

¹Pablo Romero-Morelos, ¹Raúl Peralta-Rodríguez,
¹Mónica Mendoza-Rodríguez, ¹Alejandra Valdivia-Flores,
²Daniel Marrero-Rodríguez, ¹Lucero Paniagua-García,
¹Jade Rodríguez-Cabral, ¹Miriam Parra-Melquiádez,
¹Mauricio Salcedo-Vargas

¹Laboratorio de Oncología Genómica, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Distrito Federal, México

²Ingeniería Tisular y Medicina Regenerativa, Laboratorio de Genómica Funcional, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua, México

La nanotecnología en apoyo a la investigación del cáncer

Comunicación con: Mauricio Salcedo-Vargas
Tel: (55) 5627 6900, extensión 22706
Correo electrónico: maosal89@yahoo.com

Resumen

Recientemente los avances tecnológicos se han incrementado enormemente, haciendo posible el desarrollo de la nanotecnología, que se encarga del diseño de estructuras y materiales en el orden de los nanómetros, y que en los últimos años se ha convertido en uno de los más importantes campos de vanguardia que integran ciencias como la física, química, ingeniería y biología. Sin embargo, su integración con la biología, trae como consecuencia el nacimiento de una nueva ciencia llamada nanobiotecnología, que tiene por campo de estudio dominante a la nanomedicina, con el objetivo de realizar un diagnóstico o pronóstico molecular más preciso, todo encaminado a la mejora de los procesos diagnósticos y terapéuticos, así como a la creación de nuevos fármacos dirigidos a la medicina personalizada. Por otra parte, en la investigación médica las nanopartículas son las herramientas de mayor uso y las más frecuentemente utilizadas para el diagnóstico molecular. Las nanopartículas de oro, las nanopartículas paramagnéticas y los *quantum dots*, pueden ser empleadas para el diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas las neoplásicas; los *quantum dots* son los más prometedores.

Palabras clave

nanotecnología
nanomedicina
puntos cuánticos
neoplasias

Summary

Recently, technological advances have greatly increased, generating the development of the nanotechnology, which is responsible for the design of structures and materials in the nanometer scale. This creates one of the most important cutting-edge sciences integrating the physics, chemistry, engineering and biology sciences. Specifically the integration with biology, results in a new science called nanobiotechnology, which has as a goal, the nanomedicine, mainly looking for a more precise molecular diagnostic and prognostic processes, as well as the new design of drugs in the personalized medicine field. On the other hand, at molecular level in the medical research, the nanoparticles are the most commonly used as tools, while in the molecular diagnostics are the gold nano particles, paramagnetic nanoparticles and *quantum dots*, which can be used for diagnosis and treatment of several diseases including cancer diseases. *Quantum dots* are the most promising tools for diagnosis and therapy in cancer research.

Key words

nanotechnology
nanomedicine
quantum dots
neoplasms

Recientemente, los avances tecnológicos se han incrementado a pasos colosales, teniendo con ello dispositivos de mayor calidad y eficiencia, además de ser cada vez más pequeños (miniturización): las memorias USB (conductor universal en serie o *universal serial bus*), pantallas de LED (diodo emisor de luz o *light-emitting diode*), discos duros externos o incluso los aparatos reproductores de mp3 (MPEG-1 Audio Layer 3), a pesar de que cada vez son más pequeños, su capacidad

de almacenaje y fidelidad cada vez son mayores. Sin embargo, todos estos avances no hubieran sido posibles sin la llegada de la llamada nanotecnología, que hace posible la creación de estos aparatos tan finos.

Esta disciplina se dedica al diseño de estructuras o materiales del orden nanométrico, pues, como su nombre lo indica, nano (del latín *nano*, enano) se refiere a una milmillonésima parte de la unidad, por tanto, todos estos dispositivos han

sido diseñados con la integración de las nanoestructuras creadas por la nanotecnología.

Ahora bien, históricamente, el primer concepto sobre nanotecnología fue presentado en 1959, por Richard Feynman en su obra *Hay bastante espacio en el fondo (There's plenty of room at the bottom)*,¹ donde menciona que esta disciplina trata sobre las diferentes estructuras de la materia con dimensiones del orden nanométrico, además de que aunque la palabra nanotecnología es relativamente nueva, ésta ha existido desde el origen mismo de la vida, pues los organismos desde su aparición han utilizado dispositivos y estructuras funcionales en escalas nanométricas, por lo que realmente la nanotecnología no es tan nueva como parece.²

Por otro lado, en los últimos años, la nanotecnología se ha convertido en uno de los más importantes y excitantes campos de vanguardia que integran ciencias como la física, química, ingeniería y biología, y resulta promisoria en el sentido de que en un futuro cercano proporcionará muchos avances que cubrirán los logros tecnológicos en un amplio campo de aplicaciones. Sin embargo, no fue hasta 1996 que varias agencias organizaron un estudio para evaluar el estado actual de las tendencias en el mundo sobre la investigación y el desarrollo de las nanociencias y la nanotecnología. Las recomendaciones detalladas provocaron un compromiso por parte de diferentes gobiernos de proveer un mayor financiamiento (figura 1) y de establecer una iniciativa nacional en nanotecnología. La primera recomendación que se hizo fue que los materiales han sido o pueden ser nanoestructurados para obtener nuevas propiedades o aplicaciones novedosas. La segunda recomendación fue el reconocimiento de la necesidad por la integración de una gran variedad de disciplinas que contribuyan al desarrollo en la nanotecnología, pues la naturaleza interdisciplinaria de este campo dificulta que investigadores de un área puedan entender y desarrollar aspectos en otra área, tal como señaló acertadamente Feynman en 1960: "los sistemas biológicos han estado produciendo dispositivos funcionales nanométricos desde el inicio de la vida y falta mucho que aprender de la biología sobre cómo construir dispositivos nanoestructurados".²

