



**REAL ACADEMIA
NACIONAL DE FARMACIA**



**I FORO INTERNACIONAL
SOBRE NANOMATERIALES**

**MONOGRAFIA XLIX
2024
ACCESO ABIERTO**

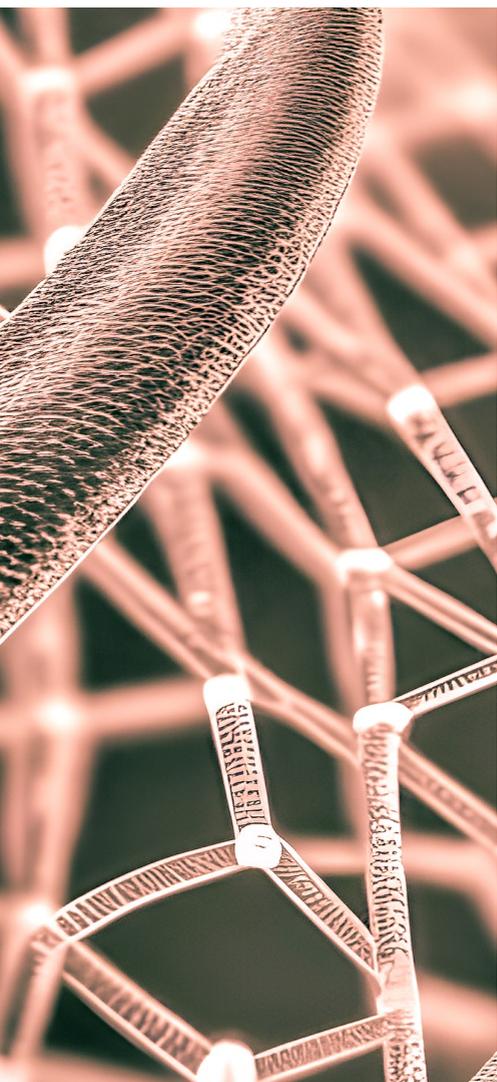
www.ranf.com

Publicaciones Científicas Electrónicas de Acceso Abierto

MONOGRAFIA I FORO INTERNACIONAL SOBRE NANOMATERIALES

PUBLICACIÓN
CIENTÍFICA

[https://bibliotecavirtual.ranf.com/es/
publicaciones/inicio.do](https://bibliotecavirtual.ranf.com/es/publicaciones/inicio.do)
ISBN: 978-84-128441-5-3
DL: M-5174-2025



SUMARIO

PRÓLOGO

ANTONIO DOADRIO VILLAREJO

INTRODUCCIÓN A NANOMATERIALES
Y NANOMEDICINA
MARÍA VALLET REGÍ

DEFINICIÓN DE NANOMATERIAL
¿QUÉ SON Y PARA QUÉ SIRVEN?
PEDRO SERENA

NANOMATERIALES PARA
TRANSFORMAR EL MUNDO
AGUSTINA ASENJO

NANOMEDICINA: NANOTRASPORTADORES. MATERIALES
INTELIGENTES PARA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS
ÁNGEL CONCHEIRO

DIAGNOSIS, TERANOSIS,
NANOSENSORES Y NANOROBOTS
CARMEN ÁLVAREZ LORENZO

MAGNETIC NANOPARTICLES IN THE FABRICATION
OF TISSUE ENGINEERING STRUCTURES
JOÃO F. MANO

NANOPARTICULAS BASADAS EN VIDRIOS
BIOACTIVOS PARA REGENERACION DE HUESO

ANTONIO J. SALINAS SÁNCHEZ

CONCLUSIONES

MARÍA VALLET REGÍ
ANTONIO J. SALINAS SÁNCHEZ

REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA
Calle de la Farmacia, 9-11 (Madrid)
Teléfonos: 91 531 65 51
ISBN: 978-84-128441-5-3
DL: M-5174-2025

Esta publicación está subvencionada por el Ministerio de Ciencia,
Innovación y Universidades.



COMITÉ CIENTÍFICO REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

Presidente Comité Editorial

Doadrio Villarejo, Antonio L.
Presidente de la Real Academia
Nacional de Farmacia

Directora Ejecutiva

Salaices Sánchez, Mercedes.
Académica de Número de la Real Academia
Nacional de Farmacia

Editor Científico

Menéndez Ramos, José Carlos
Académico de Número de la Real Academia
Nacional de Farmacia

Consejo Editorial

Avendaño López, Carmen
Ribas Ozonas, Bartolomé
Villar del Fresno, Ángel María
Lacadena Calero, Juan Ramón
Salinas Sánchez, Jesús
Rodríguez-Boto, Gregorio
Académicos de la Real Academia
Nacional de Farmacia

Coordinación - Edición online

Contenido Web

Manuel Tirado Juárez

Diseño web

ARP Producciones



ÍNDICE

NANOMATERIALES Y NANOMEDICINA

EDITORES

MARIA VALLET REGÍ Y ANTONIO J. SALINAS

PRÓLOGO

ANTONIO DOADRIO VILLAREJO7

1. INTRODUCCIÓN A NANOMATERIALES Y NANOMEDICINA.

MARÍA VALLET REGÍ9

2. DEFINICIÓN DE NANOMATERIAL ¿QUÉ SON Y PARA QUÉ SIRVEN? DEFINICIÓN QUE SE UTILIZA EN INVESTIGACIÓN Y LA QUE SE DA EN LA LEGISLACIÓN DE EEUU, LA UE, O LA OCDE.

PEDRO SERENA23

3. NANOMATERIALES PARA TRANSFORMAR EL MUNDO.

AGUSTINA ASENJO43

4. NANOMEDICINA: NANOTRASPORTADORES. MATERIALES INTELIGENTES PARA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS.

ÁNGEL CONCHEIRO61

5. DIAGNOSIS, TERANOSIS, NANOSENSORES Y NANOROBOTS. QUE SON Y QUÉ TIPO DE MATERIALES SE UTILIZAN PARA SU FABRICACIÓN.

CARMEN ÁLVAREZ LORENZO77

6. MAGNETIC NANOPARTICLES IN THE FABRICATION OF TISSUE ENGINEERING STRUCTURES.

JOÃO F. MANO103

7. NANOPARTICULAS BASADAS EN VIDRIOS BIOACTIVOS PARA REGENERACIÓN DE HUESO.

ANTONIO J. SALINAS SÁNCHEZ125

8. CONCLUSIONES.

MARÍA VALLET REGÍ Y ANTONIO J. SALINAS SÁNCHEZ141

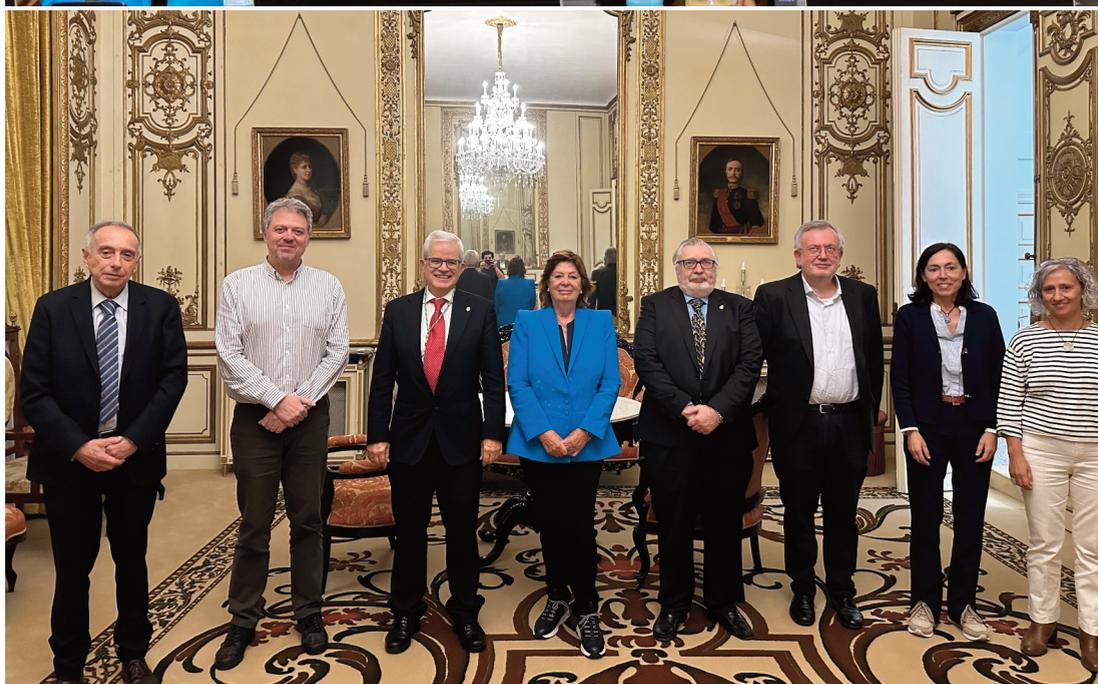


PRÓLOGO

I FORO INTERNACIONAL DE NANOMATERIALES RANF- AMA

Antonio Doadrio Villarejo

Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia de España





El 7 de noviembre de 2024 se celebró en la sede de la Real Academia Nacional de Farmacia, el *Foro Internacional de Nanomateriales* organizado bajo el patrocinio de la Real Academia Nacional de Farmacia, RANF, y la Fundación A.M.A., Agrupación Mutual Aseguradora, que se centra en los profesionales sanitarios y en sus familiares. Entre los fines de A.M.A. se encuentran promover el desarrollo de la sociedad mediante la promoción e impulso de actividades científicas, culturales, formativas, sociales, educativas y docentes como fue el mencionado Foro.

El Foro fue organizado por los Excmos. Sres. Maria Vallet-Regí y Antonio Jesús Salinas Sánchez, Académicos de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, y contó con la participación destacados expertos en Nanomateriales que presentaron una amplia panorámica de la aplicación de este tipo de materiales en el Campo de la Salud. En la primera parte, los Profesores Pedro Serena y Agustina Asenjo del Instituto de Ciencia de Materiales del CSIC explicaron *Qué son los nanomateriales y para qué sirven*, presentando aspectos relacionados con la normativa que los regula y cómo pueden contribuir a mejorar las propiedades de otros materiales y, en última instancia a cambiar nuestra manera de vivir.

En la segunda parte, los Profesores Ángel Concheiro y Carmen Álvarez Lorenzo de la Universidad de Santiago de Compostela y el Profesor João Mano de la Universidad de Aveiro, se centraron en la *Utilización de los nanomateriales en el campo de la salud*. En sus exposiciones trataron de temas como: qué son los nanotransportadores y los materiales inteligentes para la liberación de fármacos y de su utilización en técnicas de diagnóstico y terapia. Asimismo, explicaron lo que son los nanosensores y los nanorobots e indicaron algunos ejemplos de la utilización de las nanopartículas magnéticas para aplicaciones en ingeniería de tejidos. Al término de las cinco conferencias hubo una discusión general y preguntas a los ponentes sobre los temas tratados en el Foro.

Esta monografía, incluye cinco capítulos donde los cinco conferenciantes presentan los aspectos principales que presentaron en el Foro Internacional, junto con un capítulo introductorio de la Prof. María Vallet Regi titulado “Nanomateriales y Nanomedicina”, otro capítulo del Prof. Antonio Salinas sobre “Nanopartículas basadas en vidrios bioactivos para regeneración de hueso” y un Epílogo escrito por los Profs. Vallet Regi y Salinas.

Madrid, 28 de noviembre de 2024



INTRODUCCIÓN

Nanomateriales y Nanomedicina

María Vallet Regí

Académica de número de la RANF



La nanotecnología ya se utilizaba en la EDAD MEDIA aunque se desconocía que se estaba utilizando y, por supuesto, no se sabía cuál era la razón o explicación de por qué, trabajando como lo hacían, conseguían modificar algunas propiedades de los materiales.

Según el tratamiento químico al que se sometieran los materiales de construcción podían cambiar o incluso aparecer nuevas propiedades. Las partículas con tamaño nanométrico no son nuevas ni en la naturaleza ni en la ciencia. Pero ahora ya sabemos relacionar y comprender que cuanto más pequeño es el tamaño de una partícula ésta tendrá mayor superficie específica, será más reactiva, tendrá mayor poder de penetración, será más rápida, tendrá mayor capacidad de almacenamiento y nos permitirá hacer incursiones en el mundo biológico y en efectos cuánticos.

Solo para abrir boca déjenme poner un ejemplo que a mí me parece muy ilustrativo:

En 1956 un ordenador IBM tenía capacidad de 5 MB y pesaba tanto que para moverlo hacían falta más de 4 personas.

En 2024 disponemos de USBs de distintas capacidades, desde unos pocos GB a más de 1 TB y discos duros portátiles de 4TB. Todos ellos podemos llevarlos en el bolsillo y su capacidad de almacenamiento está en el entorno del millón de veces superior a aquel superordenador del año 56. Y no digamos nada del precio, antes asequible sólo a grandes multinacionales o programas de seguridad nacional o espacial y ahora todos nosotros disponemos de un superordenador en el bolsillo.

Volviendo a nuestro hilo conductor es justo reconocer que los nanomateriales se han venido utilizando desde hace siglos. Un ejemplo clásico es la utilización de oro y plata para crear color en las vidrieras de las iglesias medievales, aunque los artistas desconocían por que el proceso que utilizaban para crear estas obras de arte conducía a cambios en la composición y en el tamaño de partícula de los materiales con los que trabajaban. Y que el oro y la plata que utilizaban tenía tamaño nanométrico, eran nanopartículas.

Sin ir tan lejos, desde que Faraday obtuviera, accidentalmente, en 1850, una suspensión coloidal de nanopartículas de oro, los químicos prestaron especial atención al desarrollo de métodos de síntesis para la obtención de



nanopartículas metálicas con diferente morfología y, posteriormente, a la producción de nanocompuestos más complejos, es decir, con mayor número de elementos químicos en su composición.

Uno de los motores que impulsó este esfuerzo investigador a mediados del sXX fue el estudio de las propiedades catalíticas de las nanopartículas. Como es sabido, el rendimiento de los catalizadores, ampliamente utilizados en la industria automovilística, aumenta drásticamente cuanto mayor es su superficie específica, es decir, cuanto menor es su tamaño de partícula. Esta disminución del tamaño aumenta la relación de átomos en la superficie y, en consecuencia, el área de contacto del compuesto con las especies que intervienen en un determinado proceso catalítico, mejorando la actividad del catalizador.

Pero cuando se inicia el desarrollo de la NANOCIENCIA o al menos existe un cierto consenso en señalar que las ideas y bases de la nanociencia y la nanotecnología se empiezan a desarrollar, es a partir de la conferencia dictada por el físico Richard Feynman en el “California Institute of Technology” (CalTech) el 29 de diciembre de 1959.

Su título “There’s plenty of room at the bottom” (“Hay mucho sitio al fondo”).

Y esto, mucho antes de que se empezara a utilizar el término Nanotecnología. En su charla, Feynman predijo que los científicos serían capaces de manipular y controlar aisladamente átomos y moléculas. Esto no fue posible hasta la década de los ochenta con el descubrimiento de las microscopias de fuerzas (AFM) y de efecto túnel (STM) que permitieron la visualización de los átomos.

Hemos llegado al momento de definir la nanociencia y la nanotecnología que no son otra cosa que el estudio y aplicación de materiales extremadamente pequeños, con tamaño inferior a 100 nm, que tienen un carácter transversal ya que pueden utilizarse en diferentes áreas del conocimiento, tales como la química, la biología, la física, la medicina, la ciencia de materiales o la ingeniería y, por tanto, juegan un papel primordial en amplios sectores del sistema productivo.

El término nanotecnología se utiliza para describir la obtención y explotación de materiales con características estructurales entre las de los átomos y las de los materiales másicos, con al menos una dimensión en la escala del nm.

Para hacernos una idea de las dimensiones de las que hablamos pensemos que 10 átomos de hidrógeno miden 1 nm, una molécula DNA mide 2.5 nm, el espesor de un pelo es de 80,000 nm y el de una hoja DinA4 =100.000 nm, una hoja de un periódico tiene un espesor de unos 100.000 nanómetros y un átomo de oro tiene un diámetro unas tres veces más pequeño que un nanómetro.



Para darnos una idea de lo pequeño que es un átomo y, por tanto, de las distancias tan pequeñas que se manejan en las nanotecnologías, un nanómetro es diez elevado a menos nueve metros, es decir, la billonésima parte de un metro.

Todo lo que nos rodea está formado por átomos, pero algo tan pequeño como los átomos no se puede ver a simple vista. Sin embargo, en la actualidad, con las microscopías de proximidad, desarrolladas hace tres décadas, y con la introducción, a principios del sXXI, de correctores de aberración en los microscopios electrónicos de transmisión, que permiten resolver distancias de 0.05 nanómetros (0.5 Angstroms), es posible visualizar hasta los átomos más ligeros como el Li, el C, el N, el O...

Esta revolución tecnológica se inicia en 1981 cuando se desarrolla el 1er microscopio de efecto túnel, esto es, 20 años después de la visionaria conferencia de Richard Feynman.

Con el desarrollo de las microscopías de efecto túnel y de fuerza atómica, que son realmente los “ojos” y las “manos” que permiten estudiar y manipular nanoestructuras, se inicia el desarrollo de la NANOCIENCIA Y LA NANOTECNOLOGIA.

El premio Nobel de Física de 1986 supuso un homenaje a las técnicas de microscopía modernas. En efecto, E. Ruska recibió la mitad del mencionado premio por sus trabajos en óptica electrónica y el diseño del primer microscopio electrónico. La otra mitad del premio se concedió a Binnig y Rohrer por el diseño del microscopio de efecto túnel (Scanning Tunneling Microscope, STM).

Como consecuencia de estos desarrollos tecnológicos, se asocia el nacimiento de la nanotecnología a los años 80, es decir, al momento en el que los científicos pudieron disponer de las herramientas adecuadas para manipular los átomos (atomic force microscopy-AFM, scanning tunneling microscopy-STM),

Efectivamente, solo a partir del desarrollo de las microscopías de fuerza y efecto túnel ha sido posible disponer de herramientas imprescindibles para entender los fenómenos que rigen la materia cuando se organiza en la nanoescala.

El objetivo de la nanociencia es, no solo trabajar con la materia en las dimensiones más pequeñas, sino manipularla a esa escala para aprovechar las propiedades únicas y novedosas que presentan con respecto a nuestro mundo macroscópico.

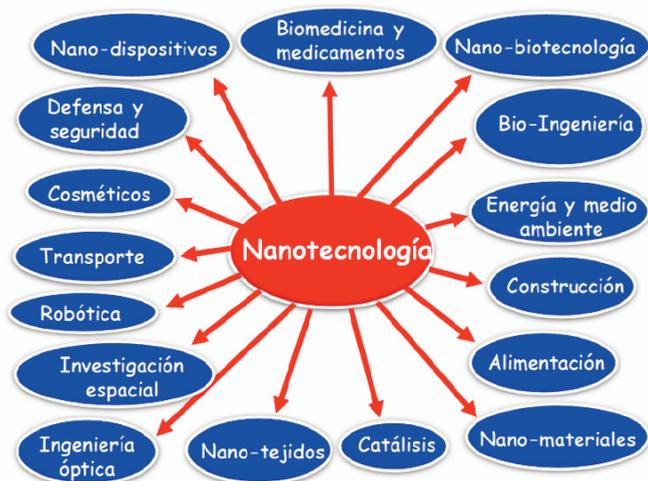
La comprensión de estos fenómenos es la base que ha producido gran parte de los últimos avances en campos de aplicación extraordinariamente diversos, como la medicina, la electrónica, las tecnologías de la comunicación y la informática, la energía, el medio ambiente y la catálisis,



la industria de alimentos y la textil, la agricultura, la ganadería, la cosmética, la industria farmacéutica, la biotecnología, la bioingeniería, la construcción, la defensa y seguridad, el transporte, la investigación espacial, la robótica, la ingeniería óptica, nano dispositivos, nanosensores, la biomedicina,...

En las últimas décadas, la nanotecnología ha revolucionado muchas industrias como la electrónica o la ciencia de los materiales, incluyendo la industria informática con nanochips o paneles solares más eficientes para la energía solar.

En este sentido, la nanotecnología se considera como la próxima Revolución Industrial que tendrá impactos sustanciales en muchas áreas de nuestras vidas. Y su rápido avance es posible gracias a la convergencia de muchas áreas científicas como acabo de indicar.



2. ALGUNAS APLICACIONES DE ENTRE LAS MUCHÍSIMAS QUE YA SON REALIDAD EN NUESTRA SOCIEDAD

Electrónica

En este campo las aplicaciones se dirigen al desarrollo de componentes electrónicos que permitan aumentar drásticamente la velocidad de procesamiento en las computadoras, la creación de nuevos semiconductores, de nanocables cuánticos, de circuitos basados en Grafeno o Nanotubos de Carbono.

Tecnologías de la comunicación e informática

Se dirigen al desarrollo de sistemas de almacenamiento de datos de mayor capacidad y menor tamaño, dispositivos de visualización basados en materiales con mayor flexibilidad u otras propiedades que permitan crear pantallas flexibles y transparentes, además del desarrollo de la computación cuántica.



Energía

Las aplicaciones en esta área están relacionadas con la mejora de los sistemas de producción y almacenamiento de energía, en especial aquellas energías limpias y renovables como la energía solar, o basadas en el Hidrógeno, además de tecnologías que ayuden a reducir el consumo energético a través del desarrollo de nuevos aislantes térmicos más eficientes basados en nanomateriales, así como al aumento de la eficiencia de los paneles y placas solares gracias a nanomateriales especializados en la captura y almacenamiento de energía solar.

Defensa

En defensa se desarrollan nanotecnologías basadas en nanohilos de platino amorfos para evitar que los submarinos se puedan detectar por las ondas acústicas de un sónar.

Medio Ambiente

Las aplicaciones de la Nanotecnología en el medio ambiente involucran el desarrollo de materiales, energías y procesos no contaminantes, tratamiento de aguas residuales, desalinización de agua, descontaminación de suelos, tratamiento de residuos, reciclaje de sustancias, nanosensores para la detección de sustancias químicas dañinas o gases tóxicos, etc.

Industria de Alimentos

Las aplicaciones de la Nanotecnología en la industria de alimentos incluyen, entre otras, el desarrollo de nanosensores y nanochips útiles para asegurar la calidad del alimento, de dispositivos que funcionen como nariz y lengua electrónica, detección de frescura y vida útil de un alimento, detección de microorganismos patógenos, aditivos, fármacos, metales pesados, toxinas y otros contaminantes, así como el desarrollo de nanoenvases, nanoalimentos con propiedades funcionales nutritivas y saludables, o con mejores propiedades.

Industria Textil

Desarrollo de tejidos que repelen las manchas y no se ensucian y sean autolimpiables, antiolores, incorporación de nanochips electrónicos que den la posibilidad de cambio de color a las telas, o bien el control de la temperatura, que constituyen los llamados “tejidos inteligentes”.

Construcción

Desarrollo de Nanomateriales más fuertes y ligeros y con mayor resistencia; vidrios que repelen el polvo, humedad; pinturas con propiedades especiales; materiales autorreparables, etc.

Agricultura

Las aplicaciones en esta área se dirigen al desarrollo de plaguicidas, herbicidas, fertilizantes, mejoramiento de suelos, nanosensores en la detección de niveles de agua, nitrógeno, etc.



Ganadería

Las aplicaciones de la Nanotecnología en la Ganadería tienen relación con el desarrollo de nanochips para la identificación de animales, de nanopartículas para administrar vacunas o fármacos, de nanosensores para detectar microorganismos y enfermedades, además de sustancias tóxicas...

Cosmética

En esta área se comercializan desde hace tiempo cremas antiarrugas o cremas solares con diversas nanopartículas

Medicina

La convergencia de dos áreas muy diferentes, como son la nanotecnología y la medicina, ha dado lugar a un área interdisciplinar llamada nanomedicina.

Es relativamente nueva ya que inicia su andadura a finales de los años 1990 y aparece la primera publicación científica en el año 2000.

Nanomedicina:

• Liberación de fármacos, terapia focalizada

- Mejorar el perfil farmacológico
- Liberación selectiva a los tejidos diana
- Superación de barreras biológicas
- Disminución de efectos secundarios

• Diagnósis

- Mayor sensibilidad, rapidez y precisión
- Diagnóstico en fases tempranas
- Detección específica de biomarcadores patológicos

• Teranosis - combinación de terapia/diagnósis

- Detección y terapia focalizada de enfermedades
- Visualizar y evaluar la eficacia del tratamiento

• Nanodispositivos

- Biosensores: mayor precisión y sensibilidad
- Nanorobots: detección y reparación a nivel celular

La nanomedicina incluye nanofármacos, diagnóstico, teranóstico y dispositivos. Esta nueva área biomédica está inspirando tratamientos más específicos y eficaces para enfermedades complejas y utiliza nanopartículas que son auténticos transportadores de fármacos. Circulan por el organismo buscando el lugar preciso donde depositarlos.

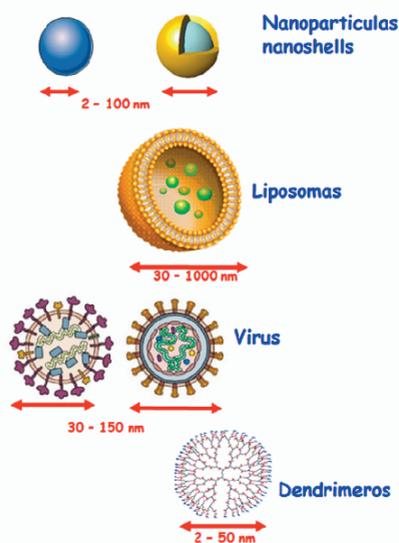
Las aplicaciones de administración de fármacos mediante nanotecnología se producen mediante el uso de nanomateriales, así como de la formación de sistemas de administración a partir de moléculas en la nanoescala. Estos materiales ayudan a mejorar la biodisponibilidad del fármaco.

La administración de fármacos mediante nanotecnología se utiliza ampliamente en la industria sanitaria en aplicaciones como neurología, antiinfecciosos, trastornos cardiovasculares y otras. El mercado de administración de fármacos de nanotecnología está segmentado por

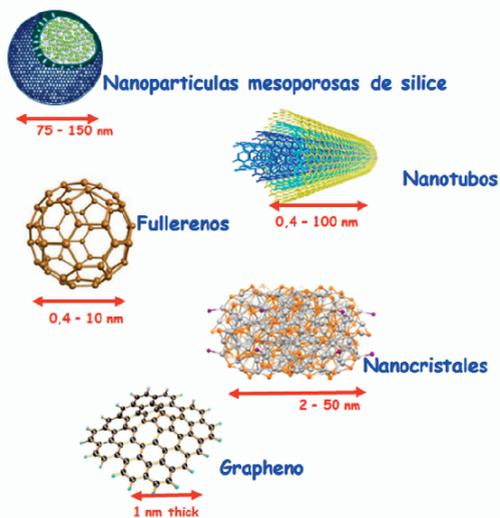


tecnología (nanocristales, nanopartículas, liposomas, micelas, otros), *aplicación* (neurología, oncología, cardiovascular/fisiología, antiinflamatorio/inmunología, antiinfeccioso, otras aplicaciones) y *geografía* (América del Norte, Europa, Asia-Pacífico, Medio Oriente y África, América del Sur).

Nanotransportadores clásicos



Nuevos nanotransportadores



Algunas de las ventajas del uso de nanopartículas para la administración de fármacos incluyen la mejora del perfil farmacocinético, la capacidad de liberar agentes terapéuticos a tejidos específicos disminuyendo los efectos secundarios y, en algunos casos, la capacidad de superar ciertas barreras biológicas, y por supuesto, disminuir drásticamente las dosis.

También se utilizan para diagnóstico, donde consiguen aumentar la sensibilidad y precisión; y en teragnóstico, que es la combinación de terapia y diagnóstico y permite la detección y terapia localizada de ciertas enfermedades junto con la posibilidad de seguir dicho tratamiento en tiempo real.

Y, por último, también se utilizan en la fabricación de nanodispositivos tales como biosensores moleculares con capacidad para detectar alguna sustancia de interés como glucosa o algún biomarcador de alguna enfermedad o nanorobots programados para reconocer y destruir células tumorales o bien reparar algún tejido como el tejido óseo a raíz de una fractura.

Por tanto, las nanopartículas son capaces de mejorar la detección y el diagnóstico de enfermedades y pueden diseñarse para proporcionar



contraste en el área de interés e informar sobre el entorno local de ese tejido después de la administración al paciente además de emplearse para el tratamiento de la enfermedad siendo los vehículos que transportan diferentes agentes farmacéuticos.

Existen otras aplicaciones como los nanobiomateriales para implantes médicos, dispositivos médicos en miniatura o vacunas sintéticas.

La nanomedicina está en el punto de mira de la investigación y desarrollo de la industria farmacéutica, especialmente, en forma de nanopartículas para sistemas de administración de fármacos y agentes para imagen. De hecho, las grandes compañías farmacéuticas están desarrollando departamentos para su investigación y desarrollo y en los últimos años se han creado más de 2.000 start-ups. Los investigadores del campo de la nanomedicina han trabajado mucho en estos años y ya han desarrollado más de 250 productos que se están comercializando o están en ensayos clínicos.

Se espera que el tamaño del mercado mundial de nanoproductos farmacéuticos tenga un valor de alrededor de 259.5 mil millones USD para 2032 desde 77.5 mil millones USD en 2023 según un informe de 2024 de Market.us.

Los avances en las tecnologías a nanoescala y las actividades de investigación y desarrollo han ayudado a la expansión del mercado. Por ejemplo, en julio de 2022, los biomarcadores encontrados por investigadores del MIT indican si distintos tipos de células cancerosas absorbían nanopartículas específicas. Los investigadores descubrieron docenas de características biológicas que determinaban si las células cancerosas absorbían diferentes tipos de nanopartículas después de estudiar las interacciones entre 35 tipos diferentes de nanopartículas y aproximadamente 500 tipos distintos de células cancerosas. Los resultados pueden ayudar a los investigadores a personalizar mejor las partículas de administración de fármacos para ciertas formas de cáncer, o crear nanopartículas novedosas que aprovechen las características biológicas de tipos específicos de células cancerosas. Por lo tanto, el creciente número de actividades de investigación probablemente impulsará el crecimiento de esta área de conocimiento.

Por lo tanto, debido a los factores mencionados anteriormente, se espera que el mercado proyecte un crecimiento acelerado de 2024 a 2032. En cuanto a las aplicaciones potenciales de la nanomedicina, la oncología es probablemente la más investigada, ya que las terapias convencionales contra el cáncer presentan limitaciones intrínsecas, impulsando la investigación y búsqueda de nuevos tratamientos, más eficaces y seguros. La mayoría de los medicamentos anticancerígenos actuales han demostrado una alta eficiencia cuando se evalúan en cultivos celulares. Sin embargo,



cuando se evalúan en un escenario *in vivo*, especialmente en humanos, su rendimiento no es lo suficientemente bueno debido a su baja eficacia y alta toxicidad como resultado de su biodistribución inferior dentro del cuerpo.

En este sentido, el concepto de “bala mágica” propuesto por P. Ehrlich a principios de 1900’s ha inspirado el esfuerzo de investigación de muchos científicos para cambiar la distribución corporal de los fármacos y, por tanto, mejorar el rendimiento de los mismos.

Aunque existe un éxito tecnológico bastante razonable en la utilización de nanomedicinas para el tratamiento del cáncer, todavía queda un largo camino por recorrer antes de que la nanomedicina se convierta en el nuevo paradigma en el tratamiento del cáncer.

En 2016 el PREMIO NOBEL en QUIMICA fue otorgado a Jean-Pierre Sauvage, Sir J. Fraser Stoddart y Bernard L.Feringa por sus aportaciones a las nano máquinas moleculares y nano robots, útiles en muchos campos, no solo en el de nano medicina.

3. EL CARBONO Y EL SILICIO COMO FORMADORES DE NANOMATERIALES

En un momento de la historia en que la sociedad parecía necesitar lo “grande” (coches más grandes, casas más grandes, televisores más grandes, etc.) Richard Feynman hizo retroceder la marea y se centró en lo “pequeño”. Una nueva perspectiva que nos permitió redescubrir materiales cotidianos con nuevas propiedades y aplicaciones. Un ejemplo representativo se puede encontrar en la evolución de los materiales de carbono. En el pasado, solo se conocían diamantes, de gran dureza, y grafito, fácilmente laminable y elemento clave de los lápices. Durante los años 50, la fibra de carbono (formada por filamentos de unas pocas micras) surgió como un material ligero y extremadamente resistente que ganó importancia en la industria aeronáutica, la del transporte y los deportes de alta competición. Posteriormente, el descubrimiento de los nanotubos de carbono y del grafeno, cuyas propiedades térmicas y eléctricas aumentan considerablemente e incluso superan a las de los metales conductores, revolucionaron el campo de los materiales de carbono. El silicio, situado en el mismo grupo que el carbono en la tabla periódica y de gran abundancia en la corteza terrestre, ha permitido fabricar materiales cuya miniaturización ha propiciado la aparición de nuevas propiedades con aplicación en numerosos campos como la medicina, materiales estructurales, campo agrícola a la biorremediación ambiental, células solares, etc.

