da Silva y L. F. Gamarra, «Therapeutic evaluation of magnetic hyperthermia using Fe₃O₄-aminosilane-coated iron oxide nanoparticles in glioblastoma animal model,» *Einstein (São Paulo)*, vol. 17, nº 4, pp. 1-9, 2019.
- [36] A. Rivera-Rodriguez, A. Chiu-Lam, V. M. Morozov, A. M. Ishov y C. Rinaldi, «Magnetic nanoparticle hyperthermia potentiates paclitaxel activity in sensitive and resistant breast cancer cells,» *International journal of nanomedicine*, vol. 13, pp. 4771-4779, 2018.
- [37] A. Shanej, A. Sazgarnia, E. Dolat, L. Hojaji-Najafabadi, M. Sehhati y M. Baradaran-Ghahfarokhi, «Dual function of gold nanoparticles in synergism with mitoxantrone and microwave hyperthermia against melanoma cells,» *Asian Pacific journal of cancer prevention (APJCP)*, vol. 18, nº 11, pp. 2911-2917, 2017.
- [38] F. H. Ghahremani, A. Sazgarnia, M. H. Bahreyni-Toosi, O. Rajabi y A. Aledavood, «Efficacy of microwave hyperthermia and chemotherapy in the presence of gold nanoparticles: an in vitro study on osteosarcoma,» *International Journal of Hyperthermia*, vol. 27, nº 6, pp. 625-636, 2011.
- [39] X. Mao, J. Xu y H. Cui, «Functional nanoparticles for magnetic resonance imaging,» *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, vol. 8, nº 6, pp. 814-841, 2016.
- [40] A. Rodallec, G. Sicard, R. Fanciullino, S. Benzekry, B. Lacarelle, G. Milano y J. Ciccolini, «Turning cold tumors into hot tumors: harnessing the potential of tumor immunity using nanoparticles,» *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, vol. 14, nº 11, pp. 1139-1147, 2018.
- [41] Q. Jiao, L. Li, Q. Mu y Q. Zhang, «Immunomodulation of nanoparticles in nanomedicine applications,» *BioMed research international*, vol. 2014, pp. 1-19, 2014.