Así pues, los biólogos han operado desde hace tiempo a nivel molecular, en el rango de los nanómetros (DNA, proteínas, etcétera.) a los micrómetros (células). Por ello, el estudio de las entidades subcelulares ha sido considerado como nanobiología; en otros términos, la integración de la biología con otras ciencias para el diseño y aplicación de la nanotecnología con el objetivo de dirigir y explotar nuevos procesos, trae como consecuencia el nacimiento de una nueva ciencia llamada *nanobiotecnología*, la cual provee de herramientas y plataformas tecnológicas para la investigación y transformación de los sistemas biológicos. Así entonces, podemos decir que el primer ejemplo de sistemas nanobiotecnológicos fue la producción de proteínas recombinantes y la tecnología del DNA recombinante, que puede ser aplicada en la maquinaria ribosomal de las células vivas para producir y diseñar proteínas tanto *in vivo* como

in vitro para diferentes objetivos, que van desde la elaboración de tratamientos específicos (insulina producida para los pacientes con diabetes) hasta la modificación genética de organismos con importancia económica (transgénicos).¹

Cabe mencionar que en el desarrollo de la nanobiología existen dos grandes enfoques para la creación de nanoestructuras: *bottom-up* (abajo hacia arriba) y *top-down* (arriba hacia abajo). El enfoque *bottom-up* explota los procesos y estructuras biológicas para crear nuevos materiales funcionales biotecnológicos para diferentes aplicaciones. Este enfoque integra disciplinas como la ciencia de los materiales, química inorgánica, ingeniería química, bioquímica y biología molecular; un ejemplo de este enfoque es la forma en la que trabajan las subunidades ribosomales dentro del retículo endoplásmico rugoso, las cuales ensamblan aminoácidos para construir complejos proteicos, que al ensamblarse formarán los tejidos que a su vez formarán los órganos y sistemas de un organismo. Por otra parte, en el enfoque *top-down*, la nanobiología aplica herramientas y procesos de la nano/micro fabricación para construir nanoestructuras y nanodispositivos a partir de materiales grandes, pudiéndose lograr esto mediante una técnica llamada litografía, que es la misma con la cual se construyen los llamados microarreglos de Affymetrix® para la detección de secuencias de ADN en un dispositivo de pequeñas dimensiones. Utilizando estos dos enfoques en los sistemas biológicos podremos disponer de un mayor entendimiento en aquellos procesos de interés, logrando así diversas aplicaciones para la nanobiología en combinación con las ciencias genómicas, proteómicas y farmacéuticas, siendo la nanomedicina el campo principalmente dominante de la nanobiología.^{1,2}

Ahora bien, nos referimos a la nanomedicina como la aplicación de la nanobiología en la medicina con objetivo de realizar un diagnóstico o pronóstico molecular más preciso. Todo esto encaminado a la mejora de los procesos diagnósticos y terapéuticos, además de la creación de nuevos fármacos dirigidos a la medicina personalizada, auxiliándose con diversos ensayos experimentales como los nanoarreglos y la utilización de biomarcadores, así como el uso de los datos arrojados por la proteómica y la genómica (figura 2a). No obstante, la medicina moderna aún está limitada por sus conocimientos y herramientas de tratamiento y fue hace solo 50 años que la medicina comenzó a buscar las bases moleculares de las enfermedades, sin embargo, gracias a los avances en la nanobiología ya existen plataformas en las cuales apoyarse, como los sistemas nanomecánicos y la tecnología de las nanopartículas, de tal forma las nanotecnologías desempeñan un importante papel para el entendimiento y reconocimiento de las diversas enfermedades que aquejan a la población mundial.^{1,3}

Actualmente, en la investigación médica a nivel molecular son las nanopartículas las herramientas de mayor uso, existiendo gran variedad de éstas, sin embargo, las nanopartículas más frecuentemente utilizadas para el diagnóstico molecular son las nanopartículas de oro, nanopartículas paramagnéticas y los

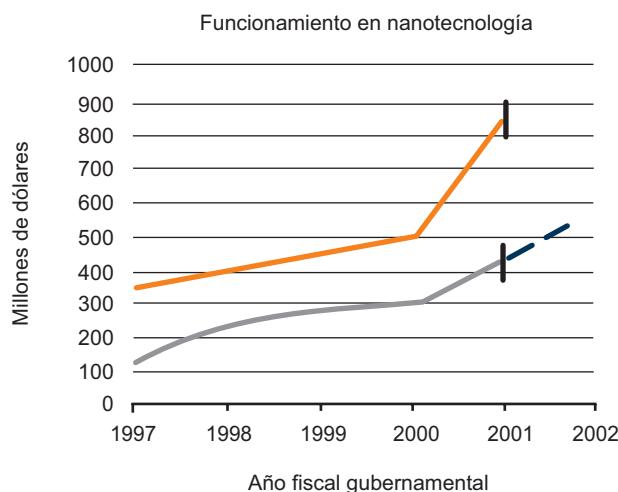


Figura 1 Financiamiento anual de las investigaciones sobre nanotecnología. El trazo inferior indica los gastos del gobierno de Estados Unidos. La línea discontinua representa los gastos propuestos para 2002. El trazado superior indica el gasto de otros gobiernos (tomado de Poole y Owens, 2007)

quantum dots; las primeras, que tienen una dimensión de 13 nm, pueden ser conjugadas con cadenas simples de ADN o anticuerpos, siendo este método un agente de contraste basado en la capacidad de estas partículas para dispersar la luz visible, siendo detectadas por medio de tomografía fotoacústica; mientras que las nanopartículas paramagnéticas consisten en partículas de 50 a 10 nm, las cuales pueden ser conjugadas con anticuerpos o nucleótidos y son visualizadas por medio de resonancia magnética o con tomografía computarizada. Los *quantum dots*, nanocrstales semiconductores fluorescentes con diámetro de 1 a 10 nm y con alrededor de 200 a 10 000 átomos, y que producen luminiscencia de color diferente dependiendo de su tamaño (figura 2b) debido a los efectos de confinamiento cuántico, proveen un gran potencial para su uso en varias aplicaciones en la investigación, manejo y tratamiento de diversas enfermedades, por lo que son las nanopartículas de mayor interés actualmente.³⁻⁶

Quantum dots

Los *quantum dots* constituyen una aplicación relativamente madura de la nanotecnología, y han dado lugar a láseres de punto cuántico que actualmente se utilizan para leer los discos compactos y que pertenecen a una nueva clase de marcadores luminiscentes que superan las limitaciones de los marcadores orgánicos convencionales (luciferasa, proteína verde fluorescente, etcétera) utilizados para la detección de moléculas objetivo dentro y fuera de las células, *in vivo* o *in vitro*. Estas nanopartículas que están compuestas por un núcleo y una cubierta

inorgánicos, y que pueden tener una capa orgánica para su estabilización en solución acuosa (figura 2c), son las nanopartículas de interés para el estudio de sus aplicaciones en el diagnóstico molecular por las características señaladas.^{2,4,6}