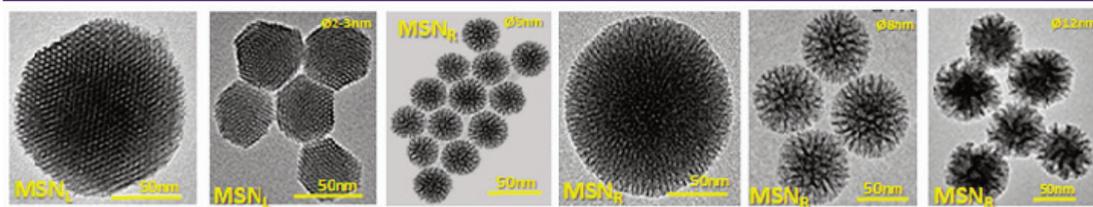
Dependiendo de las condiciones y técnicas utilizadas durante su síntesis, es posible obtener dos tipos diferentes de nanomateriales basados en silicio:



1. nanomateriales cuya composición es idéntica a la del silicio original (Si-Si).
2. Y nanomateriales de sílice, óxido de silicio (sílice, SiO₂).

Sin duda, en la medicina el uso de nanomateriales a base de silicio se ha generalizado.

Dos de las principales razones son, que los nanomateriales de silicio y sílice tienen una gran resistencia mecánica y estabilidad térmica, y que son sustratos ideales para la funcionalización en función de cual haya sido el método de síntesis empleado para su fabricación.



Esto supone una gran ventaja ya que se trata precisamente de la posibilidad de anclar una gran variedad de elementos en la superficie de los nanomateriales, lo que permite modificar sus propiedades en función del tratamiento necesario.

Específicamente en el tratamiento de infecciones bacterianas, los nanomateriales basados en silicio han demostrado ser altamente efectivos en varios niveles, incluida la detección temprana, la orientación hacia bacterias o biofilms y la prevención en la formación de biofilms.

Su uso como sistema de administración de fármacos permite aumentar la efectividad del antibiótico y la reducción de la dosis, ayudando a resolver el problema de la resistencia a los antibióticos. Su utilización generalizada sería una gran alternativa a la síntesis de nuevos antibióticos cuyo proceso requiere una alta inversión de tiempo y dinero. Podríamos alargar muchísimo la vida de los que ya tenemos ya que al utilizar dosis mínimas el problema se diluye.

Tanto los nanomateriales de silicio como los de sílice se pueden sintetizar con numerosos poros por los que introducir los medicamentos. Los fármacos, incluidos los poco solubles en agua, pueden cargarse en los poros y protegerse del entorno biológico hasta que la partícula llegue a su destino. El tamaño de las nanopartículas de sílice está en torno a los 100 nanómetros y el tamaño del diámetro de sus poros en torno a 2. Dado que las moléculas de antibióticos miden en torno a 1 nanómetro la capacidad de carga es enorme. Cada nanopartícula tiene unos 1400 poros de unos 100 nanómetros de longitud así que pueden transportar las dosis necesarias de antibióticos para curar la infección porque solo depositaran su carga en el lugar de la infección sin diseminarla por el resto del cuerpo.

Se ha demostrado que los nanomateriales basados en silicio no son tóxicos



para los sistemas biológicos cuando se preparan con las características estructurales apropiadas y se aplican en las dosis correctas. Se han realizado numerosos estudios para investigar cómo el tamaño, la forma y otros factores estructurales afectan a sus actividades biológicas, tales como: endocitosis a través de las membranas celulares, interferencias dentro de la señalización celular, interacción con orgánulos celulares, etc.

En cuanto a su eliminación, la biodegradación de nanomateriales basados en silicio *in vivo* ocurre principalmente por disolución en fluidos biológicos. Su degradación tiene lugar en forma de ácido silícico, un compuesto naturalmente presente en los seres humanos en pequeñas concentraciones. Se ha comprobado que dicha degradación tiene lugar más rápido en las nanopartículas de silicio que en las de óxido de silicio, y en ambos casos, la porosidad acelera el proceso mientras que la funcionalización puede ralentizarlo en función de cual sea. La eliminación de materiales basados en silicio se produce por vía renal y hepática en forma de orina y heces que contienen nanopartículas sólidas o productos degradados, siendo la excreción renal la principal vía.

Aunque la estructura en sí no es tóxica, si no se eliminan adecuadamente, los tensioactivos residuales (que a menudo son catiónicos) y los disolventes orgánicos (utilizados durante el proceso de síntesis) pueden ser perjudiciales para las membranas celulares debido a su naturaleza lipofílica o la generación de radicales libres.

4. NANOTECNOLOGIA EN LA VIDA COTIDIANA

Basta una reflexión para darnos cuenta donde encontramos nanotecnología en nuestro día a día.

Imagínense que a media tarde hacemos un descanso en nuestro trabajo y salimos a tomar algo a una cafetería próxima. En el bolsillo llevamos nuestro teléfono móvil, infinitamente más ligero y con muchísima más capacidad del que utilizábamos tan solo unos años atrás, con capacidad de recibir el correo electrónico, comunicarnos por mensajes y wasaps, hacer fotos y videos etc, y en la cartera nuestro portátil donde el uso de nanopartículas ha logrado, con nuevos sistemas de visualización, que veamos la pantalla muchísimo mejor. También llevamos nuestro Ipad con diodos orgánicos emisores de luz (OLED), geniales para la pantalla, etc.

Al fondo, la televisión está encendida, su pantalla, de una nitidez extraordinaria, contiene quantum dots.

Cuando nos preguntan qué queremos tomar nos anotan la comanda en una carta menú electrónica.

Como la cafetería donde estamos es muy moderna, los cristales no se ensucian porque están fabricados con un recubrimiento anti rayado y anti



suciedad y el vidrio es termo crómico para regular la entrada de luz, todo ello gracias a su composición y nanoestructura.

La iluminación de la cafetería, tanto interior como exterior utiliza diodos emisores de luz, LED, mas nanotecnología.

Los manteles están fabricados con tejidos que tienen un recubrimiento que evita que se manchen, esto es, telas antiadherentes a las manchas, a la suciedad y el suelo esta enmoquetado, y esa moqueta tiene capacidad antibacteriana porque contiene nanopartículas de óxido de zinc.

Por la calle circulan varios coches, la mayoría de ellos con carrocerías muy ligeras, dado que están fabricadas con polímeros reforzados con nanotubos de carbono, nanocomposites poliméricos, que hacen el coche más resistente y más ligero, lo que aumenta su seguridad y reduce el consumo de combustible, con electrocerámicas como parte de sensores y para inyección de gasolina, en su interior alfombrillas para evitar vibraciones molestas, pilas de combustible que generan corriente para teléfonos móviles y el propio vehículo, en el exterior cristales transparentes con recubrimientos auto limpiantes, dispositivos anti reflejantes, catalizadores, pintura protectora frente a la corrosión en los bajos del coche, recubrimientos tribológicos, etc.

También circulan por la calle bicicletas, algunas muy ligeras pero muy fuertes y resistentes y el ciclista lleva puesta ropa inteligente que le permite medir el pulso y la respiración y un casco que mantiene el contacto con su cabeza.

Al otro lado de la acera hay un edificio muy moderno pero construido ya hace unos años con cemento que contiene nanopartículas de óxido de titanio, se mantiene blanco como cuando se terminó su construcción pese al paso de los años.

Un buen observador podría seguir encontrando más nanotecnología, ya rutinaria en nuestra sociedad actual, a poco que se fije.

Seguro que están pensando en las serias implicaciones y los riesgos de un uso abusivo y creciente de la nanotecnología en nuestras vidas. La sociedad empieza a ser consciente de sus pros y sus contras y a definirse, trazando límites éticos y legales al uso de la utilización de estas nuevas tecnologías, algunas ya en nuestra sociedad como acaban de ver, y otras por llegar, pero sin duda hemos entrado en una nueva era tecnológica.

Son totalmente actuales las palabras de Marie Curie *“Dejamos de temer aquello que se ha aprendido a entender”*

La investigación científica ha hecho posible estos desarrollos y han sido y son muchísimos los científicos que dedican su vida para conseguir mejoras como las que hemos visto para que vivamos mejor y más con buena calidad de vida.



La ciencia nos permite entender muchos fenómenos si disponemos de científicos trabajadores y medios apropiados para realizar la experimentación necesaria. La historia reciente de la NANOTECNOLOGIA así lo demuestra.

5. REFERENCIAS

1. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. Samer Bayda, Muhammad Adeel Tiziano Tuccinardi, Marco Cordani and Flavio Rizzolio. *Molecules* 2020, 25, 112; doi:10.3390/molecules25010112.
2. Cancer nanomedicine: progress challenges and opportunities Jinjun Shi¹, Philip W. Kantoff, Richard Wooster and Omid C. Farokhzad. *NATURE REVIEWS | CANCER* VOLUME 17 | JANUARY 2017 | 29.
3. Combining Nanomedicine and Immunotherapy Published as part of the Accounts of Chemical Research special issue “Nanomedicine and yond”. Yang Shi and Twan Lammers. *Acc. Chem. Res.* 2019, 52, 1543–1554.
4. The evolution of commercial drug delivery technologies. Ava M. Vargason, Aaron C. Anselmo, and Samir Mitragotri, *Nature Biomedical Engineering* | www.nature.com/natbiomedeng, 2021.
5. Nanoparticles in the clinic: An update. Aaron C. Anselmo, Samir Mitragotri, *Bioeng Transl Med.* 2019;4:e10143. <https://doi.org/10.1002/btm2.10143>.
6. Engineering mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: where are we after two decades? M. Vallet-Regí, F. Schüth, D. Lozano, M. Colilla, M. Manzano. *Chem. Soc. Rev.* 51, 5365- 5451 (2022).
7. Cancer nanomedicine. Sangeeta N. Bhatia, Xiaoyuan Chen, Marina A. Dobrovolskaia and Twan Lammers, *Nature Reviews | Cancer*, volume 22 | October 2022 | 553.
8. Our contributions to applications of mesoporous silica nanoparticles. M. Vallet-Regí. *Acta Biomaterialia.* 137, 44-52 (2022).
9. Characterization of a mesoporous. M. Manzano, A. Gabizón, M. Vallet-Regí. *Pharmaceutics.* 14, 1483 (2022).
10. Clinical translation of silica nanoparticles. Taskeen Iqbal Janjua, Yuxue Cao, Chengzhong Yu and Amirali Popat, *Nature.com*, | December 2021 | volume 6.
11. <https://www.pharmiweb.com/press-release/2024-04-11/nanopharmaceuticals-market-set-to-skyrocket-to-usd-2592-billion-by-2032-marketus>
12. <https://www.mordorintelligence.ar/industry-reports/nanotechnology-drug-delivery-market>



¿Qué son los nanomateriales y para qué sirven? What are nanomaterials and what are they for?

Pedro Amalio Serena Domingo

Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. C/ Sor Juana Inés de la Cruz 3, Campus de Cantoblanco, 28049-Madrid, España.

e-mail: pedro.serena@icmm.csic.es /teléfono: 91 334 89 99



PALABRAS CLAVE

Nanomateriales
Propiedades
Comercio
Nomenclatura
Normativa
Regulación

RESUMEN

El desarrollo de la nanotecnología en las últimas décadas es una realidad que se pone de manifiesto mediante inversiones, proyectos, artículos, patentes y productos. Su impacto, tal y como se pronosticaba, está siendo transversal, generando un volumen considerable de negocio. Dentro de este campo, los nanomateriales tienen una especial relevancia por ser utilizados en numerosos sectores gracias a sus propiedades nuevas o mejoradas comparadas con las de los materiales en formato macroscópico. Un aspecto importante del uso de los nanomateriales es conocer su posible toxicidad, en vista de su gran utilización, y en función de los estudios toxicológicos elaborar recomendaciones y normativas que permitan la implantación segura de la nanotecnología. En este artículo se trata de todos estos temas, haciendo énfasis en asuntos primordiales como la propia definición de nanomaterial.

KEYWORDS

Nanomaterials
Properties
Commerce
Nomenclature
Normative
Regulation

ABSTRACT

The development of nanotechnology over the last few decades is a reality that is evidenced by investments, projects, articles, patents and products. Its impact, as predicted at the end of the last century, is being transversal, generating considerable business. Within this field, nanomaterials are of particular relevance as they are used in countless sectors thanks to their new or improved properties compared to those of macroscopic materials. An important aspect of the use of nanomaterials is to determine their potential toxicity, in view of their widespread use, and based on toxicological studies to develop recommendations and regulations to enable the safe implementation of nanotechnology. This article discusses all these issues, with emphasis on key issues such as the definition of nanomaterial itself.



1. INTRODUCCIÓN. DEL LABORATORIO (NANOCIENCIA) AL MERCADO (NANOTECNOLOGÍA)

En esta primera ponencia del Foro Internacional de Nanomateriales organizado por la Real Academia Nacional de Farmacia (RANF) se van a tratar aspectos generales de los nanomateriales que van más allá de su mera definición o la descripción de sus propiedades, incorporando elementos relacionados con su uso y comercialización, así como de la regulación existente sobre los mismos, de forma que se contextualice la importancia creciente que están alcanzando en un buen número de ámbitos de aplicación.

La segunda mitad del siglo XX presenció la acumulación de ingentes conocimientos sobre lo que se puede denominar “nanomundo” (una llamativa forma de referirse a la gran variedad de objetos con un tamaño inferior a los 100nm al menos en una de sus tres dimensiones). Diferentes disciplinas científicas fueron las que protagonizaron la consolidación de todo este conocimiento, dando lugar a la nanociencia de marcado carácter multidisciplinar, cuya pretensión formal no es otra que la de conocer cómo las entidades nanométricas se forman, qué propiedades poseen y cómo interaccionan entre ellas o con la materia macroscópica. A principios del siglo XXI todo este conocimiento acumulado estaba en disposición de efectuar un gran salto al sector industrial. Desde entonces se comienza a hablar más profusamente de nanotecnología, disciplina que busca la aplicabilidad de la nanociencia.

Sin duda alguna, el punto de inflexión que señala este salto del conocimiento básico del laboratorio al tecnológico requerido para llegar al mercado es la puesta en marcha de la Iniciativa Nacional de Nanotecnología de los EE.UU., más conocida como NNI (del inglés National Nanotechnology Initiative) (1). A través de este programa se ha invertido una ingente cantidad de recursos (unos 40.000 millones de dólares en un cuarto de siglo). Se debe señalar que la NNI se ha mantenido en el tiempo independientemente del signo político de la Presidencia de los EE.UU. proporcionando un marco estable de financiación y actuación que ha ido evolucionando en función de los resultados, situación económica, etc. Es importante señalar que esta inversión estratégica tenía la finalidad de posicionar a los EE.UU. al frente de la anunciada revolución industrial que vendría de la mano de la nanotecnología, revolución que afectaría a la práctica totalidad de los sectores productivos gracias a los nuevos productos, materiales y dispositivos con prestaciones mejoradas. La Figura 1 ilustra el carácter multidisciplinar de la nanociencia y el carácter multisectorial de las aplicaciones de la nanotecnología.



El desarrollo de las actividades diseñadas por la NNI pronto convirtió a EE.UU. en el país líder en la generación de conocimiento tanto en artículos científicos publicados como en patentes registradas, desbancando a la Unión Europea (UE) del liderazgo que había tenido en nanociencia en el último tercio del siglo XX tal y como puede consultarse en bases de datos bibliométricas, en particular la denominada STATNANO (2). Sin embargo, hace un poco más de una década, China arrebató a los EE.UU. el liderazgo en cuanto a la publicación de artículos científicos tanto en número total como en aquellos de alta calidad. Este adelantamiento estaba previsto dadas las ingentes cantidades de recursos que China había invertido (e invierte) en ciencia y tecnología. Además, debe destacarse que otros países como la India, Corea del Sur, Arabia Saudí e Irán lideran junto con China y EE.UU. la producción científica en nanociencia habiendo desplazado de las primeras posiciones a países como Japón, Reino Unido o Alemania. Esto es un claro indicador del movimiento del centro de gravedad de la producción del conocimiento hacia los países asiáticos que ha tenido lugar no solo en nanotecnología sino en la mayor parte de los campos científicos.

Por otra parte, en la actualidad EE.UU. sigue liderando el registro de patentes tanto en la Oficina Europea de Patentes (EPO) (3) como en la Oficina Americana de Patentes y Marcas (USPTO) (4). Sin embargo, cinco países asiáticos (con China a la cabeza) amenazan con arrebatarse, de manera conjunta, ese liderazgo a los EE.UU., situación que puede producirse en la próxima década. Los países de la UE cada vez tienen menor peso en ambas oficinas de patentes. Por lo tanto, los países asiáticos, no solo están liderando la publicación de artículos de nanociencia, sino que también se observa el inminente liderazgo en la transferencia de ese conocimiento al sector industrial, lo que es indicativo del importante papel de Asia en la economía mundial.

A modo de resumen se puede mencionar que en las dos últimas décadas se han publicado más de dos millones de artículos científicos y se han registrado más de 100.000 patentes relacionadas con la nanotecnología. Por otro lado, esta ingente cantidad de patentes es un reflejo de la necesidad de proteger un conocimiento que ya se encuentra o se encontrará transferido a numerosos productos comerciales. En estos momentos, hay más de 11.000 productos con mayor o menor contenido de elementos de base nanotecnológica según diversos repositorios de productos entre los que destaca la Nanotechnology Products Database (NPD) (5). Esta información puede tener un margen de error considerable ya que la mayor parte de bases de datos de productos comerciales se basan en encuestas a empresas productoras o comercializadoras o en el registro voluntario de productos. El sector de la electrónica lidera el uso de nanotecnología,



DE LA NANOCIENCIA A LA NANOTECNOLOGÍA

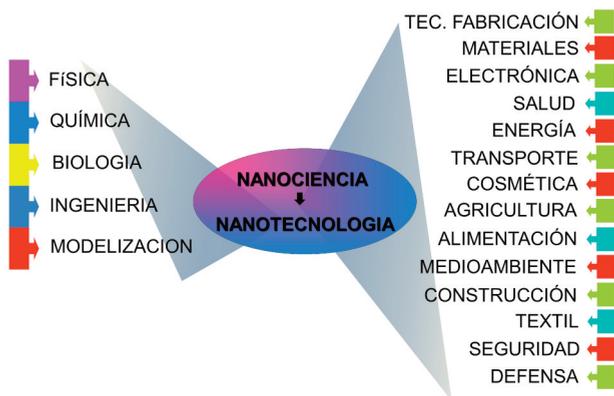


Figura 1. Esquema que ilustra la transición desde la nanociencia, de carácter multidisciplinar, a la nanotecnología, disciplina con carácter transversal en cuanto a los sectores de aplicación.

seguido por la biomedicina, la construcción y la cosmética, como se ilustra en la figura 2. Esto se ha debido esencialmente a los largos periodos de tiempo necesarios (por encima de los 15 años) para que un producto del ámbito biomédico salga al mercado superando todas las fases de ensayos, que se encuentran reguladas por exigentes normativas. Es interesante mencionar que los nanoprodutos del sector farmacéutico no ocupaban esta privilegiada posición hace una década ya que la explosión de productos en este sector se ha dado en los últimos años.

NÚMERO DE PRODUCTOS DE BASE NANOTECNOLOGÍA POR SECTOR DE APLICACIÓN

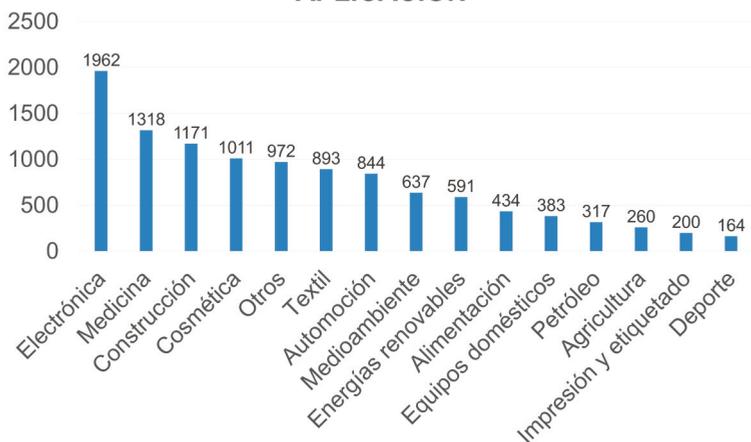


Figura 2. Número de productos de origen nanotecnológico por cada sector de actividad productiva. El conjunto de productos asciende a 11.172. Datos obtenidos el 5/11/2024 de la Nanotechnology Products Database (NPD) (5).



2. NANOMATERIALES: UNA DEFINICIÓN DESDE EL LABORATORIO

Los productos que han aparecido en el mercado pueden agruparse en dos grandes familias. Por un lado, los basados en dispositivos electrónicos (procesadores, memorias, transductores, sensores, ...) y, por otro, los que contienen en mayor o menor proporción diferentes tipos de nanomateriales. Estos últimos se usan a gran escala en sectores como la construcción y la cosmética, aunque también es posible encontrarlos en el sector de la alimentación donde predomina el uso de nanopartículas de dióxido de silicio (SiO_2), dióxido de titanio (TiO_2) o de plata (Ag), como reflejan diversos estudios como los realizados por el instituto estadounidense Center for Food Safety (6). Por lo tanto, una buena parte del desarrollo de la nanotecnología parece que descansa en los nanomateriales. Pero ¿qué es un nanomaterial? Como se verá al final de este artículo existen definiciones que intentan ser muy rigurosas, pero en los laboratorios, por lo general, se usan definiciones más simples y operativas. En el ámbito de la investigación los nanomateriales son aquellos que están constituidos por una o más estructuras u objetos que poseen un tamaño inferior a los 100 nm en alguna de sus tres dimensiones. Por lo general este consenso es el que se utiliza en la mayor parte de la literatura científica.

Esta definición nos permite realizar una primera clasificación de los nanomateriales. Si las tres dimensiones de los objetos poseen tamaños inferiores a los 100 nanómetros hablamos de nanopartículas (que engloban los clústeres en los que se trabaja desde hace varias décadas). Si dos de las dimensiones tienen tamaños inferiores a los 100 nm, mientras que la tercera tiene un tamaño superior a estos 100 nm, hablamos de nanofibras (que incluyen a los nanotubos, nanohilos, nanobarras, etc.). Finalmente, cuando el objeto o estructura tiene dos de sus dimensiones por encima de los 100 nanómetros mientras que la otra no supera este valor, se pueden hablar de nanoplacas (donde se incluyen todos los sistemas 2D que han aparecido en las últimas décadas, entre los que figura el prometedor grafeno).

No debemos dejar de mencionar que los nanomateriales también pueden clasificarse por otros parámetros, como por ejemplo, atendiendo a su origen, de forma que pueden ser de origen natural o humano. En el primer caso nos encontramos con los nanomateriales producidos en emisiones volcánicas, los que se encuentran en arcillas, o los que se sintetizan por diferentes seres vivos, como plantas, bacterias, nemátodos, etc. Por su parte, los de origen humano se clasifican en dos tipos, por un lado, los generados sin intencionalidad como, por ejemplo, los residuos de los trabajos de molienda o de fresado, los que se producen en la combustión de los motores o por el desgaste de neumáticos y por otro, aquellos



nanomateriales que tienen origen claramente intencionado porque se han sintetizado o fabricado en laboratorios a pequeña escala o en grandes fábricas a escala industrial. En la Figura 3 se recogen de manera gráfica las clasificaciones de los nanomateriales atendiendo a su geometría y su origen, mencionadas anteriormente. En el caso de los nanomateriales diseñados y fabricados intencionadamente, las técnicas de fabricación que se pueden emplear son numerosísimas y se encuentran en un proceso de mejora continua con el afán de aumentar el volumen de producción a la vez que se reducen los costes y se minimiza el impacto sobre nuestro planeta (7).

En cualquier caso, ya tengan un origen natural o no, la variedad de nanomateriales existentes es tan extensa como la que encontramos en el mundo macroscópico, ya que para cada material con tamaño macroscópico podemos encontrar su contrapartida nanométrica y en la que podemos introducir una mayor variabilidad modificando el tamaño y/o la forma, entre otros parámetros. Entre los nanomateriales podremos encontrar familias como grandes moléculas, nanopartículas con diferentes formas, puntos cuánticos, fullerenos, grafeno y otros materiales 2D, nanotubos de carbono, transistores, diminutos bits magnéticos, micelas, liposomas con número variable de capas, dendrímeros, materiales zeolíticos, estructuras metal-orgánicas (MOF), contenedores fabricados con ADN, proteínas naturales o diseñadas artificialmente, cápsidas víricas, etc. El catálogo de nanomateriales es prácticamente inabarcable. Por otro lado, en las últimas décadas se han ido consolidando técnicas que permiten funcionalizar muchos de estos nanomateriales con otras estructuras nanométricas, con el fin de dotar de mejores propiedades a los materiales y dispositivos. El conocimiento del ensamblado de diversos tipos de nanomateriales permite diseñar y construir estructuras con una mayor complejidad jerárquica, haciendo realidad el sueño de diseñar materiales o dispositivos con características similares a los que la vida ha logrado tras miles de millones de años de evolución, pero orientados a la realización de otras funciones, que no tienen que estar relacionadas con las vitales.

Una característica propia de los nanomateriales es que poseen unas propiedades diferentes de las de los materiales a escala macroscópica debido a los efectos geométricos causados por su pequeño tamaño. El efecto más reconocible es el del aumento de la superficie específica a medida que el tamaño de la partícula disminuye. Por ejemplo, para un nanoobjeto con 1000 nm de diámetro, la superficie específica es de aproximadamente $6 \text{ m}^2/\text{cm}^3$, pero si su diámetro es 1000 veces menor (1 nm), su superficie efectiva aumentaría un factor 1000. Esta propiedad (superficie específica) escala con una expresión fácil (de tipo polinómico) con el tamaño del nanomaterial. En esta situación se habla de una propiedad que posee una dependencia “clásica” con el tamaño.



CLASIFICACIÓN DE LOS NANOMATERIALES

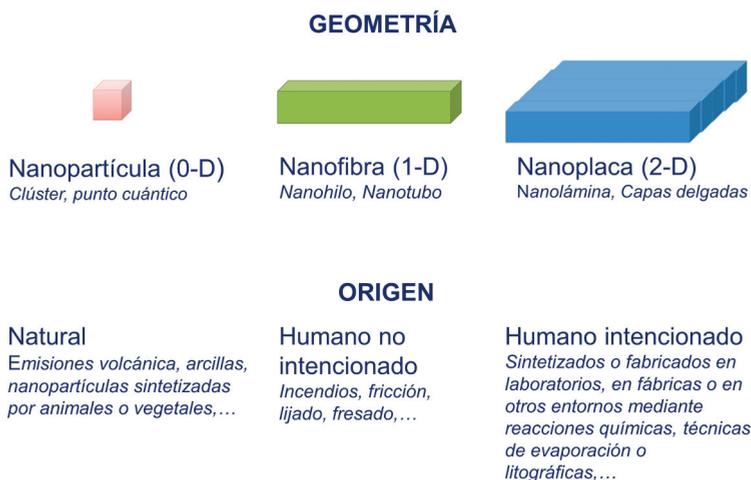


Figura 3. Clasificación de los nanomateriales en base a su geometría y origen.

Sin embargo, cuando los nanomateriales presentan tamaños muy pequeños aparecen otros efectos de gran interés en el ámbito de la física y la química, se trata de los efectos “cuánticos” de tamaño. En este caso, las propiedades del nanomaterial son menos predecibles al ser originadas por la naturaleza ondulatoria de los electrones, que da lugar a complejos fenómenos de interferencia constructiva o destructiva, haciendo que las propiedades del nanomaterial experimenten fuertes variaciones cuando su tamaño sufre cambios pequeños. Este tipo de fenómenos pueden ser interesantes para maximizar o minimizar a voluntad el valor de ciertas propiedades (diseño de materiales a medida), o para construir sistemas capaces detectar pequeños cambios geométricos (nanosensores). Sin embargo, como contrapartida, si el tamaño o la forma del nanomaterial no se controlan adecuadamente pueden aparecer variaciones descontroladas de sus propiedades. El aprovechamiento de las propiedades de los nanomateriales requiere un gran control de su tamaño, forma y composición, lo que representa todo un reto científico-tecnológico.

Un aspecto interesante que hay que tener en cuenta es que a medida que el tamaño del nanomaterial disminuye se pasa de un régimen clásico, con una predictibilidad mayor de sus propiedades, a un régimen cuántico, con un comportamiento más complejo (ilustrado en la Figura 4). Para cada propiedad de interés (mecánica, eléctrica, óptica, magnética, catalítica, etc.) este cambio de régimen ocurre para una cierta longitud característica (L_c) que suele ser inferior a los 100 nm y que puede depender de otras variables (como la composición o la temperatura) (8). Precisamente este cambio entre el comportamiento clásico y el cuántico del nanomaterial

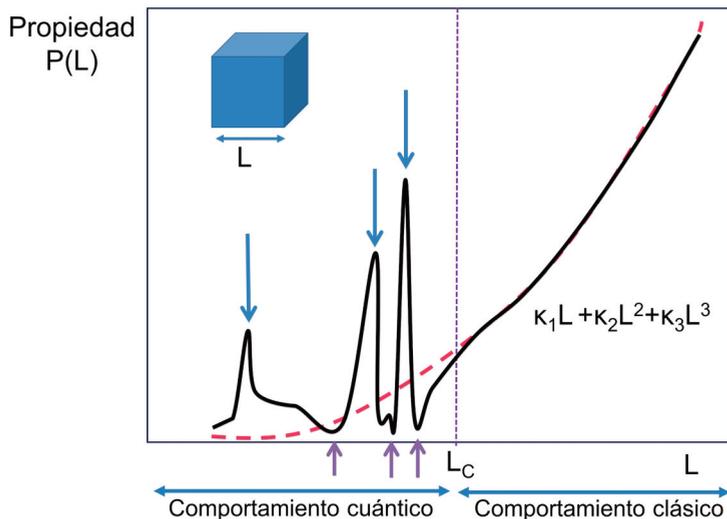


Figura 4. Cambio de régimen entre el comportamiento clásico y el comportamiento cuántico a medida que decrece el tamaño de una nanopartícula cúbica de lado L .

ocurre para tamaños propios de la nanoescala, siendo esta una de las razones por la que físicos, químicos e ingenieros han dirigido sus esfuerzos por entender estos cambios en diversos nanomateriales, encontrándose en numerosas ocasiones con sorprendentes propiedades. Es evidente que estas propiedades novedosas o mejoradas de los nanomateriales son la base para el desarrollo de aplicaciones en muy diversos campos, como se ha señalado anteriormente.

3. EL IMPACTO DE LOS NANOMATERIALES

Tras este breve repaso de la definición y clasificación de los nanomateriales, a nivel de laboratorio, y de la descripción de algunas de sus propiedades y su origen (efectos clásicos o cuánticos) se retoma ahora el asunto del impacto de la nanotecnología, pero centrándose en la producción y el comercio de los nanomateriales. Es notorio que la fabricación, comercialización y empleo de diferentes tipos de nanomateriales está creciendo con un vertiginoso ritmo debido a las bondades de sus propiedades que los hacen interesantes para numerosos sectores productivos. Por lo general, los nanomateriales se incorporan, en pequeñas cantidades, a otros materiales (cementos, polímeros, metales), alimentos, productos cosméticos, etc. como aditivos que aportan mejoras significativas de las propiedades del material de partida, ya sean mecánicas, eléctricas, ópticas, organolépticas, texturales, ... Otro aspecto que ha determinado el crecimiento del mercado de los nanomateriales es la continua mejora de las tecnologías de fabricación, lo que ha permitido su relativo abaratamiento.



Se estima que en 2010 se comercializaron varios cientos de miles de toneladas métricas de nanomateriales, mientras que en estos momentos ya se han superado ampliamente la decena de millones de toneladas anuales, generando un mercado de más de 10.000 millones de euros. Para finales de esta década se espera que esta cifra se multiplique por cuatro o cinco (9). Por lo tanto, nos encontramos ante un sector que va a seguir experimentando un fuerte crecimiento. Una sencilla prueba de la existencia de este mercado de los nanomateriales se puede encontrar accediendo a la plataforma Alibaba (10), el popular sistema chino de compra online de productos, donde fácilmente se puede hacer un pedido de varias toneladas de diversos tipos de nanomateriales por unos pocos miles de euros por tonelada.

Un aspecto relevante de la comercialización y aplicación de los nanomateriales está relacionado con su ciclo de vida. Una buena parte de estos nanomateriales, incorporados en productos de diversa naturaleza, serán liberados una vez que dichos productos cumplan su cometido, al final de su ciclo de vida. Por ejemplo, las nanopartículas incorporadas en un cosmético pueden ser liberadas a las pocas horas de su aplicación, las usadas en un envoltorio de alimentos pueden liberarse en unas pocas semanas y las incorporadas a una matriz de tipo cemento tardarán décadas en liberarse, una vez demolida la estructura constructiva en la que dicho cemento fue empleado. Por lo tanto, tendremos diferentes tiempos que determinan el fin del uso del nanomaterial en función de cada aplicación concreta. Lo que resulta evidente es que los nanomateriales seguirán diversas rutas al final de dicho ciclo de vida (11). Se estima que un 60% de los nanomateriales acabará en vertederos (en unos casos controlados, pero en otros no), un 30% terminará en los suelos, y el resto se incorporará a las masas de agua (ríos, mares) o a la atmósfera. Algunos de estos materiales pueden sufrir transformaciones dando lugar a otras sustancias (que pueden ser o no peligrosas), pero algunos de ellos, menos reactivos pueden perdurar durante largo tiempo en vertederos, suelos, agua o atmósfera. Una buena parte de estos nanomateriales puede ser ingeridos por animales y plantas a medio o largo plazo.