Ahora bien, para comprender el funcionamiento de los *quantum dots* es necesario mencionar que las características de las estructuras nanométricas se deben principalmente al efecto de sus dimensiones espaciales, pues cuando se reduce continuamente el tamaño de un material, desde dimensiones grandes o macroscópicas —de un metro o un centímetro— hasta las más pequeñas, inicialmente las propiedades se mantienen iguales y después comienzan a aparecer ligeros cambios; finalmente, cuando el tamaño cae por debajo de los 100 nm, aparecen variaciones bruscas en sus propiedades.⁹

Por lo tanto, si se reduce una dimensión a un orden nanométrico, mientras que las otras dos dimensiones se mantienen grandes, obtenemos una estructura que se conoce como pozo cuántico; pero si son dos las dimensiones las que se reducen, mientras la tercera se mantiene grande, la estructura resultante se llama alambre o hilo cuántico (por ejemplo los nanotubos de carbono y el ADN); entonces, en el caso extremo de este proceso de reducción de tamaños, en el cual se reducen las tres dimensiones al orden nanométrico, podemos obtener una partícula que se conoce como *quantum dot* o punto cuántico.

Los *quantum dots* están formados por materiales semiconductores, pues las mejores propiedades fluorescentes de estas nanopartículas las poseen aquellas que están construidas con los elementos de los grupos II y IV de la tabla periódica (CdSe y CdTe), los de los grupos II y V (InP e InAs) o de tres elementos (CdTeSe), debido a las características de estos materiales, principalmente por su capacidad para confinarse y por ello que presenten las características ópticas mencionadas.⁶

Respecto al confinamiento cuántico, se indica que cuando un material llega a las dimensiones nanométricas, los electrones de conducción (de superficie o del último nivel energético) no están deslocalizados ni se mueven libremente, sino que estos electrones están restringidos en su movimiento, lo cual es causado por un fenómeno de electrón-hueco llamado excitón.⁸

Así pues, el excitón se refiere a que un electrón negativo común y un electrón positivo llamado positrón, separados entre sí por una distancia r en el espacio libre, experimentan una fuerza de atracción llamada fuerza de Coulomb. En un semiconductor, el electrón se encuentra en la banda de conducción y el hueco, en la banda de valencia que presenta una carga positiva y, por ende, se experimenta una fuerza de atracción de tipo Coulomb, en tal caso, un excitón posee las propiedades de una partícula, ya que es móvil y lo que es más importante, exhibe espectros ópticos característicos, esto es dado por el radio de la partícula y el radio del excitón, existiendo un corrimiento a la longitud de onda correspondiente al azul cuando el radio de la partícula es más pequeño que el radio del excitón (figura 2b).^{2,6}

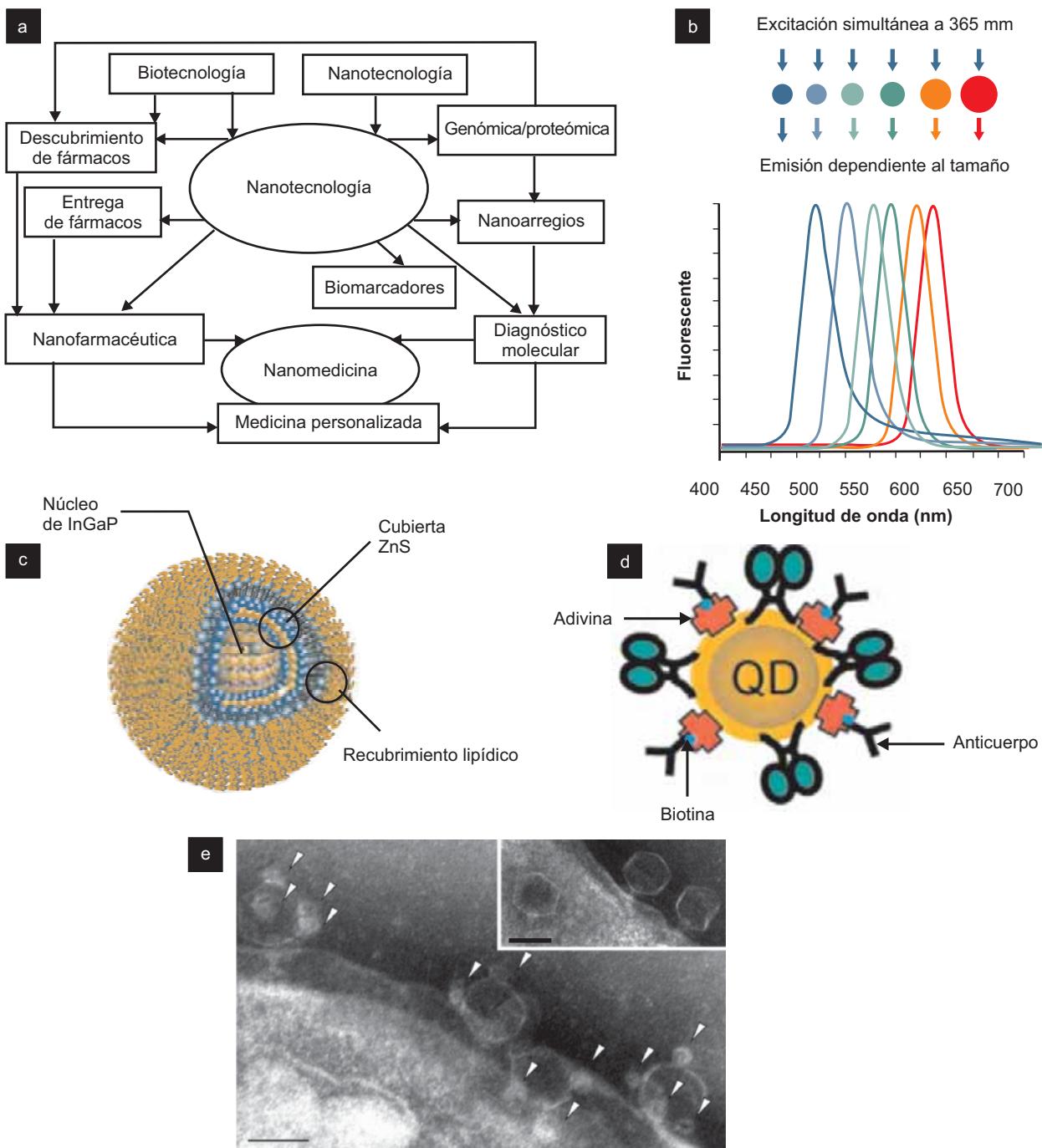


Figura 2 Nanotecnología y *quantum dots*. a) Relación entre la biotecnología, nanotecnología y medicina (tomado de Jain 2007). b) Longitudes de ondas emitidas por los *quantum dots* dependiendo de su tamaño, exitadas a una misma longitud de onda (tomado de <http://www.aist.go.jp/>). c) Representación esquemática de un *quantum dot* con núcleo de InGaP, una cubierta inorgánica de ZnS y un recubrimiento lipídico para su estabilización en solución acuosa (tomado de <http://www.azonano.com>). d) Representación esquemática de *quantum dot* conjugado con avidina y su interacción con anticuerpos conjugados con biotina, los cuales se enlanzan con la avidina del *quantum dot* (tomado de Goldman y colaboradores, 2002). e) Bacteriófagos con estreptavidina y *quantum dots* unidos a pared celular de *Escherichia coli*. Las triángulos blancos señalan a los *quantum dots*. La imagen superior muestra a fagos no conjugados con *quantum dots* (escala de la línea negra, 50 nm) (tomado de Edgar et al. 2006)



Figura 3 | Avances en la investigación sobre *quantum dots* (Qd) de enero de 1987 a diciembre de 2009

Por otro lado, en el desarrollo de las nanopartículas, aunque diferentes grupos de los laboratorios Bell e IBM fabricaron el primer pozo cuántico bidimensional a principios de la década de 1970, no fue sino hasta una década después, con la aparición de métodos apropiados para la fabricación de nanoestructuras, cuando tuvo lugar un incremento notable de la actividad de la investigación y se alcanzó un apreciable número de resultados. Sin embargo, en el rubro de los *quantum dots* no fue sino hasta 1987 que las investigaciones dirigidas al desarrollo de estas nanopartículas comenzaron a aparecer (figura 3), y después de 1998 que por primera vez se mencionó la posible aplicación de estas nanoestructuras dentro de la biotecnología, buscando así la capacidad de estos dispositivos para ser conjugados con biomoléculas para una detección ultrasensible de las mismas, no obstante, en el inicio del siglo XXI es cuando se comenzaron a aplicar estas nanopartículas en ensayos inmunológicos y de hibridación fluorescente *in situ*, siendo estos estudios los pioneros en la utilización de *quantum dots* en aplicaciones biológicas, siguiendo con ello en los próximos años un importante incremento en este tipo de aplicaciones.¹

Un dato interesante es que en 2002 se propuso la utilización de la avidina, una glicoproteína con una alta afinidad de secuestro por la biotina, para lograr una bioconjugación con cualquier tipo de biomolécula conjugada con biotina (figura 2d).^{2,9} En tanto que para 2007 fue cuando las investigaciones sobre este campo se incrementaron de manera importante.

Gracias a las investigaciones anteriores, los *quantum dots* pueden ser usados en un amplio rango de aplicaciones biológicas, pues una de sus grandes propiedades es su capacidad para ser modificados con un extenso número de moléculas para la optimización de sus funciones y sus aplicaciones particulares, así estas nanopartículas pueden ser utilizadas para el marcaje y localización de proteínas y otras biomoléculas así como de células de interés. Sin embargo, al ser compuestos por metales pesados y tóxicos como el cadmio y el arsénico, pueden provocar

cierto daño si se usan *in vivo*; además, otra de las aparentes limitaciones de los *quantum dots* utilizados *in vivo* es la autofluorescencia de algunos tejidos como el intestino y la piel, o la no penetración de luz a algunos órganos. Dichas limitaciones han sido resueltas por diversos investigadores, quienes han construido *quantum dots* que fluorescen con el infrarrojo cercano (700-1000 nm), lo cual hace a estas nanoestructuras atractivas para la imagen *in vivo*. No obstante, debido a su composición y algunos reportes de toxicidad, el uso potencial de los *quantum dots* en seres humanos es aún limitado. En un estudio realizado en 2005, Rieger y colaboradores mencionaron que se puede inyectar arriba de 10^8 *quantum dots* en embriones de pez cebra sin aparentes daños en el desarrollo o malformaciones durante el proceso de embriogénesis,¹⁰ pero a pesar de estos datos, la utilización de estas estructuras *in vivo* aún se encuentra en proceso.^{4,5}

Los *quantum dots* en la medicina

Como se observa en el cuadro I, y como ya fue mencionado, las aplicaciones de los *quantum dots* han sido ampliamente estudiadas, lo cual nos brinda una mayor idea de cómo es que estas nanopartículas pueden ser empleadas en diversos análisis, logrando con esto un aumento tanto en la velocidad y sensibilidad de cada uno de los ensayos que con éstas se combinan.

Dentro del área biomédica, Edgar y colaboradores en 2006¹¹ mencionaron que el número y la diversidad de bacteriófagos (virus que infectan a bacterias) en el ambiente proveen de una poderosa y específica herramienta de detección bacteriana, y ya que los fagos infectan selectivamente a cierto tipo de bacteria, éstos pueden ser conjugados con los *quantum dots* y así realizar detecciones más precisas de las bacterias a las que infectan, lo cual nos brinda de un poderoso instrumento para realizar estudios de calidad de agua, o simplemente para detectarlas en muestras orgánicas de pacientes.¹²

Anteriormente la detección de un pequeño número de bacterias en el ambiente o en muestras clínicas requerían un paso de amplificación, lo cual se refiere a crecer la bacteria en un medio de cultivo para incrementar el número de células, por lo que el tiempo de detección bajo este procedimiento se prolonga considerablemente (de días a semanas), especialmente para bacterias de crecimiento lento. Actualmente en ensayos con fagos en combinación con los *quantum dots*, el tiempo de “amplificación” se reduce, pudiendo haber una detección a los 45 minutos de iniciado el ensayo, haciendo a este tipo de pruebas más precisas y confiables, pues cada bacteria puede ser infectada rápidamente por 10 a 1000 fagos conjugados, haciendo así evidente la presencia o ausencia de la bacteria de interés en un tiempo relativamente corto (figura 2e). Con este tipo de aplicaciones tendríamos la oportunidad de detectar más rápida y oportunamente a bacterias de interés antropocéntrico como en las enfermedades gastroenteríticas, salmonelosis, shigelosis,