La ingente producción de nanomateriales y lo que ocurra con su ciclo de vida serían un aspecto poco relevante si fuesen totalmente inocuos, pero son numerosos los estudios que claramente indican que en muchos casos hay evidencias de los efectos tóxicos de dichos nanomateriales (12,13). Los nanomateriales presentan unas características específicas que pueden potenciar su posible peligrosidad hacia los seres vivos. Por un lado, se trata de materiales de tamaño nanométrico lo que les permite acceder al interior de las células, por lo que podrían interferir en el funcionamiento del



metabolismo celular, los sistemas de transcripción genética, etc. Por otro lado, los nanomateriales presentan propiedades determinadas por los efectos de tamaño (ya sean clásicos o cuánticos) por lo que pueden manifestar comportamientos diferentes de los que presentan los materiales con tamaños micro o macroscópicos, y esto también afecta a las propiedades tóxicas de los nanomateriales. El lema “lo nano es diferente” también debe considerarse cuando se trata de los posibles efectos tóxicos de los nanomateriales, indicando que los comportamientos que conocemos a escala macroscópica no tienen que ser extrapolados automáticamente a la escala nanométrica. Por tanto, es posible que la toxicología de los nanomateriales no siga los planteamientos de la toxicología clásica. Todo esto hace que los nanomateriales necesiten recibir una atención diferencial y preferente, debido a su creciente uso y su posible peligrosidad.

Se debe mencionar que los estudios toxicológicos sobre nanomateriales presentan una considerable dificultad, tanto por la necesaria acumulación de evidencias estadísticas sólidas sobre las que extraer conclusiones como por la complejidad intrínseca de los estudios necesarios, ya que el número de variables a tener en cuenta es muy elevado. De una parte, aparecen los factores intrínsecos a los propios nanomateriales (composición, distribución de la composición, tamaño, forma, porosidad, carga superficial, porosidad, etc.). Por otra parte, hay que tener en cuenta la forma en que estos nanomateriales se presentan (solución, polvo, distribución de tamaños, capacidad de aglomeración, etc.). En tercer término, se deben tener en cuenta los aspectos relacionados con la exposición al nanomaterial (por ingestión, por vía respiratoria, por contacto con la piel, persistencia, etc.) y, finalmente, se deben estudiar los efectos que tienen realmente los nanomateriales en los tejidos y las células (emisión de iones, producción de radicales libres, estrés oxidativo, impacto genotóxico, etc.). La Figura 5 resume todos estos factores y las principales variables. Como se ve, la cantidad de variables involucradas que deben considerarse es muy grande por lo que los estudios toxicológicos se van realizando teniendo en cuenta solo algunas de ellas y se realizan mayoritariamente en ensayos “*in vitro*”, con menor incidencia de los ensayos “*in vivo*”. En cuanto a los estudios toxicológicos, que en muchos casos requieren un largo periodo de observación y análisis, todavía no se han abordado con profundidad y en muchos casos solo se han limitado a identificar las cohortes que serán estudiadas (14).

A pesar del gigantesco reto que supone el estudio de la toxicidad de los nanomateriales, son numerosas las entidades que están apostando por desarrollar tales estudios. Por ejemplo, se estima que el 5-10% de los proyectos financiados por la Unión Europea en el campo de la



nanotecnología están directamente relacionados con la “nanotoxicología” y que en otra buena parte de los proyectos de investigación sobre nanotecnología el tema de la seguridad y la toxicología de los nanomateriales se tiene en consideración.

Es evidente que el posible impacto negativo de los nanomateriales es un tema que ha entrado en la agenda de la I+D en nanotecnología por las implicaciones que este impacto tienen en diversos colectivos: trabajadores, usuarios, pacientes, etc. Además de estos colectivos hay sectores empresariales que tienen interés por determinar la toxicidad de materiales y tener claras las implicaciones de su uso. En particular, las empresas aseguradoras a lo largo de las dos últimas décadas se han interesado por determinar el riesgo de los nanomateriales, fomentando estudios y publicando numerosos informes. En uno de ellos, la entidad CRO Forum - que aglutina a expertos de diversas compañías aseguradoras-, establece que el riesgo causado por las “pequeñas partículas” es de tipo medio, por lo que se debe realizar un adecuado seguimiento de este tema (15). En todo caso productores, aseguradores, trabajadores y usuarios quieren evitar que los nanomateriales del siglo XXI supongan en el futuro un problema similar al que representó el amianto en el pasado siglo y que a fecha de hoy no está solucionado.

FACTORES DE LA TOXICIDAD DE LOS NANOMATERIALES (NM)

INTRÍNSECOS DEL NM	EXPOSICIÓN AL NM
<ul style="list-style-type: none">▪ Composición y estructura químicas▪ Forma▪ Tamaño▪ Capas: número / enlace▪ Porosidad: densidad▪ Presencia de recubrimientos▪ Funcionalización▪ Área superficial▪ Carga superficial▪ Potenciales Zeta / Redox▪ Carácter hidrofóbico / hidrófilo▪ Reactividad▪ Solubilidad	<ul style="list-style-type: none">▪ Rutas de exposición▪ Forma de aplicación y uso▪ Vías de penetración▪ Absorción▪ Biodisponibilidad▪ Distribución▪ Biopersistencia▪ Interacción en el organismo a nivel celular y molecular▪ Metabolización▪ Eliminación▪ Translocación▪ Interacción/cambios con/por el entorno fisiológico
PRESENTACIÓN DEL NM	EFECTO BIOLÓGICO DEL NM
<ul style="list-style-type: none">▪ Concentración▪ Distribución granulométrica▪ Dispersabilidad▪ Aglomeración▪ Interacción/cambios con/por el entorno (antes de exposición)	<ul style="list-style-type: none">▪ Emisión de iones▪ Producción de radicales libres▪ Estrés oxidativo▪ Genotoxicidad▪ Carácter carcinógeno▪ Daño y viabilidad celular

Figura 5. Factores y variables que deben ser tenidos en consideración a la hora de abordar el estudio toxicológico de los nanomateriales.



4. LA NECESIDAD DE LA REGULACIÓN

Llegados a este punto queda claro que, además de los estudios sobre la toxicidad de los nanomateriales, es necesario regular diferentes aspectos de su uso a partir de los conocimientos que precisamente van aportando dichos estudios. Hay que entender que este uso incluye aspectos como la producción, la manipulación, el transporte, la comercialización, la aplicación, o el reciclado de los nanomateriales teniendo en cuenta cada sector de aplicación (salud, construcción, cosmética, etc.). De nuevo, la tarea es sumamente ambiciosa y compleja, pero es imprescindible pues, como diversos informes de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) apuntan (16), sin un marco normativo adecuado la innovación en cualquier sector económico no puede progresar y, además, la incertidumbre provoca la desconfianza de amplios sectores sociales.

Entidades como la propia OCDE han creado grupos de trabajo que se encargan de diseñar y realizar estudios que luego han permitido publicar diferentes informes y directrices para el ensayo y la aplicación de nanomateriales. Toda esta información se encuentra en la serie de obras dedicada a la seguridad de nanomateriales manufacturados y otros materiales avanzados (17). Por su parte la Organización Internacional de Estandarización (ISO) a través del Comité Técnico ISO/TC 229 sobre Nanotecnologías ha desarrollado en estos momentos 111 estándares, teniendo más de una veintena en fase de desarrollo (18). Estos documentos pretenden homogeneizar a escala internacional, de forma consensuada, los aspectos relacionados con la terminología, la nomenclatura, las especificaciones, las metodologías de medida y caracterización, la sostenibilidad y el impacto medioambiental de los nanomateriales, así como otros aspectos relacionados con sus aplicaciones y el impacto social de las mismas.

Es importante destacar que la regulación de la terminología y la nomenclatura es importante porque en el ámbito del comercio internacional es imprescindible disponer de un marco común que regule las transacciones comerciales, de tal manera que productores, compradores, exportadores e importadores sepan realmente de qué se está hablando a la hora de comercializar productos. También es interesante mencionar que la terminología y la nomenclatura no son cuestiones cerradas y que también experimentan una continua evolución a medida que avanza el conocimiento científico, en particular gracias a la mejora en los instrumentos de medida y caracterización.



En el panorama internacional, sin duda alguna, la UE es el espacio en el que se ha desarrollado una mayor normativa que afecta a diversos sectores y que es de obligado cumplimiento por sus diferentes Estados miembro. Este impulso regulador también ha estado condicionado por la presión de asociaciones de consumidores y usuarios, muy influyentes en la UE y con menor poder en otras regiones. En cualquier caso, el interés de la UE por el tema de los nanomateriales ha propiciado la creación del Observatorio de la UE para los Nanomateriales (EUON) (19). En dicho observatorio se publican noticias con resultados de los proyectos de investigación, informes, guías prácticas, etc. Sin duda alguna, una sección interesante de este Observatorio es la que se dedica a recopilar las diversas regulaciones que la Comisión Europea ha establecido sobre el registro, evaluación, autorización, clasificación y etiquetado de nanomateriales usados en la industria europea, recogiendo también la normativa específica sobre el uso nanomateriales en productos biocidas, cosméticos, alimentarios, y sanitarios. Además, en el Observatorio se incluyen todas las regulaciones dirigidas a mejorar la seguridad de los trabajadores mediante adecuadas evaluaciones de riesgo, así como la adopción de medidas preventivas y organizativas.

Las agencias europeas directamente relacionadas con la actividad de este Observatorio, realizando estudios e informes, son la Agencia Europea para la Seguridad y la Salud en el Trabajo (EU-OSHA), la Agencia Europea del Medicamento (EMA), la Agencia Europea del Medioambiente (EEA), la Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas (ECHA), y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). Entre toda ellas se generado un conjunto de normas único en el mundo, bastante consistente e interrelacionado, que permite decir que la UE es una región bastante “nanosegura”. También se debe decir que este entramado normativo en ocasiones no es visto con buenos ojos por parte del sector empresarial que recela de la excesiva regulación sobre los nanomateriales aduciendo que puede afectar negativamente a la competitividad de la industria europea.

Finalmente se debe mencionar que el observatorio EUON recoge también información sobre la implantación de varios sistemas nacionales de notificación en los que los gobiernos requieren a la industria de cada país que aporte información sobre la producción e importación de los nanomateriales. Tan solo Bélgica, Francia, Dinamarca, Noruega y Suecia poseen sistemas de inventario de nanomateriales (bien específicos o bien incorporados a los inventarios generales de productos). De esta forma es posible saber que, por ejemplo, en el año 2021 en Francia se produjeron unas 240.000 tm de nanomateriales y se importaron otras 70 000 tm, destacando fundamentalmente entre los nanomateriales producidos o



importados el negro de carbón el SiO_2 , y el TiO_2 (20). A medio plazo se espera que estos sistemas nacionales de notificación se implanten en toda la UE de forma que se tenga una información más transparente del impacto comercial de los nanomateriales y determinar los sectores económicos que se encuentran más relacionados con su utilización. Estos datos también permiten priorizar estudios toxicológicos sobre los nanomateriales de mayor uso y, de esta forma, adecuar las medidas de seguridad en el trabajo en las industrias que más los utilicen.

5. SOBRE LA DEFINICIÓN DE NANOMATERIAL

Una vez que se ha mencionado la existencia de un exigente marco regulatorio, fundamentalmente a nivel de la UE, retomamos el tema de la definición de nanomaterial, teniendo en cuenta la normativa existente al respecto. Esta normativa, en principio, debe ir más allá de la empleada en los laboratorios, pues tiene como finalidad establecer unos términos que sean aceptados en diferentes contextos: científico, tecnológico, comercial, y legislativo. Sin embargo, incluso a la hora de realizar una definición consensuada de nanomaterial encontramos diferencias entre países. Por ejemplo, en EE.UU. las agencias relacionadas con la regulación de los nanomateriales -como la Food and Drug Administration (FDA)- poseen unas definiciones de nanomaterial poco restrictivas que son, además, bastante similares a las que se utilizan de forma habitual en los laboratorios de investigación (21). De esta forma, en EE.UU. se define un nanomaterial como aquel que posee alguna de sus tres dimensiones por debajo de los 100 nm, sin entrar en muchos más detalles o condicionantes.

Sin embargo, en la UE se ha intentado tener más precisión al establecer una definición de nanomaterial, lo que ha llevado a la existencia de definiciones propias para cada sector de aplicación de los nanomateriales. A su vez estas definiciones se han ido modificando ligeramente a medida que el conocimiento científico evolucionaba (Figura 6). Para poner algo de orden en esta deriva que estaba generando cierta confusión, la Comisión Europea ha publicado en 2022 una recomendación que pretende unificar lo que se entiende por nanomaterial en todos los textos legislativos y en todos los documentos que emanen de dicha Comisión, así como los que se redacten en las diferentes agencias vinculadas a la UE (22).

En esta recomendación se define nanomaterial como un material natural, accidental o fabricado, constituido por partículas sólidas que están presentes individualmente o como partículas constituyentes identificables en agregados o aglomerados, y en el que el 50 % o más de estas partículas en la granulometría numérica cumple al menos una de las condiciones siguientes:



- a) una o más dimensiones externas de la partícula se hallan en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm;
- b) la partícula tiene forma alargada, como la de una varilla, una fibra o un tubo, y dos de sus dimensiones externas son inferiores a 1 nm, mientras que la otra dimensión es superior a 100 nm;
- c) la partícula tiene forma de placa, y una de sus dimensiones externas es inferior a 1 nm, mientras que las otras dimensiones son superiores a 100 nm.

En la recomendación también se especifica que para determinar la granulometría numérica no será necesario tener en cuenta las partículas con al menos dos dimensiones externas ortogonales superiores a 100 μm , y que los materiales con una superficie específica por unidad de volumen inferior a los 6 m^2/cm^3 no serán considerados nanomateriales. En el mismo texto se presentan las definiciones de partícula, agregado y aglomerado, que no vamos a reproducir aquí, con el fin de unificar también la terminología que se emplea en textos regulatorios y normativos.

SOBRE LA DEFINICIÓN DE NANOMATERIAL (UE)

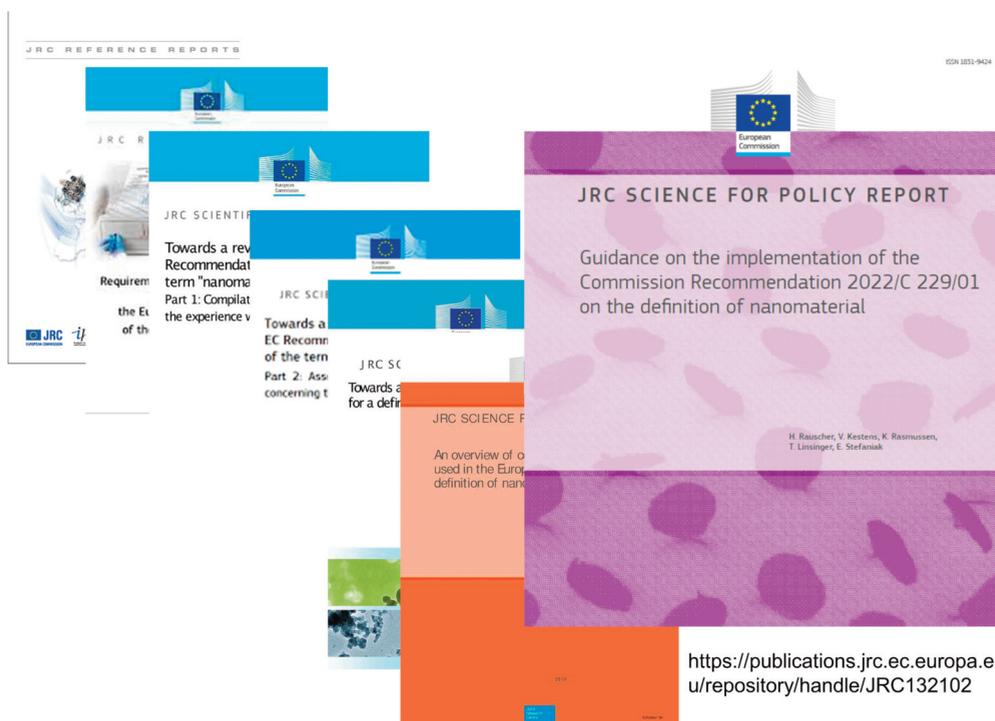


Figura 6. Diferentes textos con recomendaciones y normativa referidas a la definición de nanomaterial que han sido publicados en los últimos 15 años por la Comisión Europea.



Es cierto que esta definición posee algunas lagunas, como por ejemplo la de excluir a las nanopartículas más pequeñas (aquellas que miden menos de 1 nm). Ahora, esta recomendación de definición de nanomaterial se debe trasladar a los documentos que elaboren el resto de agencias de la UE (EFSA, EMA, ...) lo cual llevará cierto tiempo. A modo de ejemplo la definición de nanomaterial aún no se ha actualizado en el propio Observatorio de Nanomateriales de la UE. Por otro lado, la adecuación de las normativas ya existentes o venideras a la nueva definición de nanomaterial no es una tarea fácil como ha ocurrido con el reglamento sobre micropartículas de polímeros sintéticos (23) pues, tras ser sometido a consulta por parte de los grupos de interés, se ha demostrado la imposibilidad de realizar una caracterización adecuada de las partículas poliméricas de menor tamaño y se ha debido adecuar la definición de micro y nanofibras teniendo en cuenta esta limitación, a la espera de que se desarrollen técnicas de caracterización más avanzadas.

7. CONCLUSIONES

Los resultados de la nanociencia que se han ido acumulando desde finales del siglo pasado se han ido convirtiendo en resultados transferibles, en nanotecnología, gracias al impulso de grandes programas de financiación que se han implementado en los países más avanzados. Estos programas han permitido la formación de decenas de miles de científicos, han generado cientos de miles de publicaciones y decenas de miles de patentes con los que se ha construido un armazón de conocimientos que poco a poco se están transformando en productos que están a disposición de los consumidores y usuarios, destacando su impacto en los campos de la electrónica, la biomedicina, la cosmética y la construcción, entre otros.

Dentro del campo de la nanotecnología el estudio y la aplicación de los nanomateriales se ha constituido como uno de sus pilares dado que estos se aplican en numerosos sectores productivos. A lo largo de estas décadas ha tenido lugar el aumento exponencial de la fabricación, la comercialización y el uso de todo tipo de nanomateriales, destacando algunos como el negro de carbón, TiO_2 , SiO_2 y ZnO . Sin embargo, este uso masivo no ha estado exento de cierta preocupación ante del desconocimiento del comportamiento toxicológico de buena parte de los nanomateriales, que pueden tener un efecto tóxico amplificado debido a las nuevas propiedades que emergen debido a su tamaño nanométrico. Ante este desconocimiento y el volumen creciente de nanomateriales en el mercado, la actuación de diferentes entidades (OCDE, ISO, UE,...) ha sido clave, realizando estudios e informes que se han ido convirtiendo en



recomendaciones y regulaciones de diverso tipo que intentan que la llegada de este aluvión de nanomateriales sea lo más segura posible para trabajadores y operarios, usuarios, pacientes, etc. Estas normativas también afectan a las definiciones de los nanomateriales, aspecto crucial para garantizar su comercio internacional y para elaborar regulaciones precisas. Sin embargo, la aplicación de la regulación sobre nanomateriales no está exenta de polémica, como ha ocurrido a lo largo de los últimos ocho años con la controversia suscitada por la prohibición del TiO_2 en productos alimentarios, que puede extenderse al sector farmacéutico en 2025 (24).

Con sus avances y contratiempos, desde hace un par de décadas se está construyendo un entramado regulatorio, una red de seguridad, que permita la incorporación de la nanotecnología a nuestras vidas sin grandes sobresaltos. Este entramado, sin embargo, está en continua construcción porque se alimenta de los datos procedentes de cientos de estudios que están en marcha en numerosos países, y porque cuenta con la participación de diversos grupos de interés que obligan a la revisión de la legislación. Como ocurre con todas las revoluciones, y la de los nanomateriales es una de ellas, se requiere un tiempo de ajuste hasta que se logre una incorporación sostenible de estos nanomateriales en nuestra sociedad, lo que requiere, en cualquier caso, el debate entre todos los actores sociales.

Agradecimientos

El autor agradece a la Real Academia Nacional de Farmacia (RANF) por la organización del Foro Internacional de Nanomateriales celebrado el 7 de noviembre de 2024, y a sus organizadores los catedráticos Dña. María Vallet Regí y D. Antonio Salinas por su invitación a formar parte del grupo de ponentes participantes en este foro. El autor también agradece el patrocinio del evento por parte de la Agrupación Mutual de Asegurados (AMA). Para finalizar, es obligado mencionar el buen quehacer y la dedicación del personal de la RANF en la organización del acto.

8. REFERENCIAS

13. National Nanotechnology Initiative (NNI) (Internet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: <http://www.nano.gov/>
14. STATNANO: Nano science, technology and industry information (Internet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://statnano.com/>
15. European Patent Office (EPO) (Internet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.epo.org>
16. United States Patent and Trademark Office (USPTO) (Internet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.uspto.gov/about-us>



17. Nanotechnology Products Database (NPD) (Internet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://product.statnano.com/>
18. Center for Food Safety (Internet]. Center for Food Safety. (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://www.centerforfoodsafety.org/>
19. Gill R. An overview on latest developments in nanomaterial fabrication. Mater Today 2021;37:3096-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2020.09.019>
20. Pitkethly MJ. Nanomaterials - the driving force. Mater Today (Kidlington) 2004;7(12):20-9. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s1369-7021\(04\)00627-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1369-7021(04)00627-3)
21. IndustryARC. Global Nanomaterials Market - Forecast (2024-2029). Madhapur: Industry ARC 2024. Disponible en: <https://www.industryarc.com/Research/Global-Nanomaterials-Market-Research-502988>
22. Alibaba (Internet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://www.alibaba.com/>
23. Keller AA, McFerran S, Lazareva A, Suh S. Global life cycle releases of engineered nanomaterials. J Nanopart Res 2013;15(6). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11051-013-1692-4>
24. Zainon NKR, Che Abdullah CA, Jamaludin NS. Toxicity of Nanomaterials. En: Shanker U., Hussain C.M., Rani M., Eds. Handbook of Green and Sustainable Nanotechnology. Cham: Springer International Publishing Springer 2023. p. 2623-43. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-3-031-16101-8_37
25. Bermejo Bermejo M, Serena Domingo PA. Los riesgos de la nanotecnología. Madrid: La Catarata y CSIC 2017.
26. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). Potencial exposición a nanomateriales en entidades de I+D+i - Año 2019. Madrid: INSST 2019. (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://www.insst.es/documentacion/material-tecnico/documentos-tecnicos/potencial-exposicion-a-nanomateriales-en-entidades-de-i-d-i-ano-2019>
27. CRO Forum. Emerging Risks Initiative. Major Trends and Emerging Risk Radar 2024. Amstelveen: CRO Forum 2024. (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://thecroforum.org/emerging-risks-initiative-major-trends-and-emerging-risk-radar-2024/>
28. Organisation for Economic Co-operation and Development (OCDE). Safe(r) and Sustainable Innovation Approach (SSIA): Nano-Enabled and other Emerging Materials. París: OCDE 2023. (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/nanomaterials-and-advanced-materials/safer-and-sustainable-innovation-approach-ssia-nano-enabled-and-other-emerging-materials.html>
29. OECD Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials and other Advanced Materials (Internet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-series-on-the-safety-of-manufactured-nanomaterials-and-other-advanced-materials_e7a5fc17-en



30. Comité Técnico ISO/TC 229 sobre Nanotecnologías (Intenet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.iso.org/es/contents/data/committee/38/19/381983.html>
31. Observatorio de la UE para los Nanomateriales. (Intenet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://euon.echa.europa.eu/es/home>
32. Declaration of Nanomaterials. R-Nano register. (Intenet) (Consultado el 6 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.r-nano.fr/>
33. Food and Drug Administration (FDA). Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials. Guidance for Industry. Silver Spring: FDA 2022 (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://www.fda.gov/media/157812/download?attachment>
34. Comisión Europea (CE). Recomendación de la Comisión de 10 de junio de 2022 relativa a la definición de nanomaterial (2022/C 229/01) 2022 (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32022H0614%2801%29>
35. Comisión Europea (CE). Reglamento (UE) 2023/2055 de la Comisión de 25 de septiembre de 2023 que modifica, por lo que respecta a las micropartículas de polímeros sintéticos, el Anexo XVII del Reglamento (CE) 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y mezclas químicas (REACH). 2023 (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2023-81334>
36. AVICENN. Towards the ban on titanium dioxide in cosmetics and medicines? (27 de junio de 2024) (Consultado el 6 de noviembre de 2024] Disponible en: <https://veillenanos.fr/en/dossier/governance/nano-regulations/tio2-ban-extension/>



Nanomateriales para transformar el mundo

Nanomaterials to transform the World

Agustina Asenjo

Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid, CSIC,
C/ Sor Juana Inés de la Cruz 3, 28049-Madrid, España

e-mail: a.asenjo@csic.es



PALABRAS CLAVE

Nanomateriales
Retos sociales
Nanopartículas
Nanomedicina
Nanoelectrónica
Microscopías de
barrido

KEYWORDS

Nanomaterials
Social Challenges
Nanoparticles
Nanomedicine
Nanoelectronics
Scanning Probe
Microscopies

RESUMEN

La nanotecnología tiene un impacto significativo en la sociedad abordando desafíos globales como salud, medio ambiente, recursos y desigualdades. Contribuye a mejorar tratamientos médicos, optimizar la agricultura y la gestión del agua, y avanzar en la descarbonización. Además, favorece la infraestructura, la economía circular y la educación en ciencia. Es decir, es un medio facilitador para alcanzar los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU. Materiales como el grafeno, con propiedades excepcionales, ilustran cómo la nanotecnología transforma los materiales a escala nanométrica para aplicaciones en electrónica, medicina y sostenibilidad. La nanotecnología también impulsa avances en energía, mejorando baterías, células solares y biocombustibles, y en la construcción, con superficies autolimpiantes y anticontaminantes. En agricultura, mejora la eficiencia de pesticidas y fertilizantes, y en biomedicina, facilita la liberación controlada de fármacos y terapias avanzadas. A pesar de sus beneficios, es crucial gestionar los riesgos éticos y ambientales para garantizar su uso responsable y equitativo.

ABSTRACT

Nanotechnology has a significant impact on society by addressing global challenges such as health, the environment, resources, and inequalities. It contributes to improving medical treatments, optimizing agriculture and water management, and advancing decarbonization. Additionally, it supports infrastructure, the circular economy, and science education. In other words, it is an enabling tool to achieve the United Nations' Sustainable Development Goals. Materials like graphene, with exceptional properties, illustrate how nanotechnology transforms materials at the nanoscale for applications in electronics, medicine, and sustainability. Nanotechnology also drives advances in energy, improving batteries, solar cells, and biofuels, and in construction, with self-cleaning and anti-pollution surfaces. In agriculture, it enhances the efficiency of pesticides and fertilizers, and in biomedicine, it enables controlled drug release and advanced therapies. Despite its benefits, it is crucial to manage ethical and environmental risks to ensure its responsible and equitable use.



1. IMPACTO DE LOS MATERIALES EN NUESTRA VIDA

Antes de preguntarnos por el impacto de los nanomateriales en nuestra sociedad (1), debemos reflexionar sobre cuáles son los problemas más acuciantes que sufre la población humana en la actualidad (2) y que tienen mucho que ver con los Objetivos del Desarrollo Sostenible ODS (3) marcados por las Naciones Unidas en 2015. Los ODS se plantearon como respuesta a los problemas de la sociedad mediante una acción colectiva urgente para garantizar la sostenibilidad del planeta y el bienestar humano. También para responder a los retos económicos y tecnológicos.



Figura 1. Los principales retos de la humanidad organizados en temas de Salud, Clima, Recursos y Sociedad, y su relación con los ODS (Objetivos de Desarrollo Sostenible). Adaptado de (2) y (3)

En el artículo de Jose and Ramakrishna (2) se identifica los principales desafíos existenciales que enfrenta la humanidad, agrupados en temas de salud, medio ambiente, recursos y sociedad que tienen su reflejo en los ODS (ver Figura 1) que buscan abordar las causas y consecuencias de estos problemas de manera integral:

Salud mental: El estrés, la competencia por recursos, el balance entre vida laboral y personal o el aislamiento digital afectan el bienestar psicológico. Directamente vinculado con el ODS 3 (Salud y bienestar), que reconoce la importancia de la salud mental y el bienestar como parte integral de la salud pública.

Enfermedades patógenas: Nuevas pandemias como la causada por el virus del COVID-19 o posibles variantes de la viruela del mono, junto con la de



variantes peligrosas como el virus de las alas deformes que afecta a abejas, ponen en riesgo a la población humana, el suministro de alimentos y la supervivencia de especies esenciales. Esto está relacionado con el ODS 3 que incluye el fortalecimiento de la capacidad para prevenir, detectar y responder a pandemias y enfermedades emergentes. También se vincula con el ODS 15 (Vida de ecosistemas terrestres), que aboga por proteger la biodiversidad, esencial para los ecosistemas.

Eventos climáticos extremos: La creciente emisión de gases de efecto invernadero produce calentamiento global que afecta a la vida humana de forma desigual provocando olas de calor, inundaciones o sequías. A pesar de los esfuerzos por controlar las emisiones, la emisión de gases como el metano aumentan peligrosamente, agravando el cambio climático. Estos riesgos están relacionados con el ODS 13 (Acción por el clima), que busca reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y fortalecer la resiliencia ante desastres climáticos. También se conecta con el ODS 7 (Energía asequible y no contaminante) para fomentar una transición hacia energías limpias.

Acceso a recursos esenciales: La creciente población mundial demanda alimentos, agua, energía y aire limpio, pero la desigual distribución y el acceso limitado a estas necesidades exacerban las desigualdades. Vinculado con varios ODS, como el ODS 2 (Hambre cero), ODS 6 (Agua limpia y saneamiento), el ODS 7, que trabajan por un acceso universal y equitativo a recursos vitales y el ODS 14 (Vida Submarina).

Recursos sostenibles: La sobreexplotación de materiales para la producción industrial incrementa las emisiones de gases de efecto invernadero, requiriendo estrategias más sostenibles. Relacionado con el ODS 12 (Producción y consumo responsables), que promueve el uso eficiente de los recursos naturales y una economía circular para minimizar el impacto ambiental y el ODS 11 (Ciudades y Comunidades Sostenibles) que pretende lograr que las ciudades y los asentamientos humanos sean inclusivos, seguros, resilientes y sostenibles.

Agricultura sostenible: La urbanización y el cambio en el uso de suelos reducen las tierras agrícolas y aumenta la generación de residuos. La implantación de determinados cultivos también afecta a la biodiversidad. Por otro lado, la lejanía geográfica de productores y consumidores hace que las emisiones por transporte de alimentos sea un problema energético y geopolítico añadido. Conecta con el ODS 2 (Hambre Cero), al promover prácticas agrícolas sostenibles que aumenten la productividad, y el ODS 15 (Vida de Ecosistemas Terrestres), enfocado en la gestión sostenible del suelo.



Desigualdades: La concentración de riqueza y de productores de emisiones en pocos países agrava las divisiones sociales y económicas y supone riesgos de inestabilidad a largo plazo. Relacionado con el ODS 10 (Reducción de las desigualdades), que aboga por la equidad económica y social, el ODS 1 (Fin de la pobreza) para combatir la exclusión, el ODS 5 (Igualdad de Género) para lograr la igualdad entre los géneros y empoderar a todas las mujeres y las niñas y el ODS 4 (Educación de calidad) para promover oportunidades de aprendizaje durante toda la vida para todos.

Pérdida de valores humanos: El egoísmo y divisiones políticas erosionan valores esenciales para la cooperación y el progreso global. Conecta transversalmente con el ODS 16 (Paz, justicia e instituciones sólidas), fomentando la cooperación y el respeto mutuo como base para sociedades más justas y sostenibles y el ODS 4 para garantizar una educación inclusiva, equitativa y de calidad.

Amenazas sociales: Las guerras, el terrorismo y desastres naturales generan inestabilidad global. Vinculado con el ODS 16, que promueve la paz, la estabilidad y la reducción de conflictos

Cambios demográficos: El envejecimiento poblacional y las migraciones plantean grandes retos sociales y económicos. Relacionado con el ODS 8 (Trabajo decente y crecimiento económico), que aborda las necesidades de una población envejecida, y el ODS 3, que incluye el bienestar de personas mayores.

Los ODS proporcionan un marco estratégico para mitigar estos desafíos y avanzar hacia un futuro más sostenible y equitativo, donde como veremos, la nanotecnología tiene un papel relevante.

2. ¿CÓMO PUEDE LA NANOCIENCIA Y LA NANOTECNOLOGÍA AYUDAR A LOGRAR LOS ODS?