Cuadro I | **Quantum dots en la investigación biológica (tomado de Iga et al 2007)**

Autor	Síntesis	Biofuncionalización	Bioconjugación	Bioaplicación
Zhou	Cubierta ZnS	Capa de polímeros anfífilicos funcionales con ácidos carboxílicos y aminas	Ligandos peptídicos	Selectividad de superficie celular e imagenología de moléculas
Tortiglione	Cubierta ZnS	Capa de polímero anfílico funcional con diamino PEG	Glutatonia (GSH)	Biomarcaje de <i>Hydra vulgaris</i>
Selvan	Quantum dots magnéticos de Fe ₂ O ₃ -CdSe (sin cubierta)	Silicanización con grupos amino en la superficie	Éster oleil-O-poli (etilenglicol) succinil-N-hidroxisuccinimidil	Detección de membrana celular para marcaje e imagen de células vivas
Kampani	Cubierta ZnS	Recubrimiento con polietilenglicol éter (PEG)	Complejo biotina-estreptavidina	Ánálisis cuantitativo de uniones virales en células humanas
Medintz	Cubierta ZnS	Péptido hexahistidínico unido con thiol	Oligonucleótido de ADN	Ánálisis genéticos
Albuquerque de Farías	CdS/Cd(OH) ₂ (sin cubierta)	Enlaces a glutaraldehído	Anticuerpos monocionales antiA	Biomarcaje de eritrocitos humanos
Gao	Cubierta ZnS	Ácido mercaptoacético con albúmina de suero bovino recubiertos para incrementar el rendimiento cuántico y para proveer de grupos funcionales thiol y amina	Ninguna	Potencial para sensibilidad molecular
Wolcott	Cubierta de sílica	PEG y thiol con biolinkers	Proteínas de inmunoglobulina G	Biomarcaje e imagenología
Tan	Cubierta ZnS	Quitosano	Anticuerpo del receptor 2 del factor de crecimiento epidermal humano	Transporte de ARN
Parungo	Cubierta inorgánica de CdSe	Fosfinas oligoméricas	Ninguno	Espacio pleural y mapeo de ganglios linfáticos
Van Tilborg	Cubierta ZnS	Lípidos paramagnéticos	Anexina A5 humana	Detección multimodal de células apoptóticas
Jaiswal	Cubierta ZnS	Ácido dihidrolipoico (DHLA)	Avidina o anticuerpo AntiP	Imagen a largo plazo de células vivas
Dubertret	Cubierta ZnS	Fosfolípidos	ADN	Marcaje de embriones de <i>xenopus</i>
Bharali	Cubierta ZnS	Ácido mercaptoacético	Ácido fólico	Imagenología de células vivas
Wu	Cubierta ZnS	Polímeros anfílicos	Estreptavidina o anticuerpo antiHer2	Etiquetar al marcador de cáncer Her2