La nanociencia y la nanotecnología tienen un enorme potencial para contribuir al logro de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), al proporcionar soluciones innovadoras y eficientes en una amplia gama de áreas (4). Tenemos nanofármacos que viajan dentro del organismo hasta el foco de la enfermedad y liberan de forma controlada el principio activo; nanobiosensores que permiten hacer diagnósticos en los primeros estadios de una patología o detectar simultáneamente distintas sustancias en medios gaseosos y líquidos; o laboratorios de bolsillo (lab-on-a-chip) que llevan a cabo cientos de experimentos modificando condiciones o composiciones y ahorrando así mucho tiempo en la investigación. La nanociencia y la nanotecnología son herramientas transformadoras para abordar desafíos globales, proporcionando soluciones innovadoras y sostenibles que pueden acelerar el cumplimiento de muchos de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ver figura 2):



- **ODS 2: Hambre Cero.** El uso de fertilizantes y pesticidas basados en nanomateriales mejoran la eficiencia de nutrientes y reducen el uso excesivo de químicos en la agricultura, protegiendo los suelos. Por otro lado, puede mejorar la calidad de alimentos mediante la detección de contaminantes en cultivos o en el agua utilizando sensores que utilizan nanotecnología.
- **ODS 3: Salud y Bienestar.** La nanomedicina facilita el desarrollo de diagnósticos rápidos, terapias dirigidas y liberación controlada de medicamentos, mejorando la eficacia de los tratamientos y reduciendo efectos secundarios. Un ejemplo claro son las vacunas avanzadas como las desarrolladas contra el COVID 19 que utilizan ARN mensajero.
- **ODS 4, ODS 8 y ODS 10: Educación de Calidad, Trabajo Decente y Crecimiento Económico y Reducción de las Desigualdades.** La educación en ciencia y especialmente en Nanotecnología a través de materiales interactivos y dispositivos accesibles mejoran la experiencia de aprendizaje en STEM (ciencia, tecnología, ingeniería y matemáticas). Esto es clave el desarrollo económico de la sociedad, lograr trabajo de calidad y la reducción de las desigualdades.
- **ODS 6, ODS 14 y ODS 15: Agua Limpia y Saneamiento, Vida Marina y Ecosistemas Terrestres.** Existen distintas estrategias para la limpieza de agua que incluyen materiales nanoporosos que eliminan contaminantes, bacterias y metales pesados del agua con alta eficiencia o las nanopartículas funcionalizadas (magnéticas) que permiten también la separación de contaminantes o la desalinización eficiente. Las nanopartículas pueden utilizarse además en la descontaminación de suelos afectados por metales pesados o derrames de petróleo. También se está estudiando cómo utilizar la nanotecnología para mantener la biodiversidad por ejemplo combatiendo enfermedades que afectan a especies clave como las abejas.
- **ODS 7: Energía Asequible y No Contaminante.** Hay diferentes alternativas basadas en materiales nanoestructurados que mejoran la eficiencia y reducen los costos de producción de paneles solares o baterías de iones de litio y supercondensadores basados en nanomateriales que tienen mayor capacidad y durabilidad que otras alternativas de almacenamiento de energía.
- **ODS 9 y ODS 12: Industria, Innovación e Infraestructura, Producción y Consumo Responsables.** Los nanomateriales avanzados facilitan la construcción de infraestructuras más resistentes, ligeras y sostenibles. Por otro lado, los nanosensores mejoran procesos de manufactura y monitoreo industrial, reduciendo desperdicios y optimizando recursos.



La nanotecnología también facilita el reciclaje eficiente de materiales, como el reciclaje de metales preciosos en dispositivos electrónicos favoreciendo la economía circular. El sector industrial también puede obtener ventajas del uso de nanocompuestos que reducen el consumo de materiales críticos o favorecen el uso de otros más ligeros y duraderos reduciendo el impacto ambiental.

- **ODS 11 y ODS 13:** Ciudades y Comunidades Sostenibles y Acción por el Clima. Uno de los problemas principales es la contaminación atmosférica. El uso de materiales nanoporosos o altamente reactivos como el óxido de grafeno mejoran la captura y almacenamiento de dióxido de carbono mejorando la sostenibilidad de las ciudades. También el monitoreo de las condiciones ambiental utilizando sensores basados en nanotecnología permiten una detección precisa y en tiempo real de emisiones de gases de efecto invernadero.
- **ODS 16:** Paz, Justicia e Instituciones Sólidas. Las Tecnologías seguras que permiten proteger la información sensible en tecnologías de comunicación, promoviendo sociedades más seguras.
- **ODS 1 y ODS 5.** Asegurar la sostenibilidad, la educación y la paz también favorece avanzar en la reducción de la pobreza y mejorar en igualdad de género.

Retos éticos y sostenibilidad

Aunque la nanociencia tiene un gran potencial, es crucial abordar sus riesgos ambientales y éticos. Esto incluye asegurar que los nanomateriales no dañen ecosistemas y que su uso sea accesible para países en desarrollo, promoviendo una implementación equitativa y responsable.



Figura 2: Nanomateriales para mejorar la vida



3. ¿QUÉ TIENE DE ESPECIAL LA NANOESCALA?

Los materiales con al menos una de sus dimensiones en el rango entre 1 y 100 nanómetros, los denominamos nanomateriales. Dichos materiales exhiben propiedades únicas que no se observan en escalas macroscópicas. Esto ocurre debido a varios factores clave:

- **Cambio de propiedades físicas:** En la nanoescala, las propiedades mecánicas, eléctricas, ópticas, térmicas y magnéticas de los materiales se alteran significativamente. Esto es debido a que los tamaños de los materiales se acercan a las longitudes características de distintas propiedades físicas como se indica en la Tabla 1. Por ejemplo, las nanopartículas de oro pierden su color característico de las dimensiones macroscópicas y adquiere colores como el rojo o el azul dependiendo de su tamaño, gracias a efectos plasmónicos.
- **Relación superficie-volumen:** Al reducirse el tamaño de las partículas, aumenta la relación entre superficie y volumen, lo que tiene efectos notables en las propiedades del material. Este fenómeno mejora características como la conductividad térmica, la resistencia mecánica y la capacidad catalítica. Por ejemplo, los nanomateriales catalíticos tienen superficies más activas, lo que los hace más eficientes para procesos como la fotocatalisis.
- **Propiedades completamente nuevas:** La nanoescala da lugar a fenómenos inéditos, como el comportamiento antibacteriano en nanopartículas de plata, superficies superhidrofóbicas que repelen el agua y materiales autolimpiantes utilizados en vidrios o textiles avanzados.

Tabla 1. Algunos valores típicos de distintas magnitudes físicas

Electrónicas			Magnéticas		Ópticas		Térmicas	Mecánicas		Biológicas
Longitud de onda	Recorrido libre medio	Túnel	Canje	Pared de dominio	Longitud de onda (V,UV)	Onda evanescente	Recorrido libre medio fonones	Interacción dislocaciones	Borde de grano	Reconocimiento molecular
1 nm	1-100 nm	1-10 nm	0,1-10 nm	10-100 nm	100-700 nm	10-100 nm	>>100nm	1-1000nm	1-10 nm	1-10 nm

Un ejemplo destacado es el grafeno (5), un material bidimensional formado por una sola capa de átomos de carbono dispuestos en forma hexagonal (ver figura 3). El grafeno es increíblemente resistente (200 veces más fuerte que el acero), flexible, ligero, y tiene una conductividad eléctrica y térmica excepcional. Estas propiedades hacen que sea prometedor en aplicaciones que van desde baterías hasta sensores y dispositivos electrónicos avanzados.

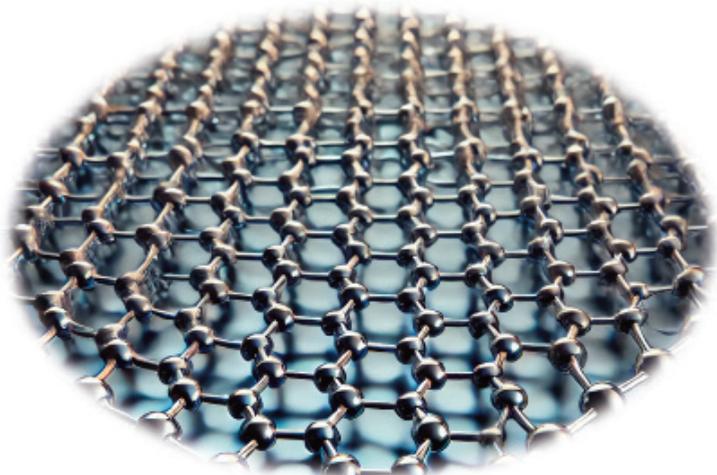


Figura 3. Esquema de la estructura de grafeno generada por IA

Reducir los tamaños de los materiales a la nanoescala transforma sus propiedades, revelando un potencial revolucionario para la ciencia y la tecnología del futuro.

4. ¿DÓNDE ENCONTRAMOS NANOTECNOLOGÍA?

La nanotecnología está presente en una variedad de áreas, desde productos cotidianos hasta aplicaciones industriales avanzadas (6). En la electrónica, por ejemplo, ha revolucionado el diseño de transistores y circuitos integrados. Los procesadores modernos utilizan transistores en la escala de nanómetros, lo que permite una mayor densidad de componentes en dispositivos más pequeños y eficientes. La nanotecnología también está en el desarrollo de pantallas OLED y baterías avanzadas para dispositivos electrónicos. También se utiliza en medicina, como en el diseño de nanopartículas para la liberación controlada de medicamentos, capaces de dirigirse a células específicas, como en tratamientos contra el cáncer. Encontramos nanotecnología en recubrimientos antibacterianos, textiles inteligentes, cosméticos, alimentos, y purificación de agua mediante membranas nanoporosas.

En la naturaleza, hay ejemplos sorprendentes de nanoestructuración. Las alas de las mariposas (7), tienen nanoestructuras que dispersan la luz, produciendo colores brillantes y cambiantes sin pigmentos. Las patas del gecko utilizan nanoestructuras en forma de pelos diminutos que generan fuerzas de van der Waals, permitiéndoles adherirse a superficies lisas. En plantas, las hojas de loto tienen una superficie nanoestructurada que repele el agua y la suciedad, un fenómeno conocido como efecto loto, aplicado



en el desarrollo de materiales autolimpiantes (8). Los pétalos de rosa tienen estructuras similares que contribuyen a su capacidad para retener gotas de agua en su superficie. La nanoestructuración es diferente en cada caso debido al desarrollo evolutivo.

Además, algunas bacterias como las magnetotácticas producen nanopartículas magnéticas (9) de alta calidad, como magnetita, que les permiten orientarse en el campo magnético terrestre. Este fenómeno inspira aplicaciones en biomedicina, como en terapias dirigidas o imágenes de resonancia magnética mejoradas.

La nanotecnología no solo amplifica capacidades tecnológicas, sino que imita y aprovecha principios encontrados en la naturaleza, abriendo un mundo de posibilidades innovadoras.

5. MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE NANOMATERIALES

La preparación de nanomateriales es fundamental para desarrollar propiedades específicas apropiadas para las diferentes aplicaciones y requiere métodos especializados para controlar su composición, forma y estructura. Existen tres enfoques principales para su síntesis: métodos físicos, químicos y biológicos, cada uno con ventajas específicas y adaptados a diferentes necesidades. También podemos clasificar las técnicas en función de la estrategia a seguir en métodos de arriba hacia abajo o de abajo hacia arriba.

En los métodos “de arriba hacia abajo”, se parte de materiales macroscópicos y se los reduce a la escala nanométrica (10). Esta estrategia involucra principalmente métodos físicos como la molienda de alta energía o activación mecanoquímica que utiliza molinos de bolas para romper partículas grandes. También se emplean técnicas como la litografía, especialmente importante en la fabricación de dispositivos electrónicos, donde se crean patrones nanométricos mediante grabado en superficies, en combinación con la deposición de capas delgadas por métodos físicos (pulverización catódica, ablación láser, evaporación). Estas técnicas son más costosas pero muy versátiles en cuanto a tamaños y geometrías. Por otro lado, la aproximación “de abajo hacia arriba” involucra tanto métodos físicos como químicos para ensamblar unidades básicas y generar estructuras más complejas. Esta metodología es más rentable económicamente. Entre estas técnicas destaca la síntesis química, como la precipitación y el crecimiento en solución. La deposición química en fase vapor (CVD) es otra técnica crucial, particularmente para materiales como el grafeno o nanotubos de carbono, al permitir que los átomos se depositen



sobre una superficie formando estructuras precisas. Otra técnica muy utilizada es la sol-gel, que transforma soluciones líquidas en nanopartículas sólidas a través de reacciones de hidrólisis y condensación. Este método es ampliamente usado para fabricar nanopartículas cerámicas y recubrimientos.

Además, las técnicas basadas en biotecnología están ganando relevancia, empleando organismos vivos para sintetizar nanomateriales de forma sostenible. La síntesis biológica es una alternativa que emplea organismos vivos como bacterias, hongos y plantas para fabricar nanomateriales. Estas entidades pueden reducir iones metálicos a nanopartículas mediante enzimas o metabolitos. Por ejemplo, bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* se utilizan para sintetizar nanopartículas de oro y plata. Los métodos biológicos destacan por su baja toxicidad y compatibilidad ambiental, convirtiéndolos en una opción prometedora para aplicaciones en biomedicina y sensores.

La elección del método adecuado depende de factores como el tipo de nanomaterial, la escala de producción y la aplicación deseada. Mientras los métodos físicos ofrecen precisión, los químicos brindan versatilidad y los biológicos aseguran sostenibilidad. Por ello, la selección adecuada del método es clave para optimizar el rendimiento de los nanomateriales en campos como la electrónica, la medicina o la energía.

6. ¿CÓMO CARACTERIZAMOS NANOMATERIALES?

La caracterización de nanomateriales es esencial para comprender sus propiedades estructurales, químicas, eléctricas, magnéticas y ópticas, que a menudo difieren significativamente de los materiales a escala macro. Existen diversas técnicas especializadas que permiten evaluar estos materiales a nivel nanométrico, y se pueden distinguir métodos de caracterización estructural, espectroscópica, electrónica, mecánica, magnética, térmica y de propiedades superficiales.

Dentro de las técnicas de caracterización estructural hay que destacar las microscopías electrónicas (11) tanto de transmisión (TEM) como de barrido (SEM). El TEM ofrece imágenes detalladas de las estructuras internas, permitiendo observar átomos individuales y determinar la morfología, el tamaño y la disposición de partículas. Por otro lado, el SEM proporciona imágenes de alta resolución de las superficies, útiles para estudiar la topografía y la composición.

Las técnicas espectroscópicas son esenciales para analizar la composición química y las propiedades ópticas de los nanomateriales. Hay que destacar la espectroscopía Raman¹² para estudiar vibraciones moleculares y modos



crystalinos y la espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) herramienta para determinar la composición elemental y los estados químicos de los elementos en la superficie de los nanomateriales.

Existe un grupo de técnicas que se engloban bajo el nombre de Microscopía de Sonda de Barrido (SPM del inglés Scanning Probe Microscopy) que incluye herramientas como la microscopía de fuerza atómica (AFM) y la de efecto túnel (STM) (13). Estas técnicas han sido fundamentales para el desarrollo de la nanociencia y la nanotecnología. El Microscopio de efecto túnel fue desarrollado en los años 80 del siglo XX en los laboratorios de IBM en Zurich por Binnig y Rohrer (14). Esta herramienta permite visualizar los átomos de la superficie e incluso manipular la materia a escala atómica. Las potentes imágenes producidas por este microscopio abren la puerta a conocer el comportamiento de la materia a una escala nunca antes imaginada. El STM utiliza la corriente de efecto túnel entre la punta y la muestra para estudiar la morfología de la superficie y su estructura electrónica con resolución atómica. El AFM, desarrollado en el mismo centro por Binnig, Quate y Gerber (15) unos años más tarde, se basa en la interacción entre la superficie de la muestra y una punta afilada que barre la superficie. Las fuerzas ejercidas entre punta y muestra varían típicamente entre 10^{-9} y 10^{-11} N y para detectarlas se utiliza un sistema óptico donde la punta es colocada en el extremo de una micropalanca (ver Figura 4). La micropalanca se deflecta debido a la interacción punta-muestra y esa deflexión se mide haciendo incidir un láser en el extremo de la palanca y recogiendo la señal con un fotodiodo. El AFM utiliza una sonda

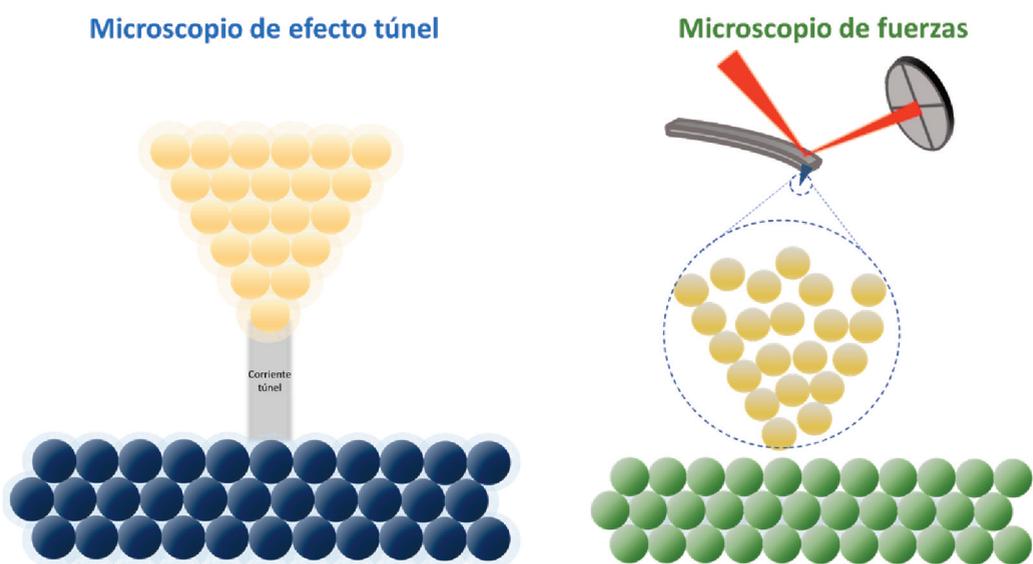


Figura 4. Esquemas de dos de las técnicas conocidas como Microscopía de Sonda de Barrido: el microscopio de efecto túnel (STM) y el microscopio de fuerzas (AFM)



que barre la superficie del material, generando mapas de topografía con resolución nanométrica (o atómica trabajando en condiciones de no-contacto generalmente alcanzadas en atmósfera de ultra-alto-vacío). También evalúa propiedades mecánicas, eléctricas y magnéticas en materiales diversos desde superficies inorgánicas hasta material biológico (16).

7. NANOMATERIALES PARA ELECTRÓNICA Y COMUNICACIONES

Los nanomateriales han revolucionado el desarrollo de la electrónica y las comunicaciones, gracias a la posibilidad de manipular estructuras en la escala de los nanómetros. Los sistemas electrónicos actuales utilizan tecnología de semiconductores con tamaños de pista por debajo de los 10 nm, lo que permite fabricar procesadores más rápidos y eficientes. Esto ha llevado a dispositivos de consumo más compactos, como teléfonos móviles, computadoras portátiles y dispositivos que permiten desarrollar lo que se denomina Internet de las cosas (Internet of things, IoT), que funcionan con una alta eficiencia energética.

En el almacenamiento de información, los discos duros tradicionales basados en materiales magnéticos deben enfrentarse a una limitación física conocida como límite superparamagnético, tamaño típico dado para cada material, a partir del cual los bits magnéticos no son capaces de almacenar información debido a las fluctuaciones de la imanación activadas térmicamente. Para superar esta barrera, tecnologías emergentes como las *racetrack* memory (17) (ver figura 5) ofrecen soluciones prometedoras. Estas tecnologías proponen utilizar entidades magnéticas nanométricas como paredes de dominio, skyrmions (18) o puntos de Bloch para almacenar

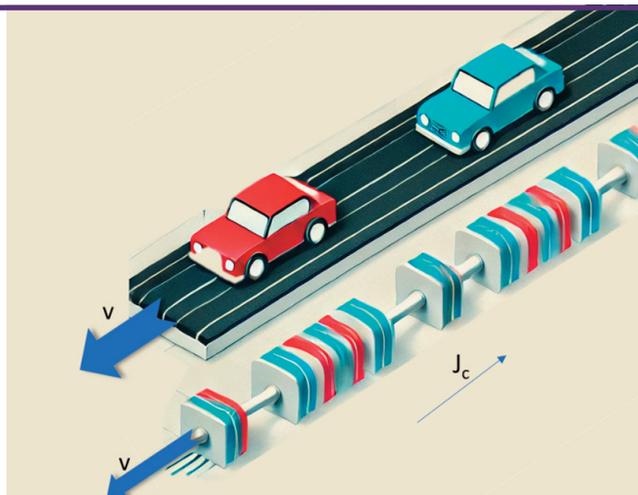


Figura 5. Esquema de un dispositivo tipo “racetrack” donde la información es movida por corrientes y se almacena en diferentes entidades magnéticas.



información. A diferencia de los discos duros convencionales, estas memorias no tienen partes móviles, son más rápidas, consumen menos energía y son altamente duraderas.

Además, los nanomateriales bidimensionales, como el grafeno y el disulfuro de molibdeno, están siendo explorados para crear transistores más eficientes, transparentes y flexibles, lo que impulsa su aplicación en pantallas flexibles, sensores y dispositivos portátiles avanzados. Otro ejemplo clave es el uso de nanohilos y nanotubos de carbono y en circuitos electrónicos para mejorar la conductividad y la miniaturización.

También hay importantes aplicaciones en el campo de la sensórica con el desarrollo de sensores basados en nanomateriales para detectar señales, composiciones, etc. con muy alta sensibilidad.

En las comunicaciones ópticas, las nanopartículas plasmónicas permiten manipular la luz en dispositivos nanofotónicos, lo que mejora la velocidad y la capacidad de transmisión en redes de fibra óptica. Esto también encuentra aplicaciones en el desarrollo de LEDs más eficientes y pantallas de alta definición.

Los avances en nanotecnología aplicada a la electrónica están impulsando el diseño de sistemas más rápidos, compactos, energéticamente eficientes y preparados para superar las limitaciones actuales de los dispositivos convencionales.

8. NANOMATERIALES PARA SOSTENIBILIDAD

La nanotecnología tiene un gran impacto en el sector energético, abarcando desde los procesos de transmisión, al almacenamiento, la generación o la conversión de energía. Estos materiales ofrecen soluciones innovadoras como propiedades catalizadoras para producir biocombustibles, mejorar la eficiencia de baterías, o facilitar la generación de hidrógeno y el desarrollo de células de combustible. Por ejemplo, en el campo de la iluminación, las luces LED representan un avance significativo. En 2014, los científicos japoneses Isamu Akasaki, Hiroshi Amano y Shuji Nakamura fueron galardonados con el premio Nobel de Física por haber inventado el LED azul, una fuente de luz eficiente, duradera y respetuosa con el medioambiente. Este descubrimiento ha transformado la iluminación de las últimas décadas al permitir generar una luz blanca, brillante y económica. Este dispositivo, basado en un efecto cuántico, utiliza láminas delgadas del orden los nanómetros.

Además, los avances en nanomateriales han permitido mejorar significativamente la eficiencia de células solares, así como desarrollar dispositivos que imitan la fotosíntesis natural, conocidos como sistemas de



fotosíntesis artificial. Estas tecnologías tienen el potencial de revolucionar la generación de energía renovable, haciendo que los procesos sean más sostenibles y eficientes.

Desde hace décadas la nanotecnología se ha extendido a sectores como el textil, deporte, construcción y bienes de consumo. En el sector textil, por ejemplo, las aplicaciones son diversas e incluyen la incorporación de sensores portátiles para monitorizar la salud. Otra de las aplicaciones integra la inclusión de nanopartículas de diferentes tamaños y funcionalizaciones que desarrollan tejidos autolimpiables, repelentes de agua, con filtros UV, resistentes al fuego, antiarrugas o antimicrobianos. Estas innovaciones mejoran la funcionalidad y el rendimiento de los productos textiles, adaptándose a necesidades específicas de los usuarios.

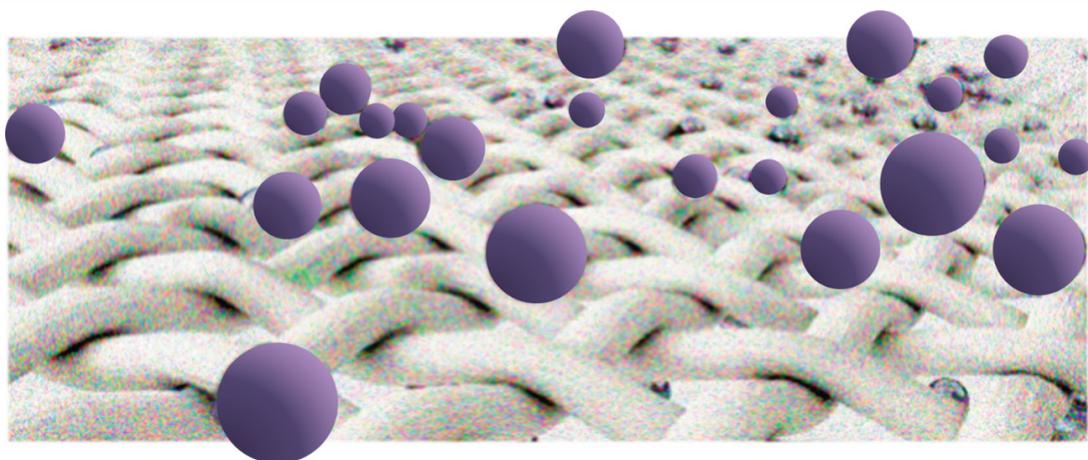


Figura 6. Esquema de un tejido con fibras nanoestructuradas con efecto repelente

En el sector de la construcción, se emplean nanopartículas de óxido de zinc y de óxido de titanio para crear superficies con propiedades autolimpiantes y efectos anticontaminantes. La nanoestructuración permite desarrollar fachadas que repelen partículas o incluso superficies antigrafiti. Además, los nanocomposites basados en materiales de carbono refuerzan las propiedades mecánicas, dotan a los materiales de capacidad autoreparadora y disminuyen su peso. Estas aplicaciones no solo son útiles en hormigones, sino también en elementos innovadores como los autogeneradores de energía.

En la industria automotriz, las aplicaciones de la nanotecnología son igualmente amplias, abarcando desde las ruedas hasta los catalizadores, pasando por recubrimientos de carrocerías y lunas. Este uso de la nanotecnología mejora la resistencia, la durabilidad y la funcionalidad de los vehículos, consolidándola como un factor clave para el desarrollo de tecnologías más sostenibles en el transporte. Así, la nanotecnología se posiciona como un motor de innovación en múltiples sectores industriales.



9. NANOTECNOLOGÍA PARA APLICACIONES EN MEDIOAMBIENTE, AGRICULTURA Y BIOMEDICINA

La nanotecnología ofrece un amplio abanico de aplicaciones en el cuidado del medioambiente, la agricultura y la biomedicina, destacando su impacto positivo en la solución de problemas globales. En el ámbito medioambiental, los materiales nanoporosos han revolucionado los procesos de filtrado y limpieza de agua. Las membranas funcionalizadas permiten la eliminación de contaminantes mediante procesos avanzados como la fotocatalisis. Ejemplos destacados incluyen el uso de nanomateriales basados en óxidos de zinc, cobre o grafeno, así como nanopartículas magnéticas para eliminar contaminantes peligrosos, como metales pesados, arsénico, fosfatos y moléculas orgánicas. Además, existen materiales comercializados que emplean nanopartículas magnéticas recubiertas de proteínas para purificar y desalinizar agua, proporcionando soluciones más eficientes y sostenibles para el acceso a agua potable. Otro ejemplo es el uso de zeolitas, materiales nanoporosos que eliminan contaminantes como fluoruros, cuya acumulación puede causar fluorosis (19), una grave enfermedad ósea que afecta a la salud humana.

En agricultura, la nanotecnología ofrece alternativas innovadoras a los fertilizantes y pesticidas tradicionales. Esto incluye el desarrollo de fungicidas, antibacterianos y antivirales a escala nanométrica, que permiten una administración más controlada y eficiente de productos fitosanitarios. Además, la incorporación de nanosensores en el sector agrícola permite monitorear patógenos, detectar sustancias químicas o evaluar parámetros clave como la temperatura y la humedad del suelo. Estos avances facilitan una gestión más precisa y sostenible de los recursos agrícolas, reduciendo el impacto ambiental asociado a las prácticas tradicionales y aumentando la productividad de los cultivos.

En biomedicina, la nanotecnología ha abierto nuevas fronteras, desde la liberación controlada de fármacos hasta el desarrollo de implantes con recubrimientos especiales que mejoran la integración biológica y la durabilidad. Por ejemplo, las plataformas multifuncionales para el transporte de medicamentos están revolucionando el tratamiento de enfermedades como el cáncer. En particular, las nanopartículas magnéticas han demostrado ser herramientas prometedoras en tratamientos avanzados como la hipertermia, que utiliza el calor generado por estas nanopartículas para destruir células tumorales (20). Numerosos estudios se centran en optimizar la morfología, forma y composición de las nanopartículas sostenibles en diversos sectores.



magnéticas para mejorar su eficacia en este tipo de terapias.

Además, los nanomateriales están transformando el diagnóstico médico. Los sensores implantables y la electrónica bajo la piel permiten monitorizar constantes vitales, como niveles de insulina, en tiempo real, mejorando significativamente la atención personalizada. Las superficies antibacterianas, otro campo de investigación clave, combinan nanoestructuración con funcionalización química o estímulos mecánicos y magnetomecánicos para prevenir infecciones, especialmente en entornos hospitalarios (21).

Por otro lado, la nanotecnología también se extiende a áreas como la conservación de alimentos, a través de sistemas avanzados de empaquetado que prolongan su frescura, y la liberación de nutrientes, optimizando el valor nutricional.

En conclusión, la nanotecnología está transformando el medioambiente, la agricultura y la biomedicina con soluciones innovadoras, eficientes y sostenibles, respondiendo a desafíos críticos para la humanidad. Su desarrollo continuo promete un impacto aún mayor en los próximos años.

10. CONCLUSIONES

El impacto de los materiales en nuestra vida está estrechamente relacionado con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la ONU, que abordan problemas globales como salud, medio ambiente, recursos y desigualdades. La nanotecnología contribuye significativamente a los ODS mediante soluciones innovadoras y sostenibles ya que incide en el desarrollo de nuevas propiedades en la nanoescala para aplicaciones revolucionarias en electrónica, salud, medioambiente, etc.

La nanotecnología está teniendo un gran impacto en la sostenibilidad, especialmente en sectores como la energía, la construcción y la agricultura. En energía, facilita la mejora de baterías, la producción de biocombustibles y la generación de hidrógeno, además de incrementar la eficiencia de células solares y permitir la fotosíntesis artificial. En la construcción, los nanomateriales se utilizan para crear superficies autolimpiantes y anticontaminantes, así como en la fabricación de materiales más ligeros y resistentes. En la agricultura, los nanomateriales permiten el desarrollo de pesticidas y fertilizantes más eficientes y sostenibles, mientras que los nanosensores monitorean los cultivos. En biomedicina, se aplican en liberación controlada de medicamentos, terapias avanzadas como la hipertermia para el tratamiento del cáncer y en dispositivos médicos como sensores implantables. Además, la nanotecnología ayuda a purificar el agua y conservar alimentos, proporcionando soluciones más eficientes y



Agradecimientos

Quiero agradecer a la Prof. María Vallet Regí su invitación a participar tanto en la jornada “Foro Internacional de Nanomateriales” como en este libro. Hago extensible también los agradecimientos a la Real Academia Nacional de Farmacia organizadora de ambas iniciativas. Este texto es el compendio de varias charlas dadas en los últimos años en el marco de diferentes cursos y jornadas muchas de las cuales han sido promovidas por Pedro Serena.

11. REFERENCIAS

1. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties". The Royal Society & The Royal Academy of Engineering, July 2004.
2. R. Jose, S. Ramakrishna, Humanity's Top Ten Existential Concerns. *Mater Circ Econ* 4, 26 (2022).
3. <https://sdgs.un.org/goals/goal17>
<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>
4. P. Serena, Nanotecnología para el desarrollo sostenible, 123, Colección ‘¿Qué sabemos de?’ (CSIC-Catarata) (2021).
5. A. Geim, K. Novoselov, The rise of graphene, *Nat. Mater.* 6:183 (2007)
6. S. Malik et al., Nanotechnology: A Revolution in Modern Industry. *Molecules.* 9;28(2):661 (2023).
7. J. Horton, Where do butterflies get their striking colors?, *HowStuffWorks.com*, (2008).
8. G. D. Bixler, B. Bhushan, Rice-and butterfly-wing effect inspired self-cleaning and low drag micro/nanopatterned surfaces in water, oil, and air flow. *Nanoscale*, 6(1), 76-96. (2014).
9. Bazylnski DA, Frankel RB. 2004. Magnetosome formation in prokaryotes. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:217-230.
10. A. M. El-Khawaga et al., Preparation methods of different nanomaterials for various potential applications: A review, *Journal of Molecular Structure*, 1281, 135148 (2023).
11. J. D. Alche Ramirez et al., Las nuevas microscopías. Herramientas para la exploración del nanomundo, *Los Libros de la Catarata* (2024) ISBN:978-84-10670-71-6.
12. M.S. Dresselhaus et al., Raman spectroscopy of carbon nanotubes, *Physics Reports*, 409 (2) 47-99 (2005).
13. A. Asenjo et al., 40 años viendo átomos, *Revista española de física*, ISSN 0213-862X, 36 (3), (2022).
14. G. Binnig and H. Rohrer, Scanning tunneling microscopy, *Helv. Phys. Acta* 55, 726 (1982).
15. G. Binnig et al., “Atomic Force Microscope”, *Phys. Rev. Lett.* 56, 930-933 (1986).



16. A. Asenjo, "Local characterisation of biomagnetic materials, Europhysics News, 54(4), 20-22 (2023).
17. S. Parkin, SH. Yang, Memory on the racetrack. Nature Nanotech 10, 195-198 (2015).
18. A. Fert et al., Skyrmions on the track. Nat. Nanotechnol. 8, 152-156 (2013).
19. L. Gómez-Hortigüela et al., Natural zeolites from Ethiopia for elimination of fluoride from drinking water, Separation and Purification Technology, 120, 224-229 (2013).
20. D. Egea-Benavente et al., Understanding MNPs Behaviour in Response to AMF in Biological Milieus and the Effects at the Cellular Level: Implications for a Rational Design That Drives Magnetic Hyperthermia Therapy toward Clinical Implementation, Cancers, 13(18), 4583 (2021).
21. J. Marqués-Marchán et al., Applied Materials Today 34, 101900 (2023).



Nanomedicina. Nanotransportadores inteligentes para liberación de fármacos

Nanomedicine. Smart nanocarriers for drug delivery

Ángel Concheiro Nine

Catedrático Emérito de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Santiago de Compostela. Presidente de la Real Academia de Farmacia de Galicia.
e-mail: angel.concheiro@usc.es



PALABRAS CLAVE

Nanotransportador
Sistema coloidal
Vectorización
Sensibilidad a estímulos
LADME

RESUMEN

La nanomedicina, entendida como la aplicación de la nanotecnología y los materiales nanométricos al campo de la salud, supone una nueva manera de abordar los tratamientos al regular el destino de los fármacos en el organismo. Los nanotransportadores permiten superar barreras biológicas, proteger al fármaco y vectorizarlo hacia su lugar de acción. En este capítulo se revisa el concepto y las características diferenciales de los nanomedicamentos, las principales patologías para las que están siendo evaluados en ensayos clínicos, y las implicaciones biofarmacéuticas de la administración de fármacos incorporados en nanotransportadores. También se aborda el efecto de la composición y las propiedades de los nanotransportadores sobre la eficiencia de entrega y la posibilidad de regular la cesión del fármaco en respuesta a estímulos internos y externos. Los resultados de los ensayos preclínicos y clínicos reflejan el gran número de variables que condicionan la eficacia y la seguridad de los nanomedicamentos, pero también el enorme abanico de posibilidades que ofrecen en la optimización y la personalización de los tratamientos.

KEYWORDS

Nanocarrier
Colloidal System
Targeting
Stimuli responsiveness
LADME

ABSTRACT

Nanomedicine, understood as the application of nanotechnology and nanometric materials to the field of health, represents a new way of approaching treatments by regulating the destination of drugs in the body. Nanocarriers make it possible to overcome biological barriers, protect the drug and target it to its site of action. This chapter reviews the concept and differential characteristics of nanomedicines, the main pathologies for which they are being evaluated in clinical trials, and the biopharmaceutical implications of the administration of drugs incorporated in nanocarriers. It also addresses the effect of the composition and properties of nanocarriers on delivery efficiency and the possibility of regulating drug release in response to internal and external stimuli. The results of preclinical and clinical trials reflect the large number of variables that determine the efficacy and safety of nanomedicines, but also the enormous range of possibilities they offer in the optimization and personalization of treatments.



1. INTRODUCCIÓN

El objetivo que se persigue cuando se aplica un tratamiento farmacológico es alcanzar y mantener en el lugar de acción la concentración de fármaco necesaria para que se produzca el efecto terapéutico buscado. Para optimizar la respuesta y minimizar los efectos colaterales, el fármaco debería acceder sólo al lugar en el que se ubica su diana, pero este objetivo ideal permanece aún como una meta difícil de alcanzar.

En las últimas décadas del siglo XX, la evolución de la Tecnología Farmacéutica abrió la posibilidad de desarrollar formas de dosificación con capacidad para regular los perfiles de liberación de los fármacos, de manera que la cesión se prolongue en el tiempo siguiendo cinéticas diversas o que, incluso, se active o se pare en respuesta a una amplia variedad de estímulos internos o externos al organismo (1).

Con los medicamentos de liberación modificada que se empezaron a desarrollar en el siglo pasado, se consigue regular de manera más o menos precisa la velocidad de incorporación de los fármacos al torrente circulatorio, para que desde allí pueda acceder a su diana en la medida en que el grado de irrigación, la permeabilidad y la afinidad del tejido por el fármaco lo permitan (Figura 1). Dado que, en general, solo una pequeña fracción de la dosis llega a la diana, hay que administrar cantidades de fármaco relativamente elevadas para que se alcancen niveles eficaces. Asumiendo que existe proporcionalidad entre la concentración de fármaco en sangre y en el entorno de los receptores, la biodisponibilidad tanto en cantidad como en velocidad, se cuantifica a partir de los niveles de fármaco en sangre, y no en el tejido o en las células objetivo.

Esta aproximación clásica a la administración sistémica es válida en la mayoría de las situaciones, pero para determinados tratamientos la distribución indiscriminada no es adecuada y se requieren medicamentos que optimicen el balance beneficio terapéutico/efectos adversos haciendo llegar el fármaco selectivamente al lugar de acción. Los fármacos carecen de capacidad para autoenviarse, y en general no se dirigen por sí mismos al lugar objetivo, y mucho menos son capaces de hacerlo a la velocidad que requiere el progreso de la enfermedad. Para dotarlos de esta funcionalidad se incorporan a nanotransportadores. Estas estructuras nanométricas se integran en formas de dosificación que se denominan nanomedicamentos. De los nanotransportadores se espera que actúen como verdaderos sistemas de envío de fármacos, capaces de vectorizarlos a su lugar de acción e, idealmente, de cederlos a demanda en el entorno de su diana modificando, incluso, el tráfico intracelular.

Entre las situaciones que las que se pueden conseguir mejoras relevantes con los nanomedicamentos se pueden citar las siguientes:

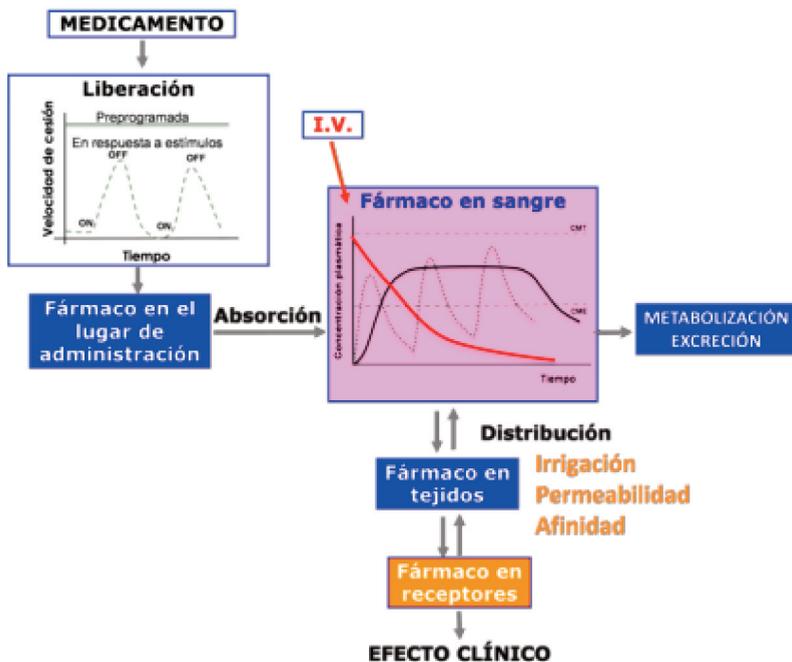


Figura 1. Esquema de las etapas de la evolución de un fármaco en el organismo. Cuando se administra un medicamento no intravenoso, la forma de dosificación puede regular la liberación (disolución) del fármaco de acuerdo con distintas cinéticas lo que, a su vez, puede modular la absorción y el perfil de niveles plasmáticos. La distribución del fármaco a cada tejido depende de variables como el grado de irrigación, la permeabilidad y la afinidad por el fármaco.

- Cuando se formulan nuevos fármacos de síntesis o de origen biotecnológico, que se absorben con dificultad porque son muy hidrofóbicas y su solubilidad es reducida, o que por su elevado peso molecular presentan una permeabilidad deficiente.
- En el caso de sustancias activas, como las que se usan en terapia génica, que son inestables y necesitan ser protegidas para que puedan acceder intactas al interior de las células;
- Cuando los fármacos presentan una toxicidad alta, como es el caso de los agentes antitumorales, y se hace necesario dirigirlos selectivamente al órgano diana para minimizar la exposición de los tejidos sanos.

2. NANOMEDICAMENTOS

La aplicación de los avances de la nanociencia y la nanotecnología al diseño y a la fabricación de formas farmacéuticas avanzadas hizo posible, que a finales del siglo XX se aprobaran los primeros nanomedicamentos con el fármaco integrado en un nanotransportador. En 1995 la Food and Drug



Administración (FDA) aprobó una formulación de doxorrubicina en liposomas pegilados (Doxil) y entre 1995 y 2022 se registraron alrededor de 100 nanomedicamentos, y más de 500 se encontraban en ensayo clínico, de ellos el 33% en Fase I y el 21% en Fase II (Figura 2) (2). Más de la mitad de estos nanomedicamentos están destinados al tratamiento del cáncer, y los restantes tienen como indicación el tratamiento de infecciones, patologías sanguíneas, endocrinas y metabólicas, enfermedades del sistema nervioso central y enfermedades inmunológicas e inflamatorias. Entre las nanoestructuras en las que se basan estos nanomedicamentos destacan los liposomas y las nanopartículas lipídicas, seguidas de los conjugados fármaco-anticuerpo y fármaco-polímero, las nanopartículas poliméricas y los vectores virales. Las vacunas frente a la COVID-19 desarrolladas con tecnología de RNA mensajero están basadas en nanopartículas lipídicas que encapsulan la macromolécula terapéutica y favorecen su internalización celular.

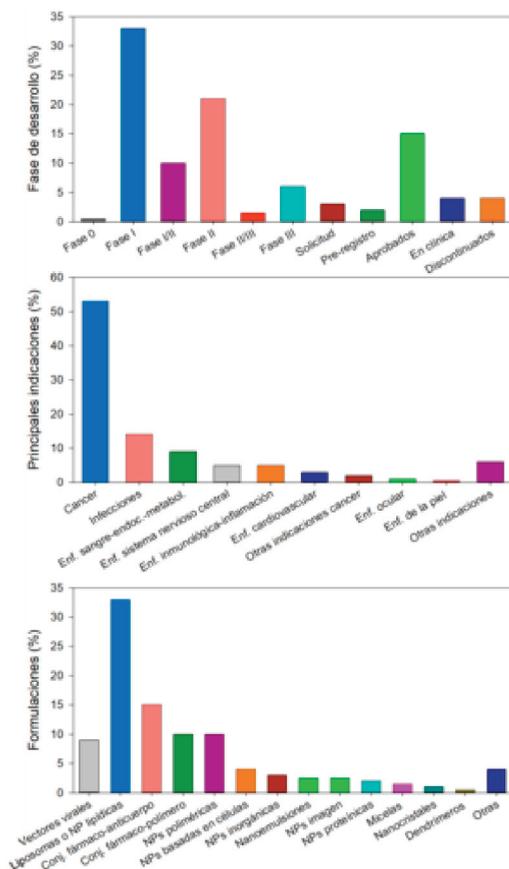


Figura 2. Nanomedicamentos clasificados en función de su fase de desarrollo, sus indicaciones y el tipo de nanotransportador utilizado para preparar las formulaciones. Datos tomados de Shan y col. (2) referidos al periodo 1995-2022.



2.1. Características diferenciales

La FDA y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) marcan como rasgo diferencial de los nanomedicamentos, que cuenten entre sus componentes con partículas o estructuras con, al menos, una dimensión dentro del rango de la nanoescala; es decir comprendida, entre 1 y 100 nm. Sin embargo, si se aplica un criterio de funcionalidad, también se pueden incluir en esa categoría los medicamentos que, sin cumplir ese requisito, tienen propiedades o dan lugar a fenómenos similares a los que son propios de los nanomedicamentos, como por ejemplo, afinidad o distribución preferente hacia determinados órganos, tejidos o células (3).

Por sus reducidas dimensiones, los nanotransportadores que forman parte de los nanomedicamentos presentan una elevada relación superficie/volumen. Como consecuencia de ello, pueden atravesar una amplia variedad de barreras biológicas y acceder a los tejidos y a las células por mecanismos que imitan los intercambios naturales de sustancias en los seres vivos. Estos mecanismos resultan inviables tanto para las moléculas de fármaco individualizadas porque son demasiado pequeñas, como para las estructuras farmacéuticas con tamaños en la escala micro y macro porque son demasiado grandes. Como se comenta más adelante, esta particularidad determina que los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos integrados en nanomateriales sean muy diferentes de los que ocurren cuando se aplican los tratamientos sistémicos convencionales (4).

La eficacia y la seguridad de los nanomedicamentos también depende de otras propiedades de las partículas como la composición, la carga superficial, la adsorción de proteínas cuando entran en contacto con el medio biológico, y las características de agregación. Además, todas ellas condicionan los riesgos asociados al uso continuado de nanomateriales para otras aplicaciones en diferentes ámbitos (3).

Como cualquier otro medicamento, los nanomedicamentos se obtienen sometiendo sustancias activas y excipientes a procesos tecnológicos que conducen a estructuras con las dimensiones y las propiedades adecuadas para que se puedan administrar al organismo. En general, los nanomedicamentos se formulan como formas farmacéuticas líquidas de naturaleza coloidal. Cuando el objetivo que se persigue es la vectorización, la vía de administración más utilizada es la parenteral, pero la aplicación tópica mucosal a nivel ocular para alcanzar el segmento posterior, la vía nasal para acceder al sistema nervioso central, o incluso la administración oral están recibiendo una atención creciente (5,6).



2.2. Implicaciones biofarmacéuticas

Si se toma como referencia una forma farmacéutica convencional, la administración de fármacos en nanomedicamentos puede modificar considerablemente los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción del fármaco. El perfil biofarmacéutico de un fármaco que se administra en una forma clásica no parenteral de administración sistémica comprende las etapas de Liberación, Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción que se designan por las siglas LADME. En este caso, el fármaco debe abandonar primero el medicamento (la forma farmacéutica) y disolverse en el medio biológico para estar en condiciones de atravesar las membranas y acceder al torrente circulatorio para, a continuación, distribuirse a órganos y tejidos. En cambio, en el caso de los nanomedicamentos diseñados para vectorizar el fármaco a órganos, tejidos o células específicas, el fármaco se debe mantener encapsulado durante el paso a través de las barreras biológicas y en la circulación sanguínea hasta llegar al lugar de acción por lo que, en realidad, se produce una distribución selectiva del fármaco antes de que se ceda, y para conseguir este objetivo, es necesario que el nanotransportador llegue intacto al tejido diana (Figura 3) (7).

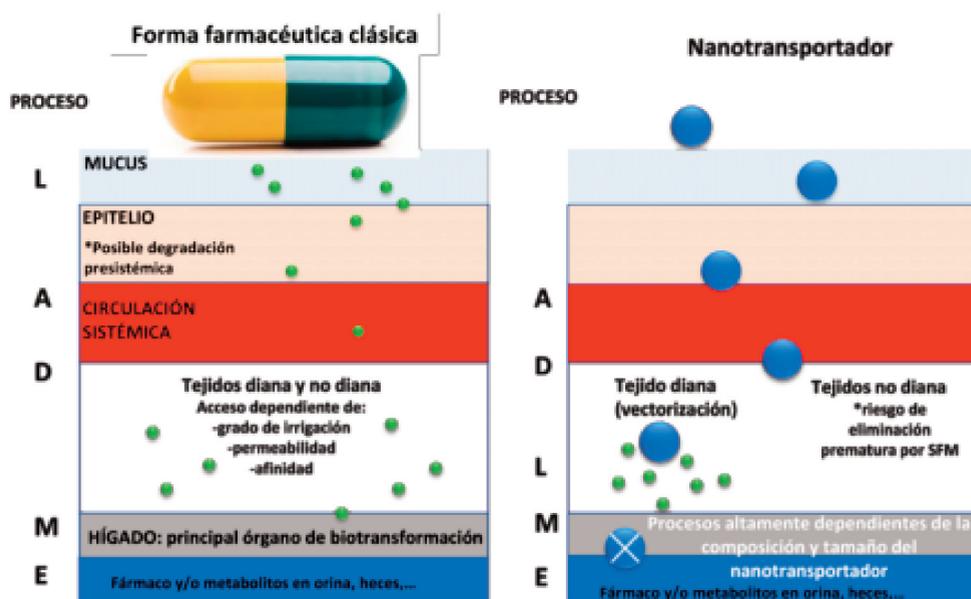


Figura 3. El perfil biofarmacéutico de un nanomedicamento diseñado para vectorizar un fármaco difiere del de una forma farmacéutica convencional en que la liberación (L) no se produce hasta que el nanotransportador alcanza el tejido diana. La absorción (A) y la distribución (D) del nanotransportador con el fármaco encapsulado hacen posible que aumente la proporción de fármaco que accede al tejido diana, si bien el reconocimiento por el sistema fagocítico mononuclear (SFM) durante la distribución supone un riesgo de eliminación prematura. Adaptado de Álvarez-Lorenzo y Concheiro (7).



Una vez que el nanotransportador llega a la circulación venosa, primero accede al pulmón. Después la sangre arterial lo impulsa hacia otros órganos y tejidos, que pueden ser diana o no. Cada órgano interacciona de manera diferente con los nanotransportadores, y en cada órgano los nanotransportadores pueden permanecer retenidos más o menos tiempo, biodegradarse o ser eliminados siguiendo diferentes rutas. El reconocimiento de los nanotransportadores por el sistema fagocítico mononuclear (SFM) es el principal obstáculo que se opone a la distribución selectiva, a no ser que el tejido diana sea el sistema inmune o algún componente del propio SFM (8). Los nanotransportadores de más de 1000 nm se retienen y se eliminan en el pulmón. En el bazo se capturan los de tamaño superior a 200-250 nm. El acceso al hígado tiene lugar a través de la sangre arterial, y también por la vena porta cuando se administran por vía oral. En el hígado, la velocidad con la que se mueven los nanomateriales se reduce unas mil veces, lo que multiplica por 10 la probabilidad de que entren en contacto con las células hepáticas. Dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas, si el tamaño es inferior a 100 nm los nanotransportadores pueden evadir las células de Kupffer, filtrarse, ser endocitados por los hepatocitos y pasar al conducto biliar. En este caso, las nanopartículas se excretan en el duodeno y se eliminan en las heces (9).

La opsonización y la eliminación por el SFM de nanotransportadores no “camuflados” es un proceso muy rápido que conduce a que, en pocos minutos, se concentren en el hígado y en el bazo. Si el objetivo con el que se diseñó el nanomedicamento es actuar en estos órganos, la consecución de niveles suficientemente altos de fármaco en la zona diana puede ser relativamente fácil. Sin embargo, como éste no suele ser el caso hay que dotar a los nanotransportadores de capacidad para que permanezcan en la sangre durante un tiempo prolongado. Junto con camuflajes adecuados, tamaños de partícula comprendidos entre 10 y 200 nm y preferiblemente próximos a 100 nm, y formas alargadas que faciliten el deslizamiento y el arrastre rápido por la sangre parecen ser las características más adecuadas para que el nanotransportador pueda distribuirse hacia el tejido diana (8).

2.3. Vectorización

Aunque el abanico de aplicaciones se ha ido ampliando progresivamente, la vectorización a tejido tumoral, que fue la primera aplicación de los nanomedicamentos, es la que sigue recibiendo una mayor atención. En general, los tumores se caracterizan por experimentar una proliferación anormalmente rápida de los vasos que irrigan a las células en desarrollo. Este crecimiento acelerado determina que el endotelio vascular presente



fenestraciones de mayor tamaño que los vasos del tejido sano, por las que se pueden extravasar desde la sangre y acceder al tumor partículas de hasta 400 nm. Además, en los tumores el sistema linfático está dañado o poco desarrollado, y esto hace que el aclaramiento de los nanotransportadores sea deficiente. Estas dos peculiaridades originan el “efecto de permeabilidad y retención incrementadas” o efecto EPR, en el que se basa la vectorización pasiva en el tratamiento del cáncer (10). El efecto EPR también puede servir para promover la acumulación de fármacos en zonas infartadas, inflamadas o afectadas por procesos infecciosos, en las que la permeabilidad vascular es más alta que en los tejidos sanos (11). La angiogénesis acelerada y la permeabilidad vascular incrementada también son típicas de la diabetes, la esclerosis múltiple y algunas patologías oculares como la degeneración macular o la retinopatía diabética (12).

La vectorización pasiva es un proceso errático y lento, y el nanotransportador tiene que permanecer en el torrente circulatorio durante un tiempo muy prolongado para que se llegue a producir una extravasación significativa hacia la zona de interés. Además, la presión en el fluido intersticial del tumor es más alta que en los tejidos sanos, como consecuencia de la acumulación de proteínas circulantes, lo que dificulta la extravasación. El acceso del fármaco al tejido diana se puede potenciar por procedimientos de vectorización activa, incorporando al nanotransportador ligandos capaces de reconocer el endotelio vascular del tumor o de unirse selectivamente a la superficie de las células tumorales o de las posibles metástasis. Se ha evaluado la eficacia de nanotransportadores “decorados” con una gran variedad de ligandos para favorecer la unión a receptores tumorales específicos; por ejemplo, transferrina, folato y anticuerpos monoclonales, como los anti-HER2 para el tratamiento de pacientes con cáncer metastático de mama HER-2 positivo (13).

El porcentaje de nanopartículas administradas que alcanzan el tejido diana se conoce como “eficiencia de entrega de nanopartículas”. En estudios con animales, se observó que el porcentaje de dosis de agente antitumoral que accede al tumor se limita a un promedio de 1.64% en vectorización pasiva y de 3.46% en vectorización activa, mientras que el resto se elimina o se distribuye a otras áreas del organismo (14). Los datos presentan una gran variabilidad ya que cada par nanotransportador-tejido diana se comporta de manera diferente. En el mejor de los casos se alcanzó un 10-15%, frente 0.1% de promedio que se acumula en los tumores cuando se inyecta disolución de fármaco directamente en sangre; lo que supone un incremento de dos órdenes de magnitud (15).



La encapsulación de los fármacos en nanotransportadores que no los ceden en sangre permite que la cantidad total circulante se sitúe por encima de la concentración máxima tolerable cuando se administra el fármaco libre. El tiempo de permanencia en el organismo se prolonga, con lo que es posible espaciar las dosis, y se consigue una acumulación incrementada y más prolongada en el tejido diana, con lo que mejora la eficacia terapéutica al tiempo que se reduce la toxicidad por exposición de otros tejidos.

Para un mismo fármaco, cada nanomedicamento puede dar lugar a perfiles muy diferentes ya que su estabilidad y su biodistribución dependen de la composición del nanotransportador. En un reciente estudio de metaanálisis (16), en el que se recopiló la información disponible sobre la distribución de una amplia variedad de nanotransportadores administrados a ratones, se pusieron de manifiesto importantes diferencias en función de la composición y el tipo de nanotransportador. En lo que se refiere a los tejidos diana, se observó que se acumulan como promedio, en los porcentajes siguientes: tumor 3.4 %ID/g, páncreas 1.2 %ID/g, piel 1.0 %ID/g, hueso 0.9 %ID/g, músculo 0.6 %ID/g, y cerebro 0.3 %ID/g (ID representa la dosis inyectada) (Figura 4). En sangre, las nanopartículas lipídicas y poliméricas alcanzan concentraciones más altas que las nanopartículas inorgánicas. Las nanopartículas de lípidos, oro y óxido de grafeno se dirigen más rápidamente a tejido cardíaco que las de óxido de hierro y sílice. Las nanopartículas lipídicas y poliméricas se acumulan más en el riñón y el bazo que otros tipos de nanopartículas, pero menos en tejido pulmonar. Por su parte, las nanopartículas de sílice son las que se acumulan menos en el

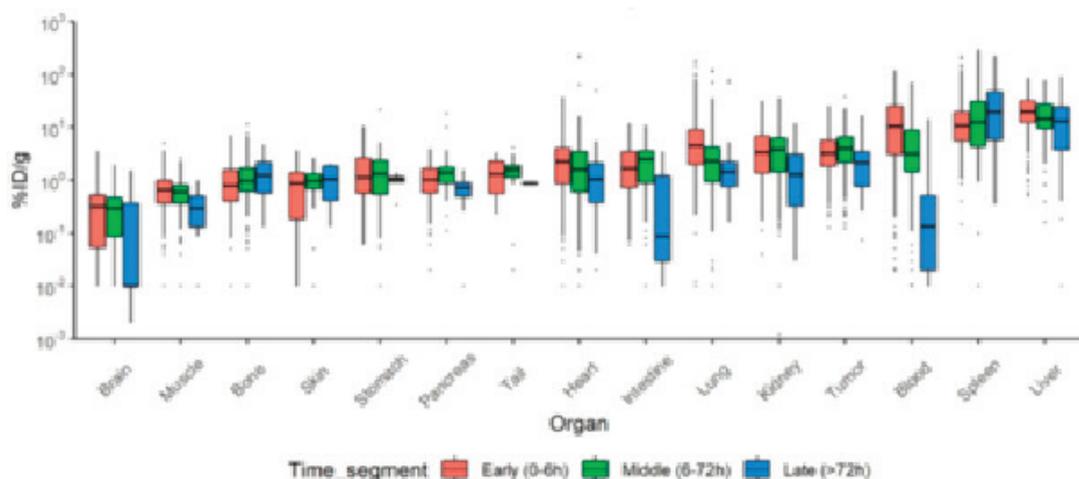


Figura 4. Distribución promedio de nanopartículas en plasma y en varios tejidos y órganos de ratón a distintos tiempos, expresada como porcentaje de dosis inyectada por gramo de tejido. Tomada de Kumar y col. (16) (Creative Commons CC-BY-NC-ND).



bazo, pero su presencia en el pulmón es mayor a las 48 h. Las nanopartículas poliméricas y las de oro se acumulan más rápidamente y en mayor cantidad en el hígado. Al cabo de 48 h todas las nanopartículas alcanzan concentraciones similares (16).

2.4. Nanotransportadores sensibles a estímulos

El correcto funcionamiento de un sistema de entrega de fármacos requiere que, el nanoportador cumpla requisitos en cierto modo contradictorios: i) tiene que retener el fármaco durante el desplazamiento hacia el tejido diana, pero en su destino tiene que liberar el 100% del fármaco en un corto periodo de tiempo; y ii) se tiene que desplazar evitando ser reconocido por el sistema fagocítico mononuclear y tejidos no diana, pero tiene que interactuar fuertemente con las células diana. Estos requisitos se suelen designar por las siglas 2R2S (17).

Para conseguir que lleguen a su destino sin perder una parte significativa de la carga, los nanotransportadores se diseñan con una matriz o con una cubierta muy estable en cualquier entorno a excepción del de la diana. Los nanotransportadores sensibles a estímulos ceden el fármaco en la diana al interactuar con el receptor o cuando experimentan el efecto de un estímulo local o externo (18). La cesión puede ser completa o el estímulo puede inducir una cesión pulsátil si el nanotransportador es capaz de responder de manera reversible. Se pueden diseñar nanotransportadores que responden (sensibles) a un estímulo externo, ajeno al organismo, por ejemplo, un pulso de ultrasonidos o de luz, independientemente de cuales sean las condiciones fisiológicas o patológicas, o a un estímulo interno si detectan cambios en el medio biológico, por ejemplo, en el pH, la temperatura o la concentración de una determinada sustancia, y responden a esos cambios autorregulando la cesión del fármaco (19).

Para esta aplicación son muy útiles los materiales semisintéticos o sintéticos (en su mayoría polímeros) que portan grupos funcionales que modifican sus propiedades proporcionalmente a la intensidad de la señal y dan lugar a cambios en las características del nanotransportador. Los cambios pueden tener diferentes niveles de complejidad; principalmente, (A) una modificación de la solubilidad, la forma o el estado de agregación de componentes individuales (ensamblaje/desensamblaje de lípidos o polímeros), (B) un cambio reversible en la conformación de redes químicamente reticuladas que conducen a transiciones de volumen de fase y/o a modificaciones en la afinidad hacia otros grupos químicos o entidades moleculares, o (C) un estiramiento/contracción reversible de cadenas inmovilizadas en la superficie que permite la apertura controlada de “puertas” en el nanotransportador (por ejemplo, en nanopartículas mesoporosas de sílice) (Figura 5) (20).

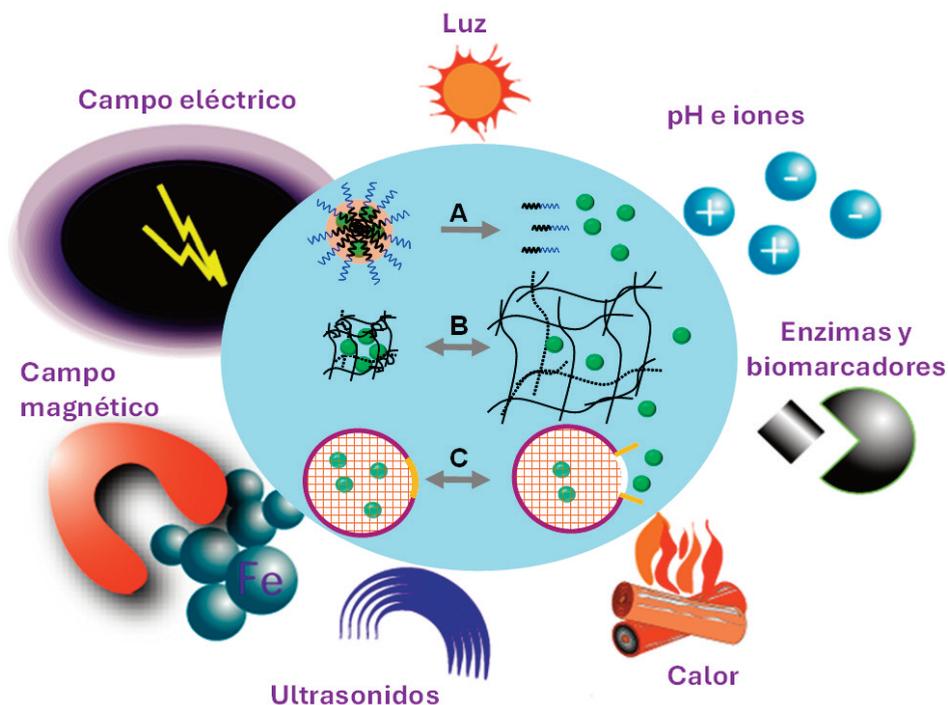


Figura 5. Algunos estímulos útiles para regular la cesión de fármacos a partir de nanotransportadores. El estímulo puede desencadenar (A) la desintegración del nanotransportador, (B) un cambio conformacional reversible de algún componente (generalmente, red polimérica) que se transmite al nanotransportador en forma de cambios en el grado de hinchamiento, o (C) la apertura de puertas en la superficie de la nanopartícula. En el esquema, no a escala, el fármaco se representa en forma de pequeñas esferas de color verde.

Los procesos patológicos, como tumores e infecciones, suelen dar lugar a cambios en diversos parámetros que se pueden utilizar como estímulos internos. Por ejemplo, los cambios en el pH, con respecto al valor de pH 7.4 característicos de la sangre y del líquido intersticial, se tienen en cuenta para seleccionar excipientes (polímeros o lípidos) que modifiquen su grado de ionización en el intervalo de valores de pH requerido. Estos cambios en el grado de ionización se utilizan para provocar el desensamblaje o la solubilidad del nanotransportador (21). También se pueden diseñar nanomedicamentos que se degradan en presencia de determinadas enzimas que se sobreexpresan en la zona afectada, utilizando para ello componentes que son sustrato del enzima, o que abren compuertas en su superficie por efecto de cambios en la concentración de glutatión (más elevada en zonas tumorales) utilizando componentes que contengan puentes disulfuro o que respondan a reacciones redox (22). Otro estímulo ampliamente investigado es el cambio en la temperatura, cuyo valor se ve incrementado en zonas tumorales, inflamadas e infartadas, y que se puede utilizar para inducir



cambios en el balance hidrofília-lipofília de los componentes del nanotransportador, lo que a su vez repercute en su solubilidad o grado de hinchamiento (23). Si los cambios fisiopatológicos de temperatura son insuficientes, es relativamente sencillo aplicar una fuente externa de calor o incorporar nanopartículas que transforman energía lumínica (por ejemplo, de oro) o campos magnéticos oscilantes (por ejemplo, nanopartículas magnéticas) en incrementos locales de temperatura.