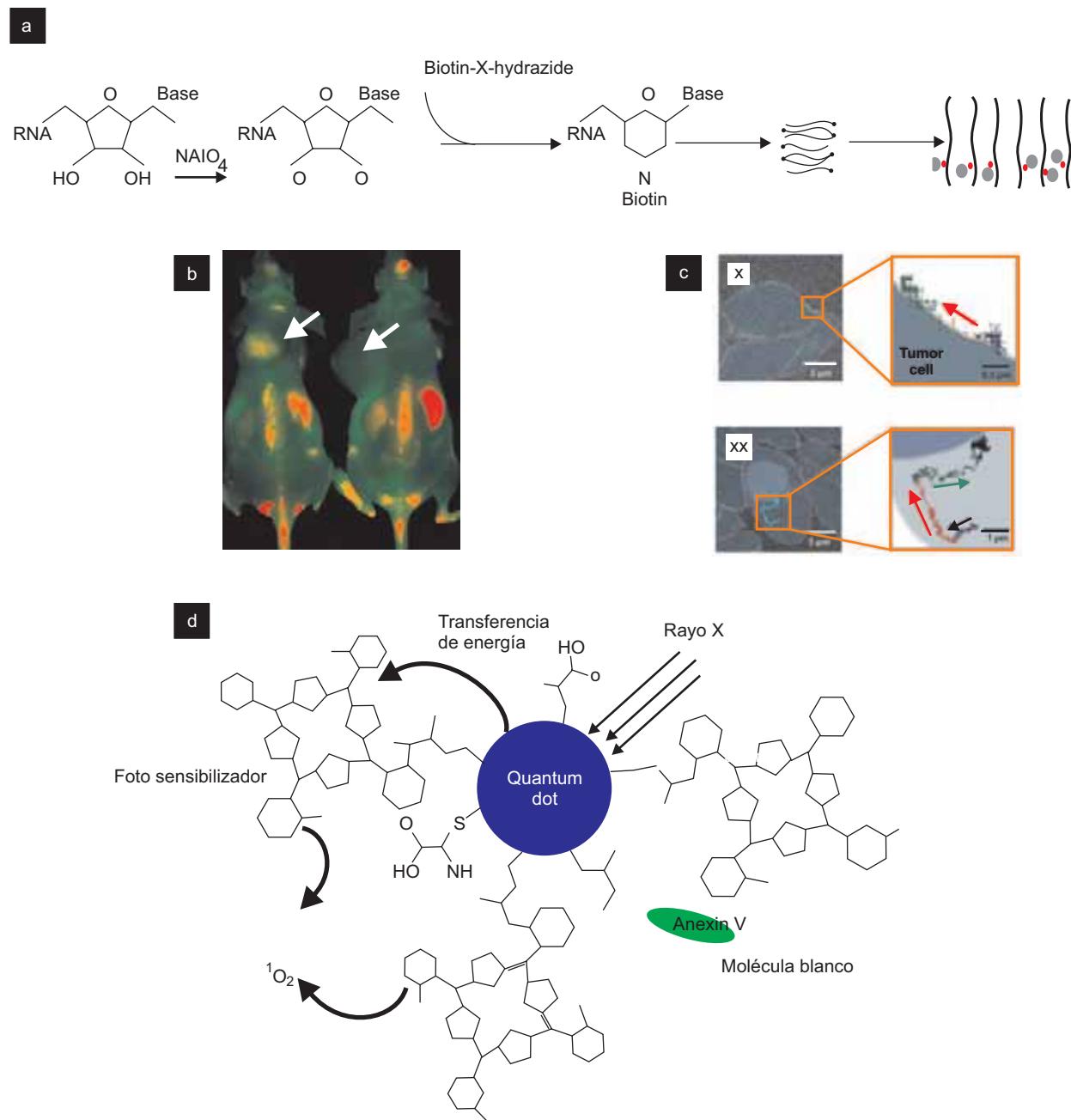


Figura 4 Aplicaciones de los *quantum dots*. a) Representación esquemática de marcaje de RNA con *quantum dots*, donde en primer lugar se trata el RNA con peróxido de sodio para oxidar la región 3' terminal en dialdehido, posteriormente se le agrega biotina-X-hidrazida para la biotinilación del oligonucleótido, al cual una vez biotinizado se le añadirán los *quantum dot* previamente conjugados con estreptavidina o avidina para el marcaje total del oligonucleótido (tomado de Ru-Qiang, 2005). b) Imagen *in vivo* de formación de vasos sanguíneos tumorales (angiogénesis tumoral) con *quantum dots* por medio de la proteína integrina $\alpha_v\beta_3$. La autoflorescencia del ratón se muestra en color verde, la señal del *quantum dot* se muestra en color rojo y los tumores están señalados por las flechas blancas (tomado de Cai y Chen, 2008). c) Trayectoria de *quantum dot*-trastuzumab extracelularmente y su unión con el receptor de membrana HER2 (X), su posterior internalización en la célula tumoral y su trayectoria hasta la región perinuclear (XX) (tomado de Tada, 2007). d) Representación esquemática de nanopartícula para radioterapia, la cual es excitada con un rayo X, transfiriendo la energía a un fotosensibilizador porfirínico para la formación oxígeno singulete, el cual es una especie reactiva de oxígeno que provoca daños en las células tumorales (tomado de Juzenas, 2008)

fiebre de Malta, amibiasis, enfermedades respiratorias por *Pseudomonas*, neumococos, estafilococo dorado, influenza, otras enfermedades infecciosas por micobacterias, o enfermedades parasitarias como el dengue, paludismo, malaria, tripanosomiasis, etcétera.¹³

Por otro lado, las aplicaciones de estas nanopartículas no solo se limitan a la detección bacteriana o patógena, sino que también pueden ser utilizados para la detección de ácidos nucleicos (ADN o ARN), y con esto realizar la identificación de enfermedades hereditarias o genéticas.¹⁴

Asimismo, la reacción en cadena de la polimerasa, que consiste en hacer miles de copias de un fragmento de ADN (nuestra fotocopiadora molecular), ha sido utilizada rutinariamente para la detección y cuantificación de ácidos nucleicos, sin embargo, hay un gran número de complicaciones al aplicar la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, como la contaminación que induce la aparición de falsos positivos, lo cual puede ser resuelto al aplicar otro tipo de técnicas, como la detección de una sola molécula por medio de la utilización de los *quantum dots*, lo que hace posible una ultrasensible detección sin una amplificación por reacción en cadena de la polimerasa, como lo mencionan Chun-Yang y colaboradores, al haber demostrado que es posible una detección rápida y sensible de ácidos nucleicos con *quantum dots*, donde se utilizan cadenas simples de ADN o ARN biotiniladas complementarias a la cadena de interés y posteriormente conjugadas con *quantum dots* (figura 4a), técnica aplicable para cualquier organismo vivo.^{13,14}

Investigación, diagnóstico y tratamiento del cáncer

El cáncer es el resultado de la acumulación de múltiples alteraciones en genes que regulan el crecimiento celular, así dichas alteraciones en los genes traen consigo alteraciones morfológicas y metabólicas en las células que las presentan, y debido a que muchas de estas alteraciones son extremadamente críticas e irreversibles, se considera de gran importancia la identificación de las mismas. Ahora bien, las técnicas empleadas actualmente para el diagnóstico de cáncer son obtención de imágenes por medio de rayos X, resonancia magnética nuclear o colposcopia, biopsia de tejidos y análisis bioanalítico de fluidos corporales. Sin embargo, dichas técnicas por lo regular no son suficientemente sensibles o específicas para la detección temprana de la mayoría de los tipos de cáncer ni, sobre todo, de las etapas precursoras, además de que los biomarcadores específicos de cáncer, proteínas derivadas de los tumores (por ejemplo el antígeno prostático específico), están presentes en concentraciones muy bajas en los pacientes que los padecen o que son proteínas que normalmente pueden ser detectadas en las células sanas, lo que hace necesaria la preparación previa de la muestra antes del análisis convencional.^{6,15}

Por lo anterior, la integración de la nanotecnología con la biología y la medicina produce mayores ventajas tanto en la biología molecular, la bioingeniería y la clínica para la terapia de esta enfermedad. De tal forma, los avances recientes en nanobiotecnología, los marcadores biológicos específicos, tales como proteínas y ácidos nucleicos, unidos a nanopartículas, resultan ser una herramienta más poderosa y rápida para el diagnóstico de la enfermedad.