En lo que se refiere a los estímulos externos, la luz en el infrarrojo cercano se puede utilizar, además de para conseguir un efecto fototérmico, para inducir cambios conformacionales en grupos químicos del polímero o el lípido que den lugar a cambios en el ensamblaje del nanotransportador. También es posible utilizar equipos de ultrasonidos similares a los que se emplean en fisioterapia para provocar calefacción local o incluso fenómenos de cavitación que desestabilicen la estructura del nanotransportador, desencadenando la cesión del fármaco (24). La aplicación de campos eléctricos también se ha ensayado para la activación remota de la cesión al provocar cambios en la distribución de la carga eléctrica del nanotransportador (25).

2.6. Eliminación

Una vez que se ha cumplido la función terapéutica es necesario que el fármaco se elimine junto con los restos del nanotransportador, para que el nanomedicamento resulte seguro. Los procesos de biotransformación de los nanotransportadores son muy dependientes de su composición. Las nanopartículas de proteínas y lípidos experimentan procesos de biotransformación enzimática y química, y dan lugar a productos de degradación eliminables a través de la orina y la bilis. Las nanopartículas inorgánicas de fosfato cálcico, organosilicatos y *quantum dots* se degradan en fragmentos de tamaño inferior a 10 nm, que son eliminables por vía renal. Las nanopartículas magnéticas se descomponen cediendo iones hierro. Como los niveles fisiológicos de hierro son relativamente altos, el pequeño aporte de las nanopartículas magnéticas no modifica de manera relevante los valores normales, por lo que su administración se considera segura (8).

El uso de nanotransportadores que tienen componentes no biodegradables puede implicar riesgos asociados a su acumulación. En modelos animales se observó que las nanopartículas de oro administradas por vía intravenosa se acumulan en el hígado y que tardan más de seis meses en eliminarse, aunque sin causar toxicidad (26). Por el contrario, las nanopartículas de metales pesados mayores de 10 nm y las que se erosionan cediendo iones



tóxicos suponen un riesgo para la salud humana y también para el medio ambiente, por lo que las posibilidades de que se utilicen como componentes de nanomedicamentos son muy limitadas.

En mujeres embarazadas, los nanotransportadores se pueden distribuir al feto atravesando la barrera placentaria. Desde la sangre fetal acceden a todos los tejidos en desarrollo y, si son tóxicos para la placenta o para el feto, pueden comprometer la evolución normal del embarazo. El hecho de que los nanomedicamentos atraviesen con relativa facilidad la barrera placentaria supone una oportunidad, porque abre la posibilidad de tratar patologías del feto durante su desarrollo en el vientre materno; por lo tanto, la nanomedicina puede muy útil en medicina maternofetal. La modificación superficial de los nanotransportadores con moléculas adecuadas se puede utilizar tanto para evitar como para potenciar el acceso selectivo a la placenta y a la sangre fetal. Para que puedan ser eliminados del organismo, los nanotransportadores exhaustos o sus fragmentos deben volver a la sangre materna (27).

3. CONCLUSIONES

Los nanomedicamentos han abierto la posibilidad de distribuir selectivamente fármacos hacia órganos, tejidos o estructuras celulares específicas. Los resultados con los que ya se cuenta prueban que es posible conseguir que el fármaco acceda en una cantidad hasta dos órdenes de magnitud superior y permanezca durante un tiempo más prolongado en el entorno de la diana que si se administra en una forma de dosificación convencional, lo que puede contribuir a mejorar la eficacia y la seguridad de ciertos tratamientos. Para facilitar el acceso al mercado de nuevos nanomedicamentos y el desarrollo de nanosimilares es necesario avanzar en el conocimiento de la influencia de las variables físico-químicas sobre el comportamiento de los nanotransportadores, y de los efectos de las diferencias entre los modelos animales y los humanos sobre el LADMET del fármaco y del nanotransportador. Las diferencias interindividuales tienen una notable influencia en la eficacia de los nanomedicamentos, lo que hace que el análisis de los resultados clínicos resulte más complejo que en el caso de los medicamentos convencionales.

La creciente disponibilidad de materiales biocompatibles sensibles a estímulos fisiológicos y externos, así como la versatilidad de los enfoques actuales para integrarlos en los nanotransportadores, ofrecen posibilidades sin precedentes para regular el perfil de liberación espaciotemporal de los fármacos. No obstante, la gestión *in vivo* de la capacidad de respuesta es todavía un aspecto crítico ya que ajustar el encendido/apagado de la cesión



a la aparición/desaparición del estímulo en el entorno fisiológico demanda una sensibilidad suficientemente alta, predecible y reproducible para que el nanotransportador resulte eficaz.

A pesar de los retos planteados, la evidencia científica de las ventajas de los nanomedicamentos, junto con el amplio abanico de nanomateriales con los que pueden ser preparados, que los hace adecuados para la personalización de los tratamientos, están impulsando un incremento en el número de ensayos clínicos y es de esperar que ocupen una posición cada vez más relevante en el arsenal terapéutico.

4. REFERENCIAS

1. Álvarez-Lorenzo C, Concheiro A. Formas farmacéuticas y sistemas de entrega de fármacos. En: Fundamentos del medicamento; Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, vol. 1, 2016, pp. 141-162. Madrid, España.
2. Shan X, Gong X, Li J, Wen J, Li Y, Zhang Z. Current approaches of nanomedicines in the market and various stages of clinical translation. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2022; 12: 3028-3048.
3. Domingues C, Santos A, Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A, Jarak I, Veiga F, Barbosa I, Dourado M, Figueiras A. Where is Nano today and where is it headed? - A review of nanomedicine and the dilemma of nanotoxicology. *ACS Nano* 2022; 16: 9994-10041.
4. Xu M, Qi Y, Liu G, Song Y, Jiang X, Du B. Size-dependent *in vivo* transport of nanoparticles: implications for delivery, targeting, and clearance. *ACS Nano* 2023; 17 (21): 20825-20849.
5. Lee BK, Yun YH, Park K. Smart nanoparticles for drug delivery: Boundaries and opportunities. *Chem. Eng. Sci.* 2015; 125: 158-164.
6. Chen C, Beloqui A, Xu Y. Oral nanomedicine biointeractions in the gastrointestinal tract in health and disease. *Adv. Drug Deliv. Revs.* 2023; 203: 115117.
7. Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A. Nanomedicamentos: Medicamentos con perfil biofarmacéutico y farmacocinético modificado. En: Bases de la terapéutica medicamentosa; Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, vol. 1, 2023, pp. 69-88. Madrid, España.
8. Wei Y, Quan L, Zhou C, Zhan Q. Factors relating to the biodistribution & clearance of nanoparticles & their effects on *in vivo* application. *Nanomedicine (Lond.)* 2018; 13: 1495-1512.
9. Zhang YN, Poon W, Tavares AJ, McGilvray ID, Chan WCW. Nanoparticle-liver interactions: Cellular uptake and hepatobiliary elimination. *J. Control. Release* 2016; 240: 332-348.
10. Chen Z, Kankala RK, Long L, Xie S, Chen A, Zou L. Current understanding of passive and active targeting nanomedicines to enhance tumor accumulation. *Coord. Chem. Rev.* 2023; 481: 215051.



11. Azzopardi EA, Ferguson EL, Thomas DW. The enhanced permeability retention effect: a new paradigm for drug targeting in infection. *J Antimicrob. Chemother.* 2013; 68:257-274.
12. Prasad M, Lambe UP, Brar B, et al. Nanotherapeutics: An insight into healthcare and multi-dimensional applications in medical sector of the modern world. *Biomed. Pharmacother.* 2018; 97:1521-1537.
13. Yi W, Xiao P, Liu X, et al. Recent advances in developing active targeting and multi-functional drug delivery systems via bioorthogonal chemistry. *Sig. Transduct. Target Ther.* 2022;7:386.
14. Cheng YH, He C, Riviere JE, Monteiro-Riviere NA, Lin Z. Meta-analysis of nanoparticle delivery to tumors using a physiologically based pharmacokinetic modeling and simulation approach. *ACS Nano* 2020; 14: 3075-3095.
15. Mitchell MJ, Billingsley MM, Haley RM, Wechsler ME, Peppas NA, Langer R. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nature Rev. Drug Discov.* 2021; 20: 101-124.
16. Kumar M, Kulkarni P, Liu S, Chemuturi N, Shah DK. Nanoparticle biodistribution coefficients: A quantitative approach for understanding the tissue distribution of nanoparticles. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2023; 194: 114708.
17. Sun Q, Radosz M, Shen Y. Challenges in design of translational nanocarriers. *J. Control. Release* 2012; 164:156-169.
18. Hughes KA, Misra B, Maghareh M, Bobbala S. Use of stimulatory responsive soft nanoparticles for intracellular drug delivery. *Nano Res.* 2023;16(5):6974-6990.
19. Sun L, Liu H, Ye Y, et al. Smart nanoparticles for cancer therapy. *Sig. Transduct. Target. Ther.* 2023;8:418.
20. Álvarez-Lorenzo C, Concheiro A. Smart drug delivery systems: from fundamentals to the clinic. *Chem Commun (Camb).* 2014;50(58):7743-65.
21. Wu W, Luo L, Wang Y, Wu Q, Dai HB, Li JS, Durkan C, Wang N, Wang GX. Endogenous pH-responsive nanoparticles with programmable size changes for targeted tumor therapy and imaging applications. *Theranostics* 2018; 8(11):3038-3058.
22. Gisbert-Garzarán M, Vallet-Regí M. Redox-responsive mesoporous silica nanoparticles for cancer treatment: Recent updates. *Nanomaterials* 2021; 11(9):2222.
23. Amin M, Lammers T, ten Hagen TLM. Temperature-sensitive polymers to promote heat-triggered drug release from liposomes: Towards bypassing EPR. *Adv. Drug Deliv. Revs.* 2022;189: 114503.
24. Paris JL, Cabañas MV, Manzano M, Vallet-Regí M. Polymer-grafted mesoporous silica nanoparticles as ultrasound-responsive drug carriers. *ACS Nano* 2015; 9 (11):11023-11033.
25. Kolosnjaj-Tabi J, Gibot L, Fourquaux I, Golzio M, Rols MP. Electric field-responsive nanoparticles and electric fields: physical, chemical, biological mechanisms and therapeutic prospects. *Adv. Drug Deliv. Revs.* 2019; 138: 56-67.



26. Fernández Alarcon J, Soliman M, Lüdtke TU, et al. Long-term retention of gold nanoparticles in the liver is not affected by their physicochemical characteristics. *Nanoscale* 2023;15: 8740-8753.
27. Zhang B, Liang R, Zheng M, Cai L, Fan X. Surface-functionalized nanoparticles as efficient tools in targeted therapy of pregnancy complications. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(15):3642.



Diagnosis, teranosis y nanorobots

Diagnostics, teranosis and nanorobots

Carmen Álvarez Lorenzo

Catedrática de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Directora del Instituto de Materiales (iMATUS) de la Universidad de Santiago de Compostela. Académica de Número de la Real Academia de Farmacia de Galicia.



e-mail: carmen.alvarez.lorenzo@usc.es

PALABRAS CLAVE

Teranosis
Nanoteranosis
Agentes de
contraste
Terapia física y
farmacológica
combinada
Recubrimiento con
membranas
celulares
Nanorobots

RESUMEN

La combinación en una única estructura nanométrica de agentes de diagnóstico y de terapia permite abordar de manera simultánea el diagnóstico por imagen de las patologías, la vectorización de los tratamientos, y la evaluación de su eficacia en tiempo real. El objetivo de la nanoteranosis es identificar de manera rápida las estrategias terapéuticas más adecuadas para cada paciente. Los agentes de contraste nanoestructurados tienen la ventaja, en comparación con átomos y moléculas individualizadas, de que se acumulan en mayor cantidad y su permanencia es más prolongada en la zona de la lesión, al tiempo que sirven como agentes de terapia física activable de manera externa. La incorporación de capacidades de propulsión y direccionamiento a los nanotransportadores para transformarlos en nanorobots abre un abanico de posibilidades aún por explorar. En este capítulo se revisan los avances más recientes en el campo de la nanoteranosis, sus limitaciones y las sinergias que ofrece la combinación de terapias físicas y farmacológicas en la optimización de los tratamientos, con un foco especial en la terapia antitumoral. Finalmente se presentan los recubrimientos con membranas de células y el diseño de nanorobots como nuevas estrategias para mejorar la vectorización hacia tejidos y células específicas, al tiempo que abren nuevos interrogantes científicos.

KEYWORDS

Theranosis
Nanotheranosis
Contrast Agents
Combined physical
and
pharmacological
therapy
Coating with cell
membranes
Nanorobots

ABSTRACT

The combination of diagnostic and therapeutic agents in a single nanometric structure allows simultaneous imaging of pathologies, vectorization of treatments, and evaluation of their efficacy in real time. The objective of nanotheranosis is to rapidly identify the most appropriate therapeutic strategies for each patient. Nanostructured contrast agents have the advantage, compared to individualized atoms and molecules, that they accumulate in greater quantities and remain in the lesion area for longer, while serving as externally activatable physical therapy agents. The incorporation of propulsion and movement direction capabilities into nanocarriers to transform them into nanorobots opens up a range of possibilities yet to be explored. This chapter reviews the most recent advances in the field of nanotheranosis, its limitations, and the synergies offered by the combination of physical and pharmacological therapies in the optimization of treatments, with a special focus on antitumor therapy. Finally, cell membrane coatings and nanorobot design are presented as new strategies to improve vectorization towards specific tissues and cells, while opening new scientific questions.



1. INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores retos del siglo XXI es llevar a la práctica la medicina personalizada, es decir, ofrecer a cada persona las estrategias más convenientes para preservar su estado de salud, entendida en su concepción más amplia (1). Esto implica, entre otras actuaciones, un mejor conocimiento del genotipo y el fenotipo de los pacientes, el desarrollo de herramientas de diagnóstico más temprano, el descubrimiento de nuevos fármacos, la mejora de las terapias físicas, y el seguimiento en tiempo real de la eficacia y la seguridad de los tratamientos. La teranosis, es decir, la combinación de diagnóstico, terapia y monitorización de la terapia surge con el objetivo de identificar de la manera más rápida y precisa el tratamiento más adecuado para cada persona. La nanotecnología ofrece la posibilidad de disponer de una amplia variedad de nanomateriales que, combinados en una única estructura de tamaño nanométrico, actúan *in vivo* como sensores, agentes de contraste, productos para terapia física inducida externamente, y medicamentos para cesión controlada (o activable) de fármacos, material genético y biológicos (2).

La investigación en el campo de la nanoteranosis es relativamente reciente; la primera publicación indexada bajo el término “theranostic” apareció en 2001 y la primera indexada como “nanotheranostic” o “nanotheranostics” se recogió en el año 2009, según la base de datos Web of Science (Figura 1). El desarrollo de la teranosis requiere un abordaje multidisciplinar, y los avances en este ámbito se han intensificado en los últimos años gracias a la confluencia de una amplia variedad de campos científicos y tecnológicos, incluida la gestión de macrodatos y la inteligencia artificial. A esto se une la tendencia creciente a utilizar estrategias bioinspiradas en el modo en que la Naturaleza resuelve, de forma relativamente sencilla, problemas complejos o crea nuevas estructuras (3). La Biomimética permite abordar con criterios cada vez más racionales la vectorización o envío de las nanoestructuras a tejidos y células del organismo. El direccionamiento selectivo de los agentes de contraste, al igual que el de los nanomedicamentos, se puede mejorar imitando la manera en que las células del organismo intercambian y envían señales moleculares y nanoestructuras, e incluso el modo en que algunas células humanas y microorganismos se desplazan por el cuerpo. Las células robot (“cellbots”) y los nanorobots buscan combinar las capacidades del mundo natural y las oportunidades que ofrece la robótica para desarrollar biohíbridos que, en un futuro cada vez más próximo, sean capaces de viajar por nuestro organismo para realizar tareas muy precisas en las escalas micro y nano (4).

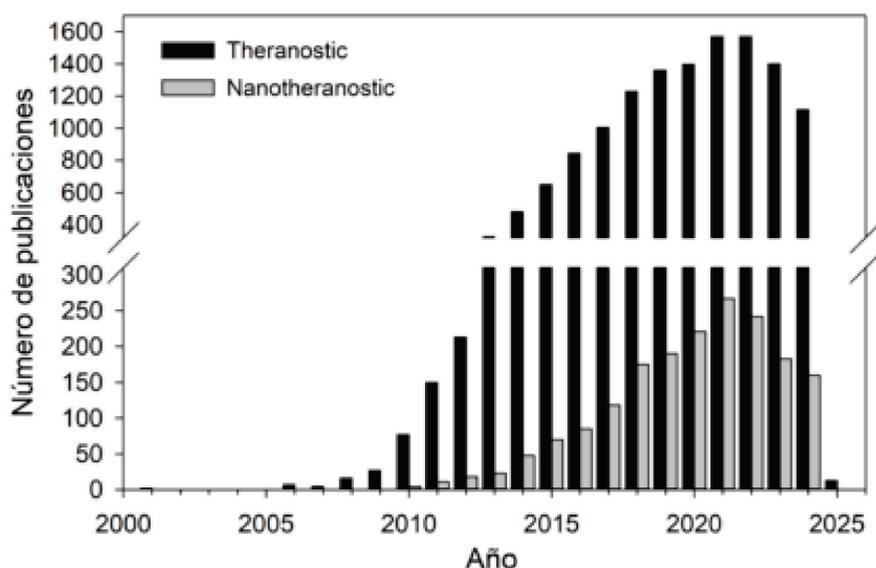


Figura 1. Evolución del número de publicaciones recogidas en la base de datos Web of Science bajo los términos “theranostic” y “nanotheranostic”. Datos actualizados el día 23/11/2024.

El objetivo de este capítulo es ofrecer una revisión de los avances más reciente en los ámbitos de la nanoteranosis y los nanorobots, con un breve análisis final del impacto que puede tener que las nanopartículas sean capaces de penetrar por sí mismas en las células humanas, independientemente de los mecanismos de captura naturales.

2. TERANOSIS: INTEGRACIÓN DE AGENTES DE DIAGNÓSTICO Y TERAPIA

La teranosis es una nueva estrategia que combina diagnóstico, terapia y evaluación de la eficacia del tratamiento en una única entidad. El desarrollo de la teranosis se ha visto impulsado por el diseño de nanotransportadores que contienen, además del componente terapéutico (para terapia física o farmacológica), agentes de diagnóstico o monitorización, principalmente por imagen.

El desarrollo de la nanoteranosis se basa en tres pilares fundamentales:
- **Un mejor conocimiento del genoma humano**, que hace posible que ya en muchos casos se puedan llegar a identificar las bases moleculares de las enfermedades, los polimorfismos genéticos que rigen la respuesta a los tratamientos, las mutaciones genéticas asociadas al riesgo de padecer una determinada enfermedad, y los genes que determinan que se sobreexpresen o no un determinado receptor, que podría ser utilizado para vectorizar el



nanotransportador a las células afectadas. Aproximadamente uno de cada tres medicamentos innovadores que se han puesto en el mercado en los últimos años ya incluyen en el prospecto información sobre el perfil genético de los pacientes a los que deben ser destinados (5).

-Un mejor conocimiento de la fisiopatología de las enfermedades con ayuda de técnicas de diagnóstico por imagen. Los avances en las técnicas de diagnóstico han jugado y están jugando un papel muy importante en este campo con el desarrollo de, por ejemplo, técnicas con mayor resolución y agentes de contraste con perfiles farmacocinéticos mejorados (6). Se está llevando a cabo una investigación muy intensa para la identificación de agentes de contraste específicos para cada tejido que den lugar a concentraciones locales más altas y más duraderas. Esto es especialmente importante en el caso de la tomografía computerizada y de la imagen por resonancia magnética, que necesitan agentes de contraste para aumentar la sensibilidad y mejorar la resolución de la imagen de patologías que afectan a tejidos blandos.

En tomografía computerizada se utiliza la escala de Unidades Hounsfield ('escala Hounsfield' o 'escala de números TC'), en inglés HU, para describir los diferentes niveles de radiodensidad de los tejidos humanos (Tabla 1). En la escala Hounsfield, al agua destilada se le asigna el valor 0; la radiodensidad del aire es -1000 HU y, en cambio, la del hueso compacto es +1000 HU, que se considera uno de los valores más altos. Los demás tejidos presentan valores de HU muy bajos y requieren agentes de contraste para la correcta visualización (7).

Tabla 1. Radiodensidad de los tejidos humanos y otras sustancias utilizadas como referencia. Adaptada de W. Krause (7).

Sustancia	Unidades Hounsfield (HU)
Aire	-1000
Pulmón	-500 a -900
Grasa	-80 a -120
Agua	0
Fluido cerebroespinal	15
Riñón	25 a 40
Páncreas	30 a 50
Músculo	10 a 50
Sangre	30 a 60
Hígado	50 a 65
Agentes de contraste	100 a 300
Hueso	400 a 1000



En general, se usan como agentes de contraste sustancias hidrosolubles - basadas en yodo o gadolinio- que presentan una distribución rápida e inespecífica en el espacio extracelular (7). La especificidad, es decir, un alto contraste en tejidos seleccionados, solo es posible cuando se modula el comportamiento farmacocinético del agente de contraste para conseguir niveles máximos en la región de interés en una escala de tiempo adecuada. Al igual que ocurre con la mayoría de los fármacos no encapsulados, la administración endovenosa de los agentes de contraste más utilizados entécnicas de diagnóstico por imagen conduce a un pico máximo de concentración en los tejidos al cabo de pocos segundos y a una eliminación muy rápida por vía renal. Si el tiempo de permanencia en el tejido es muy corto, puede resultar insuficiente para visualizar la afectación, y si se requiere no solo diagnosticar sino también monitorizar un proceso, se hace necesario administrar dosis repetidas. Los riesgos de toxicidad asociados al uso de agentes de contraste han motivado el desarrollo de guías en las que se establecen los intervalos de tiempo mínimos entre administraciones sucesivas del mismo producto o de productos complementarios para que el diagnóstico resulte seguro (8).

- Además, se ha comprobado que existen diferencias importantes en distribución y eliminación entre personas de distinto género, lo que refuerza aún más la necesidad de conocer cómo vectorizar el agente de contraste hacia el tejido afectado y cómo personalizar las dosis (9). La investigación en este campo se basa en los mismos principios que la terapia farmacológica; es decir, en transformar los agentes de contraste moleculares en nanoestructuras, o nanomateriales, y aprovechar sus características de distribución preferencial hacia determinados órganos o tejidos. **Por lo tanto, la nanotecnología es el tercer pilar sobre el que se asienta la nanoteranosis (10).**

Por ejemplo, para tomografía computerizada se han desarrollados nanomateriales basados en oro, bismuto, lantánidos, o metales de transición, entre otros muchos componentes. Y además se ha visto que, en estado de nanopartícula, estos agentes de contraste también pueden servir para terapia física guiada por imagen, o bien incorporar fármacos, y combinar diagnóstico, tratamiento farmacológico y monitorización del efecto de la terapia (11). Regulando el tamaño y la forma de las partículas y su recubrimiento, se consigue que se acumulen preferencialmente en regiones intratumorales, aumentando el contraste con respecto a los tejidos adyacentes.

Los agentes de contraste nanoparticulados (nanoagentes) ya se han mostrado útiles en terapia fototérmica, terapia fotodinámica, terapia génica, inmunoterapia, terapia con gases, terapia sonodinámica, y terapia



de inanición, entre otras. Se espera que estas modalidades emergentes de diagnóstico-tratamiento combinado mitiguen los efectos secundarios de los tratamientos tradicionales y mejoren la eficacia terapéutica. El objetivo final es que los tratamientos guiados y monitorizados por imagen permitan distinguir, de manera fiable y rápida, los pacientes que responden al tratamiento de los que no responden o en los que provocan efectos secundarios graves, para interrumpir y cambiar el tratamiento por otro más eficaz y seguro (12).

En las secciones siguientes, se recogen algunos ejemplos centrados en el tratamiento del cáncer guiado por imágenes de tomografía computerizada, pero se debe tener en cuenta que la nanoterapia resulta útil para muchas otras patologías, incluidas enfermedades cardiovasculares, inmunológicas, inflamatorias, infecciosas, metabólicas y degenerativas del sistema nervioso central (13).

2.1. Nanoterapia con terapia fototérmica

La terapia fototérmica es un método de terapia física que utiliza luz en el infrarrojo cercano (NIR) para excitar agentes fototérmicos administrados a la región del tumor. La capacidad de la luz para penetrar a través de la piel depende de la longitud de onda; la luz en el intervalo UV-visible apenas accede a la dermis, mientras que la de longitud de onda comprendida entre 755 y 1064 nm puede penetrar varios milímetros. Este intervalo de longitudes de onda se corresponde con la denominada ventana biológica, en la que los componentes biológicos presentan una baja absorción de luz, con lo que ésta puede penetrar hasta capas profundas (Figura 2A) (14,15).

Las partículas fototérmicas absorben y convierten la energía de la luz en calor, lo que produce una hipertermia local capaz de matar células tumorales (Figura 2B). Las nanopartículas de oro (AuNP) anisotrópicas, incluidas las estructuras esféricas huecas, las nanobarras, las bipirámides y las nanoestrellas, son excelentes agentes de contraste debido a su alto coeficiente de atenuación de rayos X y a su elevada eficiencia de conversión fototérmica (16,17). Por ejemplo, es posible preparar bipirámides de oro monodispersas funcionalizadas con polietilenglicol con una relación de aspecto controlada y con absorción en la región NIR, que permiten visualizar los tumores con mayor contraste que con el agente clásico Iopromida (aportando más radiodensidad a la misma concentración) (18). Tras la administración intravenosa de estas nanopartículas a ratones con tumores de mama metastásicos (4T1), se observa que el contraste en el tumor aumenta progresivamente con el paso del tiempo y alcanza un máximo a las 24 h tras la inyección. Al igual que en otros estudios, los nanoagentes

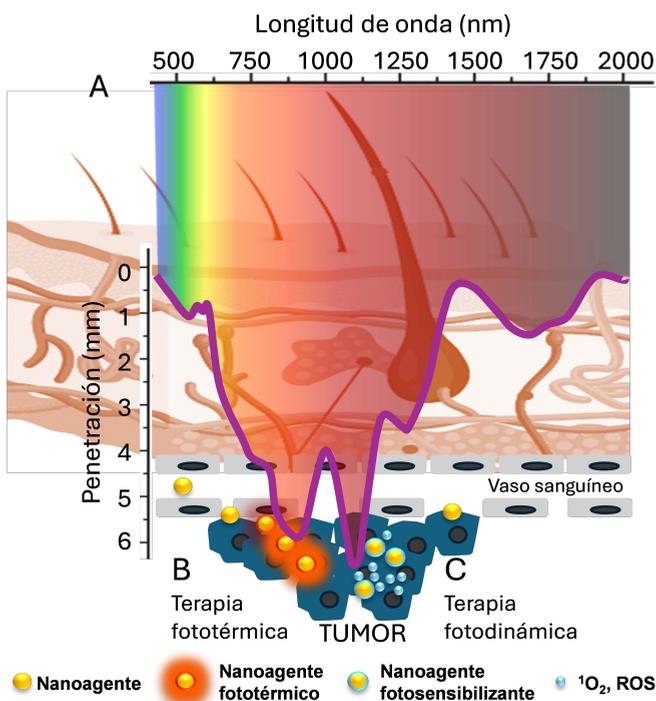


Figura 2. (A) Capacidad de penetración de la luz en los tejidos biológicos en función de su longitud de onda; (B) esquema de la terapia fototérmica a la que puede dar lugar un nanoagente de contraste que transforma radiación NIR en incremento local de la temperatura; y (C) esquema de la terapia fotodinámica que se produce cuando el nanoagente sensible a radiación NIR provoca la formación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS). Dibujo no a escala.

requieren más tiempo para acumularse en el tumor que los agentes de contraste basados en átomos o en pequeñas moléculas, pero ofrecen una ventana temporal más amplia para diagnosticar, determinar en qué momento se debe iniciar la terapia (física o farmacológica), y monitorizar el resultado de su aplicación. En el caso particular de este estudio, las imágenes de diagnóstico permitieron establecer que la terapia fototérmica debía iniciarse a las 24 h de la inyección. La irradiación durante 5 min con un láser NIR de 915 nm dio lugar a un aumento localizado de temperatura en el tumor de más de 20 °C (de 35 °C a 52 °C), lo que supone una hipertermia capaz de eliminar las células tumorales de manera efectiva.

2.2. Nanoterapia con terapia fotodinámica

La terapia fotodinámica se basa en la citotoxicidad de las especies reactivas de oxígeno (ROS) que se generan por reacción de agentes fotosensibilizadores con el oxígeno bajo irradiación con luz NIR (Figura 2C)



(19). La eficacia de la terapia fotodinámica *in vivo* se ve comprometida por la, a veces, insuficiente penetración de la luz y por la hipoxia del microambiente de los tumores. Por lo tanto, esta terapia física requiere nanoagentes multifuncionales que combinen capacidades elevadas para absorber radiación NIR y para generar O_2 en cantidad suficiente. La hipoxia en el tumor se puede resolver catalizando la producción de O_2 a partir del H_2O_2 que se sobre-genera en las células tumorales.

Se han diseñado AuNPs que incluyen Ce^6 y catalasa dirigidas a un biomarcador que se sobreexpresa en células HELA (tumor maligno de cervix) para facilitar su acumulación selectiva en estas células y aumentar así el contraste (hasta 94.87 HU) (20). Además de ofrecer imágenes muy nítidas del tumor (entre 24 y 72 horas), estas nanopartículas mostraron una excelente tasa de producción de O_2 , lo que confirma que la catalasa incorporada cataliza eficazmente la conversión de H_2O_2 a O_2 . La excelente capacidad de retención intratumoral permitió que con una sola exposición a láser NIR de 808 nm, aplicada 72 h post-inyección del nanoagente durante 10 min, se liberase el Ce^6 contenido en las nanopartículas para generar radicales libres y que el tumor desapareciese por completo a los pocos días (20).

Estos sistemas se han ido mejorando para absorber a longitudes de onda un poco más altas (1064 nm), en la región en la que los tejidos biológicos son más transparentes a la luz utilizando, por ejemplo, nanorods bimetalicos de oro y platino, que dan lugar a imágenes de tomografía muy nítidas (21). Las puntas donde está concentrado el platino tienen una actividad similar a la catalasa y catalizan la descomposición del H_2O_2 producido por las células para generar O_2 . Transcurridas 24 h desde la administración intratumoral de los nanorods, el tratamiento durante 5 min con radiación láser de 1064 nm guiada por imagen de tomografía computerizada, dio lugar a una reducción significativa del volumen de tumores 4T1 al cabo de 12 días, si se compara con los controles sin irradiar. Con estas partículas también se evaluó la posibilidad de incorporar un fármaco como la doxorubicina, permitiendo la erradicación completa del tumor con la combinación de terapia fotodinámica y quimioterapia.

2.3. Nanoteranosis con nanopartículas magnéticas y quimioterapia

Las nanopartículas de óxido de hierro constituidas por un núcleo superparamagnético y una cubierta hidrofílica se vienen usando desde hace años como agentes de contraste de imágenes de resonancia magnética. En lo que se refiere a la vectorización, tienen la ventaja de que es posible direccionarlas hacia un determinado órgano o tejido aplicando un imán



sobre esa zona del cuerpo. Una vez que se acumulan las nanopartículas -lo que requiere algunas horas-, si se aplica un campo magnético oscilante, las nanopartículas vibran intentando reorientarse, lo que genera hipertermia local. El incremento localizado de temperatura sensibiliza a las células tumorales frente a la quimioterapia y, además, se puede utilizar como estímulo para desencadenar la cesión de un fármaco que esté encapsulado en las nanopartículas (22).

También es posible incorporar agentes sensibles a la luz NIR para elevar aún más la temperatura local o para inducir la generación de especies reactivas de oxígeno, obteniendo así una terapia triple: magnética, farmacológica y fototérmica o fotodinámica. Otra opción es combinar dos agentes de contraste distintos para obtener imágenes mejores (bimodales) y una terapia más guiada y fácil de monitorizar (23).

2.4. Nanoteranosis con radioterapia

La teranosis es también muy relevante en radioterapia. La radioterapia es una de las opciones de tratamiento más efectivas para el cáncer, pero la radio-resistencia representa un desafío significativo. Por ello, resulta necesario desarrollar nanoagentes con capacidad de radio-sensibilización para incrementar el efecto de la radioterapia. La superficie de las nanopartículas de oro produce electrones secundarios o electrones Auger a través del efecto fotoeléctrico cuando absorbe rayos X de energía baja y media, lo que mejora la eficacia de la radioterapia y reduce el daño a los tejidos normales debido al corto alcance de los electrones secundarios (24). Las interacciones entre los fotones del haz y los átomos de oro generan electrones y positrones que se transmiten al medio acuoso provocando la ionización de las moléculas de agua. El incremento local de la dosis de radiación y la radio-sensibilización a los que pueden dar lugar las nanopartículas de oro dependen en gran medida de la cantidad (masa) y de la forma de las nanopartículas que se acumulen en la lesión, lo que a su vez determina el contraste de imagen que se puede conseguir (25). Por ejemplo, se observó que las estructuras 2D planas (30x30x0,1 nm) dan lugar a un efecto fotoeléctrico entre dos y tres veces más intenso, transfieren más dosis al medio acuoso y reabsorben menos energía que las estructuras 3D tipo nanocilindro (nanorod) (5x30 nm o 10x50 nm), cuando se irradian tanto con una fuente de baja energía (radiación X de baja energía o gamma usada en braquiterapia) como de alta energía (telerradioterapia).