Estudios recientes han demostrado que estas nano Herramientas pueden ser usadas en una amplia variedad de aplicaciones en el área oncológica, que van desde la detección de apoptosis (muerte celular programada) hasta la imagen por resonancia magnética, mapeo de ganglios linfáticos o incluso la remoción fototermal de los tumores. Por otro lado, estas nanopartículas nos permiten también observar rutas de señalización celular, así como interacciones célula-célula en los tumores, angiogénesis tumoral (figura 4b) y hasta la capacidad de encontrar células metastásicas en cualquier parte del cuerpo.^{5,16}

Por otra parte, en la identificación de tumores por nanopartículas se han utilizado dos modalidades: la identificación activa y pasiva. La identificación activa consiste en la unión de ligandos o biomoléculas a las nanopartículas, dichas biomoléculas son tumor-específicas, lo cual quiere decir que solo se unirán a las células tumorales, pues generalmente se utilizan anticuerpos específicos que localizan proteínas de membrana. También pueden utilizarse fragmentos de ADN o ARN conocidos que identifiquen la presencia de genes mutados o ARN mensajeros de alguna proteína de interés, lo cual hace posible también la identificación espacial de una sola molécula con precisión nanométrica (figura 4c). La identificación pasiva, por otra parte, toma ventaja de las dimensiones de las partículas y de las propiedades únicas de la vascularización tumoral, ya que los vasos sanguíneos tumorales son distintos de los vasos sanguíneos normales, en especial las células endoteliales de los tumores poseen amplias porosidades que van desde 200 nm hasta 1.2 μ m, por lo que los poros de tamaño grande permiten el paso de las nanopartículas dentro del espacio extravascular y con ello la acumulación de las nanopartículas dentro de los tumores, tal y como fue demostrado por Gao y colaboradores en 2005,¹⁷ quienes pudieron visualizar *quantum dots* no conjugados en un tumor de cáncer de próstata. Sin embargo, a pesar de los resultados obtenidos por este autor, la identificación tumoral activa es mucho más eficiente que la pasiva, debido a la especificidad de identificación de los tumores por medio de la conjugación, como ya fue mencionado.^{7,18-20}

Otra de las ventajas adyacentes del empleo de los *quantum dots* en este tipo de patologías es su potencial uso en la terapia de las mismas, específicamente para la terapia fotodinámica, la cual es una modalidad de tratamiento en la que se usa un fotosensibilizador, que usualmente es un tipo de pigmento porfirínico que localiza preferencialmente a un tejido, seguido a esto, dicha molécula es expuesta a luz visible, y debido a sus características fotosensibles, genera radicales

libres, los cuales son altamente citotóxicos y con ello se provoca la muerte de las células y tejidos objetivo.²¹

La terapia fotodinámica recientemente ha sido aprobada como tratamiento en algunos tipos de cáncer y enfermedades de la piel, y desde la aparición de los *quantum dots* como auxiliares en este tipo de tratamiento, dicha técnica puede ser aún más prometedora, ya que la combinación de estas nanopartículas con la terapia fotodinámica y con sus fotosensibilizadores, permite el uso de longitudes de onda de excitación a las cuales el fotosensibilizador por sí mismo no podría absorber.

Por otro lado, desde el primer reporte de uso médico en 1986, la radioterapia sigue siendo el tratamiento más común y eficiente del cáncer; así entonces, el principio de la radioterapia es la irradiación con longitudes de onda de alta energía (rayos X o rayos gamma) para la destrucción de las células malignas. La radiación puede actuar directamente sobre el objetivo por ionización o excitándolo e iniciar una serie de eventos en cadena que provoquen cambios biológicos y con esto la muerte de las células del tumor; o bien puede hacerlo indirectamente, que es cuando la radiación interactúa con otros átomos o moléculas para producir radicales libres que causen serios daños en las células blanco.

Por lo tanto, las actividades proliferativas, citoestáticas y citolíticas provocadas por la radiación gamma en combinación con nanopartículas metálicas en células cancerosas, resultan ser, parte un nuevo campo de estudio, pues estas nanopartículas metálicas pueden incrementar la eficiencia terapéutica de la radioterapia mediante una selección en la dispersión o absorción de los rayos X o rayos gamma, causando daños localizados en el ADN u otros organelos objetivo de las células cancerosas, y con ello disminuir la radiación total a la que son sometidos los pacientes, minimizando así los efectos de la radiación ionizante en los mismos, haciendo esta técnica aún más eficiente.²¹

Avances en la investigación

Las investigaciones sobre los *quantum dots* han ido incrementándose con el paso del tiempo, de tal forma los *quantum dots* han sido utilizados en una amplia variedad de aplicaciones biológicas y cabe mencionar que su potencial dentro de este ramo aún no está bien explorado, pues falta mucho que aprender sobre cómo utilizar estas nanopartículas dentro de los organismos o en apoyo en la ejecución de otros análisis, así como lo han hecho algunos autores, quienes modifican los protocolos ya existentes para utilizar estas nanoherramientas, tal como lo hicieron, por mencionar algunos ejemplos, Matsuno y colaboradores en 2005,²² al realizar una modificación a la técnica de hibridación *in situ* con microscopio electrónico para examinar la distribución intracelular, así como el papel del RNA mensajero en la síntesis proteica, además de proponer una combinación de la técnica anterior

con inmunohistoquímica y con ello obtener imágenes tanto del mensajero de la proteína de interés como de la misma proteína. Así entonces, estos autores utilizaron *quantum dots* en cada uno de estos ensayos por las características de esas partículas, para lograr una imagen tridimensional y la localización intracelular de la hormona del crecimiento y prolactina con sus mensajeros, con lo cual lograron obtener resultados más sensibles y, sobre todo, reproducibles.

Otro de los ensayos que pueden ser modificados con la aplicación de estas nanopartículas es el ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) indirecto por método del sándwich, el cual consiste en colocar sobre un pozo plástico anticuerpos específicos al antígeno a detectar, y después agregar el antígeno, ya sea en suero sanguíneo, extractos vegetales o purificado, una vez hecho esto, se añade nuevamente un anticuerpo específico, pero ahora éste debe de ser marcado con un fluoróforo, o bien una enzima (β -galactosidasa, fosfatasa alcalina o peroxidasa), y una vez unido este anticuerpo al antígeno, se le añade el sustrato a la enzima, el cual una vez degradado proporcionará un color, dicha degradación puede ser detectada por métodos colorimétricos como la espectrofotometría (figura 4d). Ahora bien, al sustituir en el anticuerpo marcado a la enzima con un *quantum dot* no se necesita agregar ningún sustrato para el revelado de la prueba, sino que ésta es leída por la emisión de la longitud de onda a la que corresponde el nanocrystal empleado.