En ensayos *in vivo* con modelos de tumor se verificó que el tamaño de las AuNPs también condiciona su utilidad en radioterapia. Así, para nanoesferas pegiladas de entre 3 y 50 nm, las AuNPs de ~13 nm ofrecen un contraste



muy intenso en tomografía (mayor que el iohexol), permitiendo obtener imágenes muy nítidas y, al mismo tiempo, tienen mayor capacidad de radiosensibilización que otros agentes utilizados en clínica (como el glicididazol sódico). La exposición de los tumores a 6 Gy de irradiación, tanto a los 30 min como a las 4 h posteriores a la inyección de las AuNPs de ~13 nm, dio lugar a una ralentización muy marcada de su crecimiento (26).

Las células tumorales son tres veces más radio-resistentes en hipoxia que en condiciones aeróbicas, lo que se atribuye a que el daño del ADN por efecto de la radiación ionizante se puede reparar más fácilmente en ausencia de O_2 . Por ello, si a estas partículas se les acoplan sustancias capaces de transformar el H_2O_2 en oxígeno, como MnO_2 , o de generar O_2 por otros mecanismos, la eficacia del tratamiento se puede mejorar

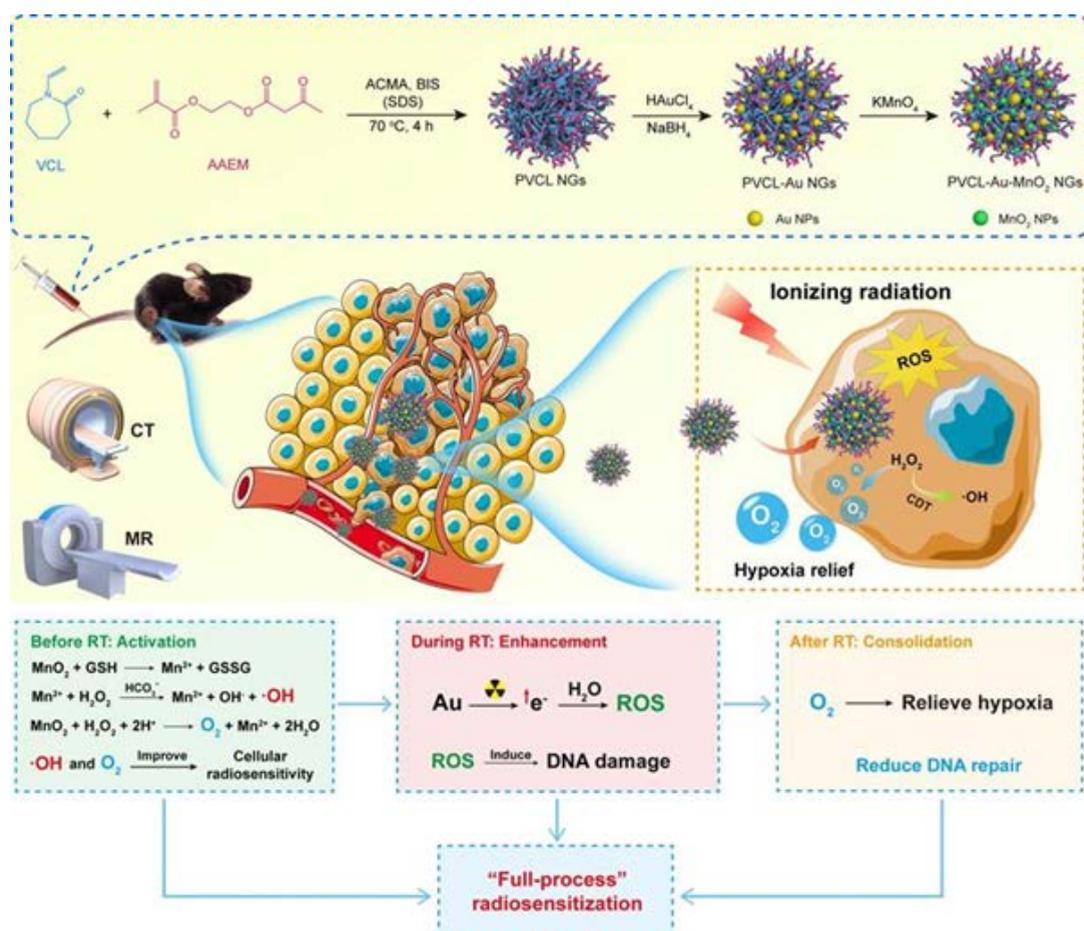


Figura 3. Síntesis de nanopartículas de poli(N-vinilcaprolactama) (PVCL) cargadas con Au/MnO₂ útiles como agentes de contraste de tomografía computerizada (CT) y resonancia magnética (MR) y capaces de mejorar la eficacia de la radioterapia a través de diversos procesos de radiosensibilización antes (generando oxígeno y radicales libres), durante (incrementando la producción de especies reactivas de oxígeno) y después (evitando la hipoxia) de la dosis de radiación. Reproducido de Zhang et al. (27) (Creative Commons Attribution, CC BY).



considerablemente. En este sentido, se ha observado que nanoagentes que combinan partículas de oro y MnO_2 se acumulan en una elevada proporción en tumores y al cabo de 24 h de la administración intravenosa la hipoxia se revierte (Figura 3). Si en ese momento se aplica radioterapia (dosis 4 Gy), el oro genera más especies reactivas de O_2 y el daño del DNA no se puede reparar en presencia del exceso de O_2 . Esto permite que, con una sola sesión, el tamaño del tumor se reduzca mucho más que si se emplean nanoagentes que no generan O_2 y que el riesgo de recidiva se minimice. Por lo tanto, las imágenes de tomografía computerizada, además de determinar la ubicación de los nanoagentes en el tejido tumoral, permiten identificar el momento en el que se debe iniciar la radioterapia para que sea más eficaz (27).

2.5. Nanoterapia con inmunoterapia

La inmunoterapia utiliza a menudo combinaciones de antígenos y anticuerpos para ayudar al huésped a reconocer el tumor y estimular el sistema inmunológico para activar las células inmunes que lo deben destruir (28). Los antígenos libres son fácilmente inactivados por enzimas en la circulación sanguínea, por lo que los nanomateriales con capacidades de imagen se diseñan para actuar como portadores que los protegen y dirigen hacia el tejido de interés. Para ello, se pueden decorar AuNPs con anticuerpos frente a células tumorales específicas y con antígenos. Los anticuerpos permiten el anclaje de los nanoagentes a la superficie de las células tumorales, al tiempo que los antígenos atraen a las células “asesinas naturales” (“natural killers”) que atacan específicamente a esas células cancerosas. Estas nanopartículas permiten monitorizar la eficacia de la inmunoterapia en tiempo real, mostrando como se destruye el tumor (29).

En muchos casos la inmunoterapia falla porque las células tumorales sobreexpresan puntos de control inmunitarios, como el ligando de muerte programada 1 (PDL1), que inhiben la inmuno-reacción antitumoral. La identificación temprana de las personas que se pueden beneficiar de la inmunoterapia a través de técnicas de imagen por tomografía computerizada permite decidir sobre el tratamiento a aplicar en cada caso. Por ejemplo, en un estudio que se llevó a cabo con un número elevado de animales a los que se indujo el mismo tipo de tumor, se observó una acumulación variable de los nanoagentes. La clasificación de los animales en tres grupos según que el contraste de la imagen fuese alto, medio o bajo permitió la predicción temprana de la respuesta terapéutica, observándose una correlación directa entre el contraste de la imagen (indicativa de la acumulación de los nanoagentes) y la reducción del tamaño del tumor a los pocos días del tratamiento (30).



2.6. Nanoteranosis con terapia de inanición

La terapia de inanición es una estrategia emergente en el tratamiento del cáncer que se basa en inhibir el crecimiento del tumor cortando el suministro de nutrientes (glucosa) (31). La glucosa oxidasa (GOD) celular es una oxidorreductasa que convierte la glucosa, el O_2 y el agua en ácido glucónico y H_2O_2 . Como ya se ha comentado, en los tumores hay niveles de O_2 muy bajos, y para que transcurra la reacción y la terapia por inanición resulte útil en el tratamiento de tumores, se requiere en primer lugar restaurar los niveles de O_2 . Los nanoagentes que incorporan actividad catalasa resultan muy interesantes para proporcionar el oxígeno necesario para la glucosa oxidasa, al tiempo que retiran el subproducto generado (H_2O_2), lo que en conjunto acelera la reacción de consumo de glucosa. Si al mismo tiempo que ocurren estas reacciones autoaceleradas en cascada, los nanoagentes responden a luz NIR generando ROS altamente tóxicas, la muerte celular ocurre de manera rápida (32).

También se puede incorporar la glucosa oxidasa en nanoagentes de contraste vectorizados que combinan la actividad catalasa con terapia fototérmica, de manera que se consigan efectos sinérgicos de la terapia de inanición y la terapia fototérmica (33). La monitorización por imagen permite delimitar la zona tumoral, establecer en qué momento se debe iniciar la irradiación con luz NIR (en general, cuando el contraste es más alto), y monitorizar en qué medida el tratamiento elimina el tumor.

2.7. Nanoteranosis con terapia con gases

En lugar de O_2 , se pueden generar o vehiculizar hacia el tumor otros gases que resulten dañinos para las células (34). El óxido nítrico provoca dilatación, por lo tanto, aumenta los niveles de O_2 en el tumor, y además niveles altos de óxido nítrico inducen la apoptosis de las células tumorales. Por ejemplo, se han desarrollado nanopartículas basadas en bismuto que, bajo la acción de rayos X, generan óxido nítrico durante la radioterapia. Estas nanopartículas combinan una alta eficacia como agentes de contraste, como agentes de radioterapia y como generadores de óxido nítrico y además son útiles en terapia fototérmica, de modo que si se aplica luz NIR aumenta la temperatura del tumor y las células tumorales se vuelven mucho más sensibles al tratamiento, lo que facilita su erradicación (35).

2.8. Nanoteranosis con terapia sonodinámica

La terapia sonodinámica consiste en combinar la aplicación de ultrasonidos de baja intensidad con sonosensibilizadores, que absorben la energía de los ultrasonidos, generando radicales libres que son tóxicos para



las células (36). Los ultrasonidos tienen la ventaja de que penetran hasta zonas más profundas del organismo y su aplicación produce menos efectos secundarios que los procedimientos basados en luz, pero requieren que en la zona de interés se acumulen nanoagentes capaces de absorber la energía de los ultrasonidos y generar una concentración de ROS suficiente para inducir la apoptosis celular. Para este cometido, se ha diseñado una amplia variedad de nanopartículas basadas en oro y derivados de óxido de titanio, nanopartículas de silicio y redes metalorgánicas (“metal-organic framework”, MOF) (37). No obstante, la eficacia de la sonoterapia depende de la concentración de O_2 en el tumor, que generalmente es muy baja, por lo que la reoxigenación de las células tumorales se ha convertido en una función primordial de los nanoagentes de teranosis en este campo de aplicación.

El hecho de que la prestación como agente de contraste permita monitorizar la distribución en el espacio (zona del organismo) y en el tiempo (cambios en la concentración) de los nanoagentes resulta una herramienta muy útil para identificar el momento adecuado en el que se deben aplicar los ultrasonidos para optimizar la eficacia (máxima concentración en tejido afectado) y minimizar los efectos secundarios (concentraciones bajas en otros tejidos) (38). Las investigaciones en este campo se centran en el diseño de nanomateriales que permitan combinar la terapia sonodinámica con otras estrategias físicas y farmacológicas para abordar el tratamiento de tumores sólidos complejos (39).

2.9. Nanoteranosis con terapia génica

Los sistemas de nanoteranosis también son útiles en terapia génica. La combinación de la terapia génica y la terapia fototérmica se presenta como una alternativa prometedora y con menos efectos secundarios para el tratamiento del cáncer. La terapia génica, por si sola, da lugar a respuestas lentas, mientras que la terapia fototérmica de manera aislada se limita a la ablación tumoral local. La convergencia de la terapia génica y la terapia fototérmica se puede conseguir en la actualidad mediante nanoagentes de contraste fototérmicos con capacidad para transportar material genético. Con este enfoque integrado, un incremento moderado de temperatura mejora la internalización celular de los nanoagentes, el escape de los endosomas y la expresión génica, al tiempo que la terapia génica puede contribuir a sensibilizar las células a los incrementos de temperatura, con lo que logra un efecto terapéutico sinérgico (40). Por ejemplo, se ha incorporado material genético que inhibe la proliferación y acelera la apoptosis en cáncer de colon en dendrímeros modificados con nanopartículas de oro y decorados con un anticuerpo que reconoce las



células tumorales. Estas partículas, además de hacer posible la visualización por tomografía (se alcanza el máximo de acumulación en 90 min en colon tras administración intravenosa), dan lugar a un efecto fototérmico cuando se irradian con NIR, y la calefacción favorece la cesión del material genético encapsulado en las partículas.

Además de nanopartículas de oro, se pueden utilizar nanopartículas magnéticas con recubrimientos en los que se incorpora el material genético. El diseño de partículas alargadas facilita el proceso de internalización celular, al tiempo que dota a las partículas de capacidad de cizalla cuando rotan bajo un campo magnético alterno. Las partículas magnéticas alargadas permiten obtener imágenes por resonancia magnética y aúnan efectos fototérmicos bajo luz laser y efectos citolíticos bajo campos magnéticos oscilantes, lo que junto con su capacidad de transporte de antioncogenes puede dar lugar a una remisión rápida y completa de tumores complejos (41).

3. DESPLAZAMIENTO DE LOS NANOAGENTES: VECTORIZACIÓN Y NANOROBOTS

Que las nanopartículas lleguen a un destino específico sigue siendo un reto. Se ha comparado la matriz extracelular con una calle colapsada por el tráfico de numerosos componentes de distintos tamaños y que ofrecen una elevada resistencia al movimiento de nano y micropartículas. Para facilitar el paso a través de estas áreas tan intrincadas y que las nanopartículas de teranosis puedan alcanzar su destino, se está trabajando en dos estrategias que pueden ser complementarias: recubrimiento con membranas de células y diseño de nanorobots.

3.1. Recubrimientos con membranas de células

La vectorización activa se basa en decorar las nanopartículas con ligandos capaces de reconocer receptores que se sobreexpresan en las células objetivo. Para ello, se identifican cambios en la superficie de las células afectadas por una determinada patología, y se fijan en la superficie de las nanopartículas ligandos capaces de reconocer simultáneamente dos o tres de esos receptores que se expresan en exclusiva o en mayor proporción en las células diana que en las células sanas. La pregunta que surge es qué receptor o conjunto de receptores es mejor que reconozcan las nanopartículas. Se han obtenido resultados muy diversos dependiendo de que los ligandos reconozcan cambios en las células del endotelio, para que al circular por la sangre se unan a los vasos del tumor, o de que reconozcan

sólo a las células diana (42). La realidad es muy compleja y sólo un porcentaje muy pequeño de los nanomedicamentos alcanza de manera efectiva las estructuras diana.

Un paso adelante en la vectorización consiste en decorar las nanopartículas con componentes de membranas celulares (Figura 4), para dotarlas de las funcionalidades que permiten a las células reconocer distintos ambientes utilizando su tropismo natural para desplazarse por el organismo hacia lugares específicos (43). Los recubrimientos con membranas de células aportan lípidos, carbohidratos y proteínas que

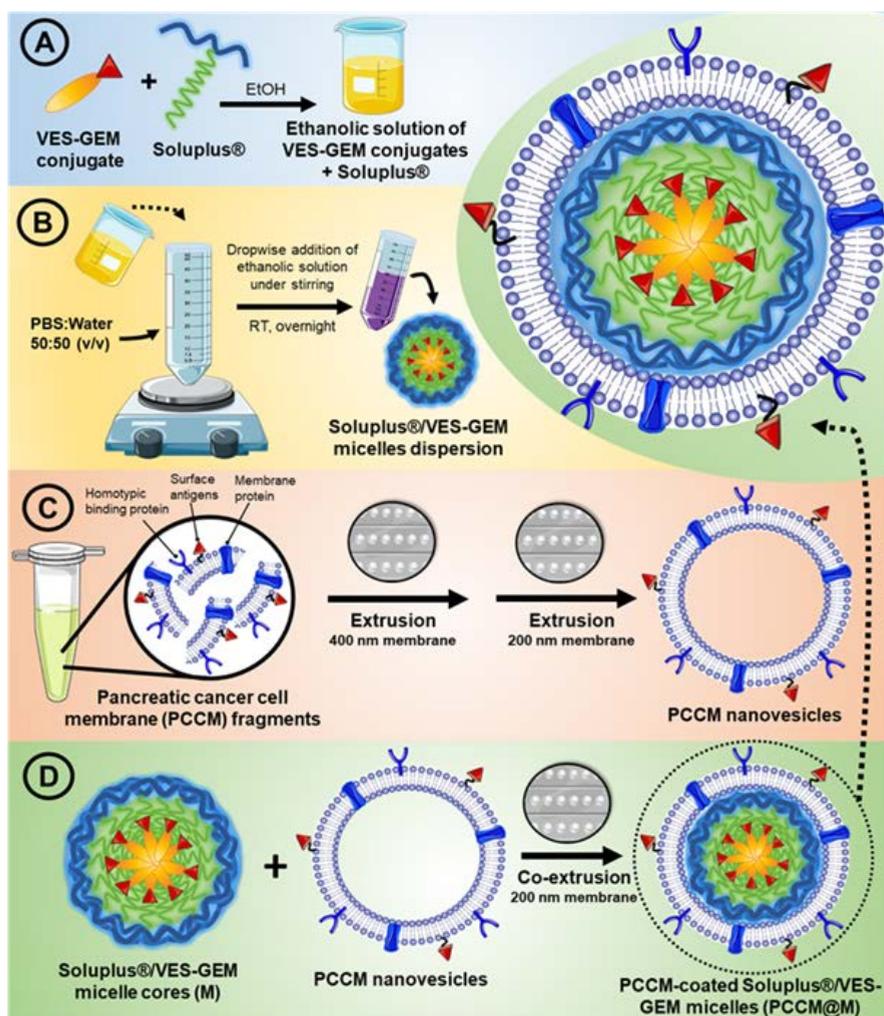


Figura 4. Esquema de un proceso de preparación de (A, B) micelas poliméricas que incorporan un conjugado de gemcitabina (Soluplus®/VES-GEM), por el método de evaporación del disolvente, que a continuación se modificaron con (C, D) membrana de células de tumor de páncreas (BxPC3) mediante coextrusión. Las nanovesículas de membrana celular BxPC3 se prepararon mediante extrusión (C) y se co-extruyeron con las micelas poliméricas (tamaño de poro de 200 nm) para obtener las nanopartículas recubiertas con las membranas tumorales (D). Reproducido de Pereira-Silva y col. (49) con permiso de Elsevier.



pueden retrasar la eliminación por el sistema inmunológico y proporcionar un nivel adicional de funcionalidad superficial similar al de ciertas células. En 2011 se demostró, por primera vez *in vivo*, que el recubrimiento con membranas de glóbulos rojos permite evadir el reconocimiento inmune, haciendo posible que las nanopartículas prolonguen su permanencia en el torrente circulatorio (44). Este hallazgo, que subraya el potencial que encierran las biointerfaces en la biodistribución de los nanomedicamentos y los nanoagentes de teranosis, provocó un cambio de paradigma en la vectorización activa hacia una perspectiva mucho más biomimética (45). En este sentido, el recubrimiento con la pared de bacterias estimula fuertemente la inmunidad innata, mientras que las membranas de plaquetas, células del sistema inmune y células madre mesenquimales dotan a las nanopartículas de capacidad de vectorización hacia zonas inflamadas y tejidos tumorales (46).

Más recientemente se está empezando a evaluar las ventajas que puede ofrecer el recubrimiento de nanotransportadores con membranas de células tumorales. La vectorización homotípica, o identificación homóloga, tiene como objetivo el auto-reconocimiento de las células tumorales. Este enfoque biomimético explota la afinidad que existe entre las células tumorales, mediada por proteínas de membrana específicas, y se basa en la capacidad natural de las células tumorales para reconocer otras células tumorales iguales y desarrollar fuertes contactos e interacciones adhesivas a través de receptores de membrana (47). Se han descrito diversas técnicas para obtener muestras de células tumorales, extraer las membranas y recubrir con ella las nanopartículas (48). Los procedimientos son muy diversos (Figura 4) y deben optimizarse para cada par membrana celular-nanopartícula (49). Otro aspecto sobre el que se está investigando es el grado de recubrimiento que es necesario alcanzar (completo/parcial) y la posibilidad de combinar membranas de células de distintas características para mejorar la vectorización (50).

3.2. Nanorobots

La otra estrategia que en los últimos años ha atraído mucha atención es el diseño de nanorobots o nanosubmarinos capaces de moverse de manera autónoma llevando el fármaco en su interior. El objetivo último es imitar la quimiotaxis natural de células móviles (espermatozoides, bacterias) y dirigir su navegación hacia el tejido de interés aplicando campos externos (51). En el ser humano el movimiento de algunas células resulta esencial para su funcionalidad. Este es el caso del movimiento asimétrico y tipo tornillo sin fin de los espermatozoides, que favorece la fecundación del óvulo, o del movimiento tipo sacacorchos que requiere el *Helicobacter pylori* para



penetrar en el mucus que recubre el epitelio gástrico. En la naturaleza los movimientos no suelen ser lineales sino asimétricos para reducir la resistencia al flujo que oponen los medios biológicos. Esto demanda energía; en el caso de los espermatozoides, por ejemplo, el motor principal son las mitocondrias y el combustible es muy variado (glucosa, manosa, fructosa, lactato, y citrato) (52).

La idea de nanorobot o nanoestructura con movimiento autónomo en el interior del ser humano fue propuesta por Eric Drak en 1991. Con anterioridad, Feynman ya había planteado la posibilidad de construir micromáquinas a escala atómica, pero hasta el año 2004 no se consiguió demostrar *in vivo* que se podían preparar nanorobots con movimiento autónomo, vectorizables usando fuentes externas como campos magnéticos, e incorporarles agentes de contraste (53). En 2023 se publicó un estudio en el que, por primera vez, un nanorobot de Au y SiO₂ con una cabeza en forma de lanza conseguía penetrar en la matriz de un tejido tumoral e incluso en las células tumorales (54). En la actualidad esta tecnología está experimentando una rápida expansión.

Los micro/nanorobots se definen como microsistemas móviles capaces de convertir energía en locomoción para conseguir un objetivo específico (53). El diseño de un nanorobot es muy complejo ya que requiere la toma en consideración de varios aspectos críticos:

- la composición, que va a determinar que alcance intacto su destino, que lo reconozca, que pueda transportar una carga de fármacos o de otros componentes, y que se biodegrade;
- el modo de propulsión, que es el principal talón de Aquiles de los nanorobots;
- la capacidad real de controlar el movimiento y la dirección del nanorobot;
- y por último, que todo ello se puede integrar en una estructura de tamaño en la escala nanométrica.

Los micro/nanorobots pequeños que se mueven en un medio biológico viscoso deben recibir alimentación de forma continua para su funcionamiento. Sin embargo, es difícil cargar baterías o motores en los micro/nanorobots debido a sus pequeñas dimensiones. Por lo tanto, identificar la fuerza impulsora más adecuada para cada aplicación es uno de los retos principales. Dependiendo de la fuente de energía utilizada, los micro/nanorobots se clasifican en: a) impulsados químicamente (o impulsados por combustible), b) impulsados sin necesidad de combustible, utilizando campos magnéticos o eléctricos, luz o ultrasonidos, y c) biohíbridos de células humanas o bacterias con nanopartículas sintéticas, que se impulsan o direccionan mediante sistemas de control específicos (Figura 5) (55, 56). En general, los micro/nanorobots impulsados

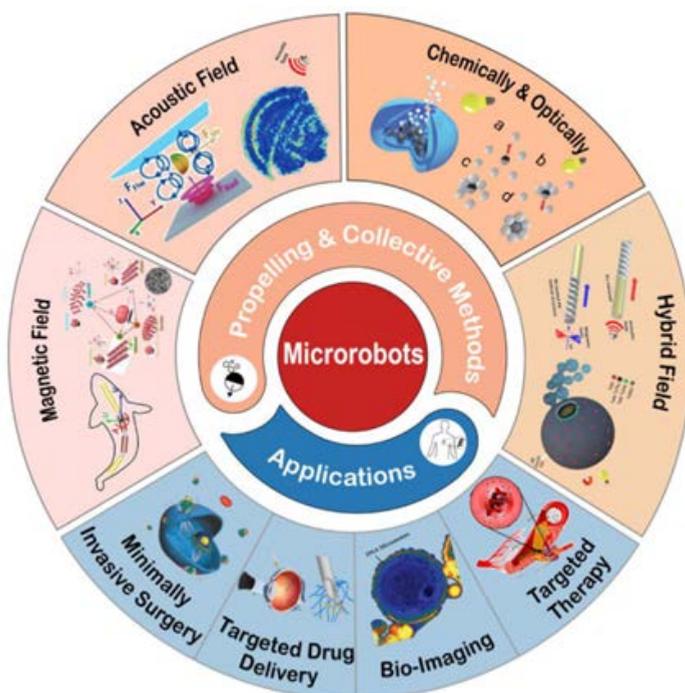


Figura 5. Ejemplos de morfologías y de fuentes de energía que mueven y/o direccionan los nanorobots, y algunas aplicaciones. Reproducido de Wu y col. (56) (Creative Commons Attribution, CC BY).

químicamente se mueven más rápido (son los más biomiméticos) que los impulsados por otros métodos, pero carecen de capacidad de direccionamiento (rotan o vibran sin seguir una dirección definida). Resulta difícil encontrar un combustible que no sea tóxico o no genere productos tóxicos, si bien los avances recientes en inmovilización de enzimas abren nuevas posibilidades de auto-propulsión (57).

Los micro/nanorobots impulsados magnéticamente son los que están más desarrollados porque evitan la mayoría de los inconvenientes asociados con otros modos de propulsión: 1) los campos magnéticos proporcionan una forma no invasiva de manipular micro/nanorobots sin consumir combustible; 2) los campos magnéticos de baja intensidad y baja frecuencia pueden hacer que los micro/nanorobots magnéticos penetren en los tejidos biológicos y son inofensivos para los organismos vivos; y 3) los materiales magnéticos son reconfigurables bajo campos magnéticos oscilantes. Estas características son esenciales para las aplicaciones biomédicas de los micro/nanorobots: nanoterapia, vectorización y pequeños procedimientos quirúrgicos (biopsias, microcirugía, remoción de biofilm) (58). Es importante destacar que es posible preparar nanorobots porque las técnicas de fabricación de nanomateriales también están avanzando mucho, permitiendo crear dominios de composición o propiedades a escala



nanométrica que hace pocos años se lograban a escala micrométrica. Entre las técnicas de fabricación destacan, sobre todo, los procesos de nanoensamblaje que imitan el modo en que en la naturaleza se autoensamblan sustancias distintas para conseguir materiales híbridos, y las técnicas de impresión 3D que ya cuenta con resolución en la escala nano. A continuación, se comentan algunos ejemplos de nanorobots direccionados por campos magnéticos. La administración intravítrea de agentes terapéuticos se utiliza para tratar patologías que afectan al segmento posterior del ojo. Las formulaciones inyectables convencionales dan lugar a una difusión aleatoria de los fármacos en el humor vítreo, lo que dificulta el acceso rápido de una cantidad suficiente de fármaco a una región definida en el polo posterior del ojo. El uso de nanorobots abre la posibilidad de una administración propulsada y direccionada, pero se enfrenta al desafío de que la mayoría de los tejidos, incluido el humor vítreo, tienen una matriz macromolecular compacta que actúa como barrera y dificulta el avance. Para superar estos inconvenientes, se prepararon nanorobots magnéticos helicoidales deslizantes (con bajo coeficiente de rozamiento) que pueden ser propulsados activamente a través del humor vítreo para llegar a la retina aplicando un campo magnético. La tomografía de coherencia óptica permite monitorizar en tiempo real el movimiento de los propulsores y confirmar su llegada a la zona de interés. Todo ello abre nuevas posibilidades en el campo de la oftalmología (59).

Una aplicación en la que se requiere el comportamiento opuesto, es decir, que los nanorobots experimenten un elevado rozamiento al desplazarse en el medio, generando fuerzas de cizalla, es la remoción de biofilm. Los nanorobots de superficie rugosa que se mueven en círculos o rotando sobre sí mismo (mediante un motor de combustible) y que se pueden dirigir aplicando un campo magnético, permiten limpiar biofilms formados en productos sanitarios de inserción o implantación (60). En este mismo mecanismo se basan los nanorobots que se están ensayando para romper trombos, con ayuda de sustancias trombolíticas, y restaurar flujo sanguíneo (61).

Una vez demostrado que es posible que los nanorobots se desplacen por el espacio extracelular o por la matriz de un biofilm, el reto siguiente es establecer si los nanorobots son capaces de penetrar por sí mismos a través de la membrana celular para depositar su contenido o llevar a cabo una función en el interior de una célula, independientemente de la captura por endocitosis. Para perforar la membrana celular deben impactar contra ella con una fuerza motriz suficientemente alta. En la bibliografía se recogen valores muy variados de fuerza motriz de nanorobots, que varían desde menos de 1 pN hasta 75 pN; los valores más comunes de fuerza motriz son insuficientes para perforar la membrana (62).



La diferencia entre que el nanorobot sea capaz de perforar la membrana celular o tenga que esperar a la endocitosis celular se refleja principalmente en los tiempos y las eficacias de internalización. La endocitosis, que es la vía de captación celular más frecuente para partículas de tamaño inferior a 100 nm, requiere un tiempo prolongado (generalmente horas y depende del tipo de célula, la temperatura y otras condiciones del medio), y a menudo resulta en una baja liberación en el citosol del contenido del nanotransportador (generalmente inferior al 10%) (63). La membrana celular supone una barrera importante frente a la penetración de los nanorobots, si bien se ha visto que aquellos capaces de generar una hipertermia moderada cuando se irradian con luz NIR pueden fluidificar la bicapa lipídica y alcanzar la propulsión adecuada para facilitar la internalización (64).

La penetración en las células por perforación de la membrana celular abre un nuevo campo de estudio sobre las consecuencias que tiene el impacto del nanorobot sobre la integridad de las células, en especial cuando ésta debe ser preservada. El tipo de choque (elástico, inelástico), la velocidad de impacto y el tamaño del nanorobot determinan las consecuencias de que la membrana se perfore mecánicamente. Mientras que un choque a velocidad moderada puede abrir reversiblemente el paso a través de la membrana, los choques violentos a velocidades elevadas pueden causar roturas en la membrana que la célula no es capaz de reparar. Esos daños permanentes pueden dar lugar a lisis y muerte celular (62). El conocimiento ya alcanzado sobre estos fenómenos pone en valor, de nuevo, la importancia de las colaboraciones multidisciplinares en el ámbito de la biomedicina.

4. CONCLUSIONES

Los avances científico-tecnológicos en el ámbito de los nanomateriales que se han producido en los últimos años han permitido avanzar desde el concepto de “una sola inyección, múltiples tratamientos” que se plasma en la combinación de terapias físicas y farmacológicas, al de “una sola inyección, diagnóstico y tratamiento múltiple personalizado, más seguro y eficaz”. Los progresos en teranosis, recubrimientos bioinspirados y capacidad de propulsión y direccionamiento están abriendo nuevos campos de conocimiento, tanto básico como aplicado, en el ámbito de la medicina personalizada. Las estrategias sanitarias actuales impulsan la materialización de la medicina 5P: personalizada, predictiva, preventiva, participativa y poblacional, con el objetivo de adaptar de una manera más individualizada el diagnóstico y las medidas terapéuticas o preventivas (65). Los avances científicos hacen posible añadir más “P” a la medicina,



especialmente: precisa (a través de pruebas más precisas y concluyentes y de una mejor selección de los tratamientos), periférica (con una tendencia hacia la hospitalización domiciliaria y a la aplicación de la telemedicina), poliprofesional (integradora de los conocimientos de profesionales formados en distintos ámbitos) y placentera (mejor calidad de vida, no sólo mayor esperanza de vida) (66).