Como es evidente, el uso de *quantum dots* en el laboratorio se ha incrementado inmensamente, ya sea como herramienta biosensible o para la detección de agentes patógenos, ácidos nucleicos, proteínas o incluso células de interés, y como ha sido corroborado por diversos grupos de investigación, estas nanoherramientas pueden ser incorporadas dentro de las células o en el marcate de los fármacos sin que esto produzca efectos sobre su actividad y función; así, estas nanopartículas pueden ser empleadas para el marcate de células durante etapas del desarrollo y revelar el comportamiento celular durante este proceso y, por otro lado, estas partículas también han sido utilizadas para detectar el transporte *in vivo* de células cancerosas en metástasis. Por lo tanto, el uso de estos nanocrystal provee una gran oportunidad para la identificación simultánea y el estudio de las diversas interacciones que existen entre moléculas o células, ya sea en tejidos sanos o en tejidos con algún tipo de alteraciones, y hasta para la comprensión de cómo es que ciertos patógenos actúan dentro de su hospedero o en un ambiente libre.

Conclusiones

Los actuales avances en la biología molecular, la genética y en la medicina hacen posible un diagnóstico más preciso de muchas de las enfermedades conocidas, la unión de estos avances con las nuevas técnicas apoyadas con nanopartículas promete ser un campo de estudio extremadamente

amplio y promisorio, y no solo nos ayudará a combatir las enfermedades que ya conocemos, sino que también nos auxiliará en el entendimiento y seguimiento de todas aquellas enfermedades que aún no comprendemos, como el cáncer, pues, aunque ya sabemos algunas de sus características, no todos los tipos de cáncer son iguales y no todos actúan de la misma manera. De tal forma, la integración de la medicina con la biología y la nanotecnología resulta de gran importancia para el entendimiento de esta enfermedad y con esto obtener diagnósticos, pronósticos y tra-

tamientos más certeros y menos dañinos para los pacientes que la padecen.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido parcialmente apoyado por los proyectos de Fondos Sectoriales CONACYT 69719 y 87244, como parte del programa del uso de bioconjungados en marcadores en cáncer.

Referencias

1. Sosheyov O, Levy I. Nanobiotechnology bioinspired devices and materials of the future. New Jersey, EUA: Human Press; 2007.
2. Poole CP, Owens FJ. Introduction to nanotechnology. Barcelona, España: Reverté; 2007.
3. Jain KK. Applications of nanobiotechnology in clinical diagnostics. *Clin Chem* 2007;53(11):2002-2009. Disponible en <http://www.clinchem.org/cgi/reprint/53/11/2002.pdf>
4. Iga AM, Robertson JHP, Winslet MC, Seifalian AM. Clinical potential of quantum dots. *J Biomed Biotechnol* 2007;2007(10):76087. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2254660/>
5. Cuenca AG, Jiang H, Hochwald SN, Delano M, Cance WG, Grobmyer SR. Emerging implications of nanotechnology on cancer diagnostics and therapeutics. *Cancer* 2006;107(3):459-466.
6. Douda J, Calva PA, Torchynska TV, Peña Sierra R, de la Rosa-Vázquez JM. Marcadores cuánticos para la detección de cáncer. *Superficies y Vacío* 2008;21(4):10-17.
7. Wu Y, López GP, Sklar LA, Buranda T. Spectroscopic characterization of streptavidin functionalized quantum dots. *Anal Biochem* 2007;364(2):193-203. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2018650/?tool=pubmed>
8. Empedocles SA, Bawendi MG. Quantum-confined stark effect in single CdSe nanocrystallite quantum dots. *Science* 1997;278(5346):2114-2117.
9. Goldman ER, Balighian ED, Mattoussi H, Kuno MK, Mauro JM, et al. Avidin: a natural bridge for quantum dot-antibody conjugates. *J Am Chem Soc* 2002;124(22):6378-6382.
10. Rieger S, Kulkarni, RP, Darcy D, Fraser SE, Köster RW. Quantum dots are powerful multipurpose vital labeling agents in zebrafish embryos. *Dev Dyn* 2005;234(3):670-681.
11. Edgar R, McKinstry M, Hwang J, Oppenheim AB, Fekete RA, et al. High-sensitivity bacterial detection using biotin-tagged phage and quantum dots nanocomplexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(13):4841-4845.
12. Kampani K, Quann K, Ahuja J, Wigdahl B, Khan ZK, Jain P. A novel high throughput quantum dot-based fluorescence assay for quantitation of virus binding and attachment. *J Viral Methods* 2007;141(2):125-132. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1975807/?tool=pubmed>
13. Zhang CY, Johnson LW. Homeogenous rapid detection of nucleic acids using two-color quantum dots. *Analyst* 2005;131(4):488-488.
14. Liang RQ, Li W, Li Y, Tan CY, Li JX, Jin YX, et al. An oligonucleotide microarray for microRNA expression analysis based on labeling RNA with quantum dots and nanogold probe. *Nucleic Acids Res* 2005;33(2):e17. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC548377/?tool=pubmed>
15. Rangel-López A, Piña-Sánchez P, Salcedo M. Variaciones genéticas del gen supresor de tumores TP53: relevancia y estrategias de análisis. *Rev Inv Clin* 2006;58(3):254-264.
16. Sengupta S, Sasisekharan R. Exploiting nanotechnology to target cancer. *Br J Cancer* 2007;96(9):1315-1319.
17. Gao X, Yang L, Petros JA, Marshall FF, Simons JW, Nie S. In vivo molecular and cellular imaging with quantum dots. *Curr Opin Biotechnol* 2005;16(1):63-72.
18. Cai W, Chen X. Multimodality molecular imaging of tumor angiogenesis. *J Nucl Med* 2008;49(6 Suppl 2):113S-28S.
19. Tada H, Higuchi HT, Wanatabe M, Ohuchi, N. In vivo real-time tracking of single quantum dots conjugated with monoclonal anti-HER2 antibody in tumors of mice. *Cancer Res* 2007;67(3):1138-1144.
20. Zhelev Z, Ohba H, Bakalova R, Jose R, Fukuoka S, Nagase T, et al. Fabrication of quantum dot-lectin conjugates as novel fluorescent probes for microscopic and flow cytometric identification of leukemia cells from normal lymphocytes. *Chem Commun* 2005(15):1980-1982.
21. Juzenas, P, Chen W, Sun YP, Coelho MA, Generalov R, Christensen IL. Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer. *Adv Drug Deliv Rev* 2008;60(15):1600-1614.
22. Matsuno A, Itoh J, Takekoshi S, Nagashima T, Osamura RY. Three-dimensional imaging of the intracellular localization of growth hormone and prolactin and their mRNA using nanocrystal (Quantum dot) and confocal laser scanning microscopy techniques. *J Histochem Cytochem* 2005;53(7):833-838.