5. REFERENCIAS

1. Goetz LH, Schork NJ. Personalized medicine: motivation, challenges, and progress. *Fertil. Steril.* 2018; 109(6):952-963.
2. Parodi A, Rudzinska M, Leporatti S, Anissimov Y and Zamyatnin AA Jr. Smart nanotheranostics responsive to pathological stimuli. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020; 8:503.
3. Li X, Gao Y, Li H, Majoral JP, Shi X, Pich A. Smart and bioinspired systems for overcoming biological barriers and enhancing disease theranostics. *Prog. Mater. Sci.* 2023; 140:101170.
4. Li M, Hu X, Zhao Y, Jiao N. An overview of recent progress in micro/nanorobots for biomedical applications. *Adv. Mater. Technol.* 2023; 8:2201928.
5. Haga SB, Mills R, Moaddeb J. Pharmacogenetic information for patients on drug labels. *Pharmgenomics. Pers. Med.* 2014;7: 297-305.
6. Sun J, Han JDJ, Chen W. Exploring the relationship among Alzheimer's disease, aging and cognitive scores through neuroimaging-based approach. *Sci. Rep.* 2024; 14:27472.
7. Krause W. Delivery of diagnostic agents in computed tomography. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1999; 37:159 -173.
8. van der Molen AJ, Dekkers IA, Geenen RWF, Bellin MF, Bertolotto M, Brismar TB, Correias JM, Heinz-Peer G, Mahnken AH, Quattrocchi CC, Radbruch A, Reimer P, Roditi G, Romanini L, Sebastià C, Stacul F, Clement O. Waiting times between examinations with intravascularly administered contrast media: a review of contrast media pharmacokinetics and updated ESUR Contrast Media Safety Committee guidelines. *Eur. Radiol.* 2024;34:2512-2523.
9. Courchesne M, Manrique G, Bernier L, Moussa L, Cresson J, Gutzeit A, Froehlich JM, Koh DM, Chartrand-Lefebvre C, Matoori S. Gender differences in pharmacokinetics: A perspective on contrast agents. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* 2024;7 (1):8-17.
10. Xue Y, Gao Y, Meng F, Luo L. Recent progress of nanotechnology-based theranostic systems in cancer treatments. *Cancer Biol. Med.* 2021;18(2):336-51.
11. Jiang Z, Zhang M, Li P, Wang Y, Fu Q. Nanomaterial-based CT contrast agents and their applications in image-guided therapy. *Theranostics* 2023;13(2):483-509.
12. Mura S, Couvreur P. Nanotheranostics for personalized medicine. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012;64 (13):1394-1416.



13. Wong XY, Sena-Torrallba A, Álvarez-Diduk R, Muthoosamy K, Merkoçi A. Nanomaterials for nanotheranostics: Tuning their properties according to disease needs. *ACS Nano* 2020;14 (3):2585-2627.
14. Álvarez-Lorenzo C, Bromberg L, Concheiro A. Light-sensitive intelligent drug delivery systems. *Photochem. Photobiol.* 2009;85(4):848-60.
15. Bashkatov AN, Genina EA, Kochubey VI, Tuchin VV. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2005;38 (15):2543.
16. Liu B, Li C, Cheng Z, Hou Z, Huang S, Lin J. Functional nanomaterials for near-infrared-triggered cancer therapy. *Biomater Sci.* 2016; 4:890-909.
17. Alvarez-Lorenzo C, Vivero-Lopez M, Concheiro A. Contact lenses that transform gold into nanoparticles for prophylaxis of light-related events and photothermal therapy. *Int. J. Pharm.* 2023;641:123048.
18. Xu Y, Wang X, Cheng L, Liu Z, Zhang Q. High-yield synthesis of gold bipyramids for *in vivo* CT imaging and photothermal cancer therapy with enhanced thermal stability. *Chem. Eng. J.* 2019;378:122025.
19. Algorri JF, Ochoa M, Roldán-Varona P, Rodríguez-Cobo L, López-Higuera JM. Photodynamic therapy: A compendium of latest reviews. *Cancers.* 2021; 13(17):4447.
20. Zhang L, Yang XQ, Wei JS, Li X, Wang H, Zhao YD. Intelligent gold nanostars for *in vivo* CT imaging and catalase-enhanced synergistic photodynamic & photothermal tumor therapy. *Theranostics.* 2019; 9: 5424-42.
21. Chen MM, Hao HL, Zhao W, Zhao X, Chen HY, Xu JJ. A plasmon-enhanced theranostic nanoplatform for synergistic chemo-phototherapy of hypoxic tumors in the NIR-II window. *Chem Sci.* 2021;12:10848-54.
22. Yang Y, Jing L, Li X, Lin L, Yue X, Dai Z. Hyaluronic acid conjugated magnetic Prussian blue@quantum dot nanoparticles for cancer theranostics. *Theranostics* 2017;7(2):466-481.
23. Lipengolts AA, Finogenova YA, Skribitsky VA, Shpakova KE, Anaki A, Motiei M, Semkina AS, Abakumov MA, Smirnova AV, Grigorieva EY, Popovtzer R. CT and MRI imaging of theranostic bimodal Fe₃O₄@Au nanoparticles in tumor bearing mice. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(1):70.
24. Akhdar H, Alanazi R, Alanazi N, Alodhayb A. Secondary electrons in gold nanoparticle clusters and their role in therapeutic ratio: The outcome of a Monte Carlo simulation study. *Molecules.* 2022; 27(16):5290.
25. Konefał A, Lniak W, Rostocka J, Orlef A, Sokół M, Kasperczyk J, Jarzabek P, Wrońska A, Rusiecka K. Influence of a shape of gold nanoparticles on the dose enhancement in the wide range of gold mass concentration for high-energy X-ray beams from a medical linac. *Rep. Pract. Oncol. Radiother.* 2020;25:579-585.
26. Dou Y, Guo Y, Li X, Li X, Wang S, Wang L, et al. Size-tuning ionization to optimize gold nanoparticles for simultaneous enhanced CT imaging and radiotherapy. *ACS Nano.* 2016; 10: 2536-48.



27. Zhang C, Tu W, Chen X, Xu B, Li X, Hu C, et al. Intelligent design of polymer nanogels for full-process sensitized radiotherapy and dual-mode computed tomography/magnetic resonance imaging of tumors. *Theranostics*. 2022; 12: 3420-37.
28. Nam J, Son S, Park KS, Zou W, Shea LD, Moon JJ. Cancer nanomedicine for combination cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Mater.* 2019; 4:398-414.
29. Jiao P, Otto M, Geng Q, Li C, Li F, Butch ER, Snyder SE, Zhou H, Yan B. Enhancing both CT imaging and natural killer cell-mediated cancer cell killing by a GD2-targeting nanoconstruct. *J. Mater. Chem B*. 2016; 4: 513-20.
30. Meir R, Shamalov K, Sadan T, Motiei M, Yaari G, Cohen CJ, Popovtzer R. Fast image-guided stratification using anti-programmed death ligand 1 gold nanoparticles for cancer immunotherapy. *ACS Nano*. 2017;11(11):11127-11134.
31. Agrawal S, Singh GK, Tiwari S. Focused starvation of tumor cells using glucose oxidase: A comprehensive review. *Int. J. Biol. Macromol.* 2024;281(Pt 3):136444.
32. Gao X, Feng J, Song S, Liu K, Du K, Zhou Y, Lv K, Zhang H. Tumor-targeted biocatalyst with self-accelerated cascade reactions for enhanced synergistic starvation and photodynamic therapy. *Nano To*. 2022; 43:101433.
33. Zhang Y, Feng S, Hu G, Fang T, Xie D, Lu Q, Xu Y, Shen L, Ning X. An adenovirus-mimicking photoactive nanomachine preferentially invades and destroys cancer cells through hijacking cellular glucose metabolism. *Adv. Funct. Mater.* 2022; 32:2110092.
34. Chen M, Xu T, Song L, Sun T, Xu Z, Zhao Y, Du P, Xiong L, Yang Z, Jing J, Shi H. Nanotechnology based gas delivery system: a “green” strategy for cancer diagnosis and treatment. *Theranostics* 2024; 14(14):5461-5491.
35. Zhang F, Liu S, Zhang N, Kuang Y, Li W, Gai S, et al. X-ray-triggered NO-released Bi-SNO nanoparticles: all-in-one nano-radiosensitizer with photothermal/gas therapy for enhanced radiotherapy. *Nanoscale*. 2020; 12:19293-307.
36. McHale AP, Callan JF, Nomikou N, Fowley C, Callan B. Sonodynamic therapy: Concept, mechanism and application to cancer treatment. In: Escoffre JM, Bouakaz A. (eds) *Therapeutic ultrasound. Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2016, vol 880. Springer, Cham.
37. Liang S, Deng X, Ma P, Cheng Z, Lin J. Recent advances in nanomaterial-assisted combinational sonodynamic cancer therapy. *Adv. Mater.* 2020; 32:2003214.
38. Cheng K, Zhang RY, Yang XQ, Zhang XS, Zhang F, An J, Wang ZY, Dong Y, Liu B, Zhao YD, Liu TC. One-for-all nanoplatform for synergistic mild cascade-potentiated ultrasound therapy induced with targeting imaging-guided photothermal therapy. *ACS Appl. Mater. Interf.* 2020; 12(36):40052-40066.
39. Xu M, Zhou L, Zheng L, Zhou Q, Liu K, Mao Y, Song S. Sonodynamic therapy-derived multimodal synergistic cancer therapy. *Cancer Lett.* 2021; 497:229-242.
40. Tang F, Ding A, Xu Y, Ye Y, Li L, Xie R, Huang W. Gene and photothermal combination therapy: Principle, materials, and amplified anticancer intervention. *Small* 2024; 20:2307078.



41. Zhao N, Yan L, Xue J, Zhang K, Xu FJ. Degradable one-dimensional dextran-iron oxide nanohybrids for MRI-guided synergistic gene/photothermal/magnetolytic therapy. *Nano To.* 2021;38:101118.
42. Chen Z, Kankala RK, Long L, Xie S, Chen A, Zou L. Current understanding of passive and active targeting nanomedicines to enhance tumor accumulation. *Coord. Chem. Rev.* 2023;481:215051.
43. Fang RH, Kroll AV, Gao W, Zhang L. Cell membrane coating nanotechnology. *Adv. Mater.* 2018;30:1706759.
44. Hu CMJ, Zhang L, Aryal S, Cheung C, Fang RH, Zhang L. Erythrocyte membrane-camouflaged polymeric nanoparticles as a biomimetic delivery platform. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011;108.10980-5.
45. Liu Y, Luo J, Chen X. et al. Cell membrane coating technology: A promising strategy for biomedical applications. *Nano-Micro Lett.* 2019;11:100.
46. Wu HH, Zhou Y, Tabata Y, Gao JQ. Mesenchymal stem cell-based drug delivery strategy: from cells to biomimetic. *J. Control Release* 2019;294:102-113.
47. Fang RH, Gao W, Zhang L. Targeting drugs to tumours using cell membrane-coated nanoparticles. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2023;20:33-48.
48. Pan H, Yang S, Gao L, Zhou J, Cheng W, Chen G, et al. At the crossroad of nanotechnology and cancer cell membrane coating: Expanding horizons with engineered nanoplatforms for advanced cancer therapy harnessing homologous tumor targeting. *Coord. Chem. Revs.* 2024;506:215712.
49. Pereira-Silva M, Diaz-Gomez L, Blanco-Fernandez B, Ferreirós A, Veiga F, Concheiro A, Paiva-Santos AC, Alvarez-Lorenzo C. Cancer cell membrane-modified Soluplus® micelles for gemcitabine delivery to pancreatic cancer using a prodrug approach. *Int. J. Pharm.* 2024; 662:124529.
50. Pereira-Silva M, Santos AC, Conde J, Hoskins C, Concheiro A, Alvarez-Lorenzo C, Veiga F. Biomimetic cancer cell membrane-coated nanosystems as next-generation cancer therapies. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2020; 17(11):1515-1518.
51. Zhang H, Li Z, He Q. Medical swimming cellbots. *Adv. NanoBiomed Res.* 2022; 2:2200094.
52. du Plessis SS, Agarwal A, Mohanty G, van der Linde M. Oxidative phosphorylation versus glycolysis: what fuel do spermatozoa use? *Asian J. Androl.* 2015; 17(2):230-5.
53. Zhang H, Tang J, Cao H, Wang C, Shen C, Liu J. Review of the applications of micro/nanorobots in biomedicine. *ACS Appl. Nano Mater.* 2024; 7(15):17151-17192.
54. Yan M, Chen Q, Liu T. et al. Site-selective superassembly of biomimetic nanorobots enabling deep penetration into tumor with stiff stroma. *Nat. Commun.* 2023; 14:4628.
55. Gupta A, Soni S, Chauhan N, Khanuja M, Jain U. Nanobots-based advancement in targeted drug delivery and imaging: An update. *J. Control. Release* 2022; 349:97-108.



56. Wu R, Zhu Y, Cai X, Wu S, Xu L, Yu T. Recent process in microrobots: from propulsion to swarming for biomedical applications. *Micromachines* 2022; 13(9):1473.
57. Mayol B, Pradana-López S, García A, de la Torre C, Díez P, Villalonga A, et al. Self-propelled enzyme-controlled IR-mesoporous silica Janus nanomotor for smart delivery. *J. Colloid Interf. Sci.* 2024; 671:294-302.
58. Liu D, Guo R, Wang B, Hu J, Lu Y. Magnetic micro/nanorobots: A new age in biomedicines. *Adv. Intell. Syst.*, 2022; 4: 2200208.
59. Wu Z, Troll J, Jeong HH, Wei Q, Stang M, Ziemssen F, et al. A swarm of slippery micropropellers penetrates the vitreous body of the eye. *Sci. Adv.* 2018; 4(11):eaat4388.
60. Dong Y, Wang L, Yuan K, Ji F, Gao J, Zhang Z, Du X, Tian Y, Wang Q, Zhang L. Magnetic microswarm composed of porous nanocatalysts for targeted elimination of biofilm occlusion. *ACS Nano.* 2021; 15(3):5056-5067.
61. Wang B, Wang Q, Chan KF, Ning Z, Wang Q, Ji F, et al. tPA-anchored nanorobots for *in vivo* arterial recanalization at submillimeter-scale segments. *Sci. Adv.* 2024; 10:eadk8970.
62. Wang W, Wu Z, He Q. Swimming nanorobots for opening a cell membrane mechanically. *VIEW.* 2020; 1:20200005.
63. Du S, Liew SS, Li L, Yao SQ. Bypassing endocytosis: Direct cytosolic delivery of proteins. 2018; 140 (47):15986-15996.
64. Xuan M, Shao J, Gao C, Wang W, Dai L, He Q. Self-propelled nanomotors for thermomechanically percolating cell membranes. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2018; 57:12463.
65. Ministerio de Sanidad. El Gobierno distribuye a las comunidades autónomas 40 millones de euros para consolidar la medicina personalizada de precisión. 08/11/2022. Disponible en: <https://www.sanidad.gob.es/gabinete/notasPrensa.do?id=5926>
66. Galdo B, Pazos C, Pardo J, Solar A, Llamas D, Fernández-Blanco E, Pazos A. Artificial intelligence in paediatrics: Current events and challenges. *Anales de Pediatría (English Edition)* 2024; 100(3):195-201.



Potential of 3D Tumor Models for Nanotherapies Pre-clinical Screening

Potencial de los modelos tumorales en 3D para el cribado preclínico de nanoterapias

Mariana T. Carvalho¹, Maria V. Monteiro^{1,2}, Luís P. Ferreira²,
Vitor M. Gaspar^{1,2*}, João F. Mano^{1,2*}



¹Department of Chemistry, CICECO - Aveiro Institute of Materials, University of Aveiro, Campus Universitário de Santiago, 3810-193, Aveiro, Portugal.

²Cellularis Biomodels, Pci Creative Science Park Aveiro Region, Via do Conhecimento, Edifício Central 3830-352, Ílhavo, Portugal

*Corresponding authors: vm.gaspar@ua.pt, jmano@ua.pt

KEYWORDS

Nanomedicine
Bioengineering
In vitro models
Organ-on-a-chip
Pre-clinical screening

ABSTRACT

Nanotherapies offer a promising approach for cancer treatment owing to their potential for surpassing conventional drug-resistance mechanisms and physical barriers of the tumor microenvironment. In this context, 3D *in vitro* models are rapidly emerging as a valuable tool for assisting and upgrading the current practices for the design and validation of such therapeutics at a preclinical level. Particularly, screening candidate nanotherapies in such innovative platforms allows to closely evaluate their performance in a 3D setting that more realistically recapitulates the cellular heterogeneity and various biophysical barriers, as encountered in human solid tumors. Considering this potential, hereafter, a revision of baseline concepts regarding the use of different classes of 3D tumor models for evaluating nanotherapies performance is provided, alongside with a critical outlook on potential challenges and future opportunities.

PALABRAS CLAVE

Nanomedicina
Bioingeniería
Modelos *in vitro*
Órgano en un chip
Cribado preclínico

RESUMEN

Las nanoterapias ofrecen un enfoque prometedor para el tratamiento del cáncer debido a su potencial para superar los mecanismos convencionales de resistencia a los fármacos y las barreras físicas del microambiente tumoral. En este contexto, los modelos 3D *in vitro* se están convirtiendo rápidamente en una valiosa herramienta para ayudar y mejorar las prácticas actuales de diseño y validación de este tipo de terapias a nivel preclínico. En particular, el cribado de las nanoterapias candidatas en estas plataformas innovadoras permite evaluar de cerca su rendimiento en un entorno 3D que recapitula de forma más realista la heterogeneidad celular y las diversas barreras biofísicas que se encuentran en los tumores sólidos humanos. Teniendo en cuenta este potencial, a continuación, se ofrece una revisión de los conceptos básicos sobre el uso de diferentes clases de modelos tumorales en 3D para evaluar el rendimiento de las nanoterapias, junto con una perspectiva crítica sobre los posibles retos y oportunidades futuras.



1. INTRODUCTION

The recent progresses in nanomedicine and three-dimensional (3D) *in vitro* modelling fields have opened new avenues for the use of preclinical 3D platforms to evaluate the therapeutic efficiency of nanoscale treatments, paving the way for the discovery of potential new therapies for human malignancies.

Advances in targeted systems for the selective delivery of therapeutic agents have revolutionized cancer research and medicine, owing to their ability to surpass the limitations of conventional cancer treatment approaches which often results in low accumulation in tumor tissue and consequent inefficiency, as well as in significant side effects owing to its non-specific role, affecting both healthy and malignant tissues. Nanotherapies represents one of the most promising advances in oncology, offering the possibility to therapeutics delivery in a targeted manner, promoting the enhanced efficacy of the treatment and reducing side effects. Cancer nanotherapies often rely on the use of nanoparticles designed to be between 1-100 nm, promoting effective interactions with malignant cells at the molecular level. A number of efforts have been conducted to promote the therapeutic role of nanotherapies by engineering nanocarriers comprising chemotherapeutic drugs, nucleic acids and immunotherapeutic agents. Such an approach allows to take advantage of the enhanced permeability and retention effect of nanoparticles, ensuring their accumulation in tumor site, thus minimizing exposure to healthy tissues. Despite their potential, such strategies still face several challenges that will be discussed later in this chapter.

As nanotherapies evolve, the increasing demand for more reliable and predictive preclinical tumor models that accurately emulate human tumors microenvironment (TME) has become apparent. Conventional oversimplified two-dimensional (2D) cell cultures fail to recreate the complexity of native tumors, leading to poor translational outcomes. From this standpoint, 3D *in vitro* models emerged as alternative preclinical platforms able to more accurately emulate human TME, allowing closely resembling key tumor hallmarks, cell-cell/cell-matrix interactions and 3D spatial cellular organization, thus providing a promising platform for testing nanotherapeutics approaches under a more physiological-relevant and realist scenario.

Overall, the combination of nanotherapy and 3D *in vitro* models is opening up new opportunities in cancer research and drug development. This chapter explores the most recent advances in exploring 3D models for screening nanotherapeutics that are designed for cancer therapy.



2. ADVANCES IN NANOTHERAPIES

Cancer treatment has made significant progress over the past few decades. However, despite the groundbreaking progress in this field, cancer remains a very challenging disease to treat worldwide. The low success of clinical cancer treatment approach is commonly pointed to chemotherapeutics low retention in the tumor site and the induced multidrug resistance (MDR). These limitations have led to the exploration of more effective approaches particularly in the field of nanotechnology in order to improve drug delivery efficiency and reduce adverse effects.

Nanotherapies leverage nanoscale materials to enhance drug delivery, improve therapeutics efficiency and reduce side effects, making them a promising avenue for alternative cancer treatment strategies. Nanocarrier-based drug delivery systems (NDDSs), such as polymeric micelles, liposomes, and nanoparticles, have been under the spotlight on cancer therapeutics field owing to their multiple advantages over the conventional therapeutic approaches. Among the recognized benefits, NDDs allow to (i) improve anti-cancer drug stability and biocompatibility, enhancing pharmacokinetics; (ii) target therapies directly and selectively to tumor tissue, reducing systemic toxicity; (iii) release anti-cancer drugs in response to specific stimuli, promoting a controlled realized and improving therapeutic efficacy; (iv) overcome multidrug resistance, ultimately surpassing current chemotherapeutic approaches limitations. To date, a number of nanocarriers have been explored for chemotherapeutics delivery including liposomes, nanoparticles, micelles and dendrimers.

2.1. Nanodelivery of Chemotherapeutics

In recent years, nanotherapies have significantly advanced the delivery of chemotherapeutics. In contrast to conventional treatments, owing to their nano-scale size, nanoparticles have shown promising potential to increase anti-cancer drug efficiency due to their ability to protect anti-cancer agents from enzymatic degradation while ensuring proper accumulation in tumor tissue. In fact, besides the ability to encapsulate and transport drugs, even thus with low solubility, increasing their stability in bloodstream circulation and improving their pharmacokinetics, nanocarrier systems have attracted researchers' attention owing their ability to specifically target tumor components such as cancer cells or tumor blood vessels. Such an approach is commonly achieved by exploiting the EPR effect to accumulate in cancer tissue, and by functionalizing nanocarriers surface with targeting ligands on to promote their specificity for tumor key players, improving their



accumulation in the tumor site and consequently the efficiency. From this perspective, aiming to achieve a tumor-targeted therapy, liposomes have been functionalized with arginine/glycine/aspartic acid (RGD) moieties to specifically bind to integrin receptors (e.g., $\alpha_v\beta_3$) that are specifically overexpressed in tumor neovascularization. Such strategy showed that active targeting functionalized liposomes significantly increased drug accumulation in tumor site. Other overexpressed neovascular targeting ligands such endothelial-growth factor receptor 1 (VEGFR-1) and receptor 3 (VEGFR-3) have been explored for targeted agents' delivery. In fact, anti-cancer drug-laden F-56 peptide conjugated nanoparticles (F56 peptide: a specific CEGFR-1 ligand), induced nanoparticles internalization by endothelial cells and resulted in prolonged survival rate on mice with colorectal cancer.

From another perspective, abnormal cancer cells have demonstrated the increased expression of specific receptors (e.g., EGFR, HER2, CD44) or antigens (e.g., Tn, STn) compared to healthy counterparts. Therefore, aiming to increase the therapeutic effect of anti-cancer drugs, hyaluronan-based micelles were designed to target the overexpressed CD44 receptor on the cancer cell membrane. Such strategy showed that MDA-MB-231 human breast cancer cells successfully internalized the engineered paclitaxel-laden micelles through HA-CD44 interaction and suggested the micelles potential for anti-cancer drugs intracellular delivery.

A key advantage of nanocarrier systems is their ability to exhibit a controlled drug release at tumor site by external stimuli. For that purpose, nanoparticles can be formulated with specific responsiveness to specific cues (e.g., pH, enzymes, oxygen levels, temperature) allowing for a sustained release of anti-cancer drugs. One of the major obstacles of chemotherapy is tumor heterogeneity characterized by the presence of cancer stem cells (CSCs), that ultimately drives tumorigenesis and chemotherapy failure. Aiming to tackle this, nanotherapeutic strategies have been explored targeting CSCs using nanoparticles. From this standpoint, HA-oxalate nanoparticles were chemically conjugated with a chemotherapeutic drug (Camptothecin) and loaded with a CSC differentiation-inducing agent, all-*trans* retinoic acid, to obtain a sequential release. Taking advantage of the hypoxic regions of TME, where CSCs reside, ATRA is released, by a hypoxia-triggered structural alteration, inducing CSC differentiation. Then, the rising ROS level promotes the chemotherapeutic drug release causing CSC decreased stemness and cell death.

Overall, several formulations including nanocarriers have already advanced to clinical applications (e.g., Pazenir, Vyxeos, Onivyde, Abraxane), and a number of others are under clinical trials (e.g., NCT02283320,



NCT04482803, NCT05985551), showing promising results in chemotherapeutics efficacy. However, despite the promising potential, the clinical translation of nanotherapy for chemotherapy delivery faces several challenges. These include the complexity of scaling up nanoparticle production, ensuring consistent quality and stability, and addressing regulatory hurdles.

2.2. Nanodelivery of Immunotherapeutics and Immune System Modulation

Cancer immunotherapy offers promising possibilities for more effective treatment approaches by potentiating anti-cancer immunity. Despite immunotherapies, such as immune checkpoint inhibitors, CAR T-cell therapy, and cancer vaccines, have shown remarkable efficacy in treating various cancers, several challenges including relatively low tumor bioavailability and penetration, off-target toxicity, and tumor resistance remain to be overcome. For example, exploring nanoparticles for immunomodulatory drug delivery aiming to modify immune responses at the cellular level, holds increased potential to enhance the efficacy of immunotherapy, offering new possibilities for cancer treatment.

In the context of immunotherapy, nanocarriers can be used to (i) target cancer cells, inducing immunogenic cell death (ICD) and the release of tumor antigens, (ii) target the tumor immune microenvironment inhibiting immunosuppressive cells, reducing the expression of immunosuppressive molecules, and promoting the recruitment of anti-tumoral immune cells, (iii) target the peripheral immune system enhancing antigen presentation and cytotoxic T cell production in secondary lymphoid organs.

In fact, one of the major challenges in cancer immunotherapy is the tumor's ability to suppress immune responses by expressing immune checkpoint molecules like PD-L1 or secreting immunosuppressive cytokines. To face such issues, nanocarriers can be engineered to specifically target cancer cells, improving the delivery of immunotherapeutic agents such as checkpoint inhibitors, cytokines, or immune-modulating antibodies directly to the tumor site. ICD-inducing nanomedicines have been combined with immunotherapeutic approaches, by combining doxorubicin-loaded liposomes with anti-PD1, PD-L1, and CTLA4 antibodies. The results showed that doxorubicin-loaded liposomes improved the efficiency of immunotherapy by promoting the proliferation of anti-tumoral dendritic cells and cytotoxic CD8⁺ T cells in mouse models.



Alternatively, nanoparticles can also be explored as a powerful tool to enhance immunogenicity in cancer immunotherapy. By incorporating antigens and immunostimulatory agents, nanoparticles can activate dendritic cells and other antigen-presenting cells (APCs), enhancing immune response against the tumor. Nanocarriers augmented ability to target specific cell types such as dendritic cells awaken interest in engineering them to load and deliver antigens to these immune cells, boosting their ability to stimulate the immune system. From this standpoint, researchers have explored the potential of dendritic cell-targeted nanoparticles to improve the delivery of tumor antigens, enhancing anti-cancer immunity. Such strategy ensures that tumor antigens are efficiently presented to T cells, leading to a more effective anti-cancer immune response.

Aiming to enhance the chemotherapeutics delivery to cancer cells, researchers have taken advantage of immune cells recruitment to TME, to use them as nanoparticles delivery vehicles. In particular, tumor-infiltrating macrophages are immune cells that naturally migrate to the TME during carcinogenesis through paracrine signaling. From this standpoint, macrophages can be engineered or activated to carry therapeutic agents and deliver them directly to the tumor site, minimizing systemic side effects. Specifically, in such an approach, tumor-infiltrating macrophages were used as carriers of chemotherapy and photothermal therapy, showing promising results for *in vitro* cancer treatment.

2.3. Nanodelivery for Gene Therapy

Owing to their numerous advantages over traditional approaches, nanotherapies have emerged as an important tool for gene therapy by using nanocarriers to deliver genetic material more effectively and safely to target cells. One of the most significant advances in nanotherapies for gene therapy is the development of non-viral nanocarriers (e.g., polymer-based nanoparticles, lipid-based nanoparticles, carbon nanotubes, gold nanoparticles) offering reduced immunogenicity and stability. Advances in nanotechnology have enabled the effective and selective delivery of genetic material (i.e., DNA, RNA, gene-editing tools like CRISPR), by protecting them from degradation. Despite still poorly explored, in a malignant scenario, nanotherapies hold potential application to more effectively target cancer cells aiming to correct genetic mutations, or activate tumor-suppressor genes. Alternatively, nanocarriers can be engineered to deliver genetic material to different TME components such as cancer-associated fibroblasts or immune cells, influencing the supporting network that contributes to tumor growth and resistance.



3. UNCOVERING THE IMPACT OF TUMOR MICROENVIRONMENT COMPONENTS ON NANOTHERAPEUTICS SCREENING

Currently, nanotherapeutic clinical outcomes remain still poor, with only a few nanotherapies, (i.e. immunotherapies and adjuvant peptides-conjugates), showcasing significant improvements in patient outcome. The high-rate of failure observed in nanocarriers and other nanotherapies can be partially attributed to the complexity of parameters available to tune in nanotherapies development coupled to the lack of specificity to tumor sites and patient stratification in clinical assays. Moreover, the TME poses significant challenges to the effective delivery and uptake of both systemically administered nano-scale therapeutics and traditional chemotherapeutic agents.

The complex and heterogeneous TME of solid tumors, is characterized by dysregulated cellular communication, as well as limited blood and lymphatic vascularization restrict flow to and from the tumor, while the abnormally dense ECM obstructs interstitial transport. As a result, solid tumors often exhibit hypoxic and necrotic regions, an accumulation of metabolic waste that contributes to an acidic extracellular pH, and elevated interstitial fluid pressure (IFP). The complex sets of varying parameters and tumor landscapes difficult preclinical experimentation requiring the utilization of advanced models capable of representing specific microenvironmental phenomena.

Overall, a deep understanding of the transport processes and TME associated barriers associated to nanotherapeutics delivery are important features to take into consideration when modelling *in vitro* cancer models for nanotherapies screening, with their recapitulation leading to the establishment of promising platforms for future nanomedicines design and clinical translation.

3.1. Tumor Vasculature

In the context of tumor dysregulation, angiogenesis can be hijacked with abnormal vessel formation being promoted and coordinated by cancer cells and cancer-associated (CA) populations of cells (e.g., CA-mesenchymal stem cells, CA fibroblasts, CA-pericytes, and other altered immune-populations). Consequently, tumor vasculature becomes highly disorganized, with some solid tumor regions experiencing hyper-vascularization while others remain under-vascularized. Abnormally formed tumor-vasculature presents irregular hierarchical arrangements, with



elevated degrees of permeability and irregular diameter and incomplete basement membrane formations, that can contribute to abnormal nutrient and oxygen exchange, abnormal blood flow and elevated IFP.

In tumors, the vascular endothelium is often poorly organized, leading to an increased permeability for macromolecules larger than 40 kDa, ultimately contributing to enhanced permeability and retention (EPR) effect, postulated as a positive regulator of nanotherapeutic accumulation at tumor sites. However, the degree of leakiness varies greatly between different tumor types. The combined effect of such heterogeneous systems is an unpredictable perfusion of malignant tissues, which has crucial implications for pathophysiology and therapeutic efficacy of nanotherapies, limiting uniform nanotherapeutic accumulation and penetration. The dysregulated vascular and lymphatic networks of vessels that tend to accompany some solid tumors can have an impact on nanotherapeutic delivery.

3.2. ECM Dysfunction and Diffusion Gradients

The ECM is a complex arrangement of proteins, glycosaminoglycans, and signaling molecules that provides structural support and guidance to surrounding tissues. Although ECM composition varies significantly across tumor types, tumor ECM generally tends to be denser than that of normal tissues. Some tumors, such as lymphomas and neuroblastomas, are relatively stroma-poor, whereas others, like pancreatic cancers, exhibit a densely compact matrix. This dense supporting matrix results from excessive production and crosslinking of matrix components, driven by their desmoplastic nature. As is often observed in various cancers, compact ECM inhibits the penetration of large molecules. In fact, the tumor ECM often becomes abnormally dense and stiff due to the excessive deposition of collagen, hyaluronic acid, and fibronectin, along with reduced degradation by matrix-modifying enzymes. This dense ECM serves as a physical barrier, limiting the penetration and diffusion of nanotherapeutics.

In addition to acting as a physical barrier, the ECM can impede the delivery of nanomedicines and macromolecular drugs by creating a high concentration of target molecules, such as receptors on malignant cells, which leads to a phenomenon called the binding site barrier (BSB). The BSB's significance was first recognized when antibodies were found to accumulate predominantly in the perivascular region without penetrating deeper into tumors. Furthermore, nanocarriers can bind to ECM components, sequestering them and reducing their availability to reach tumor cells. Although saturation effects can overcome the barriers imposed



by the BSB, replicating these conditions in preclinical settings requires a thorough understanding of ECM composition and cell-ECM interactions.

The dense ECM found in the majority of solid tumors combined with abnormal vasculature leads to poorly perfused regions where metabolites and reactive oxygen species (ROS) accumulate, while oxygen levels are severely depleted. When tumors develop hypoxic regions, they adapt their metabolism to survive in this oxygen-depleted microenvironment. These metabolic adaptations affect essential cellular functions, including endocytic receptor internalization, energy metabolism, intracellular trafficking, signaling, and transmembrane receptor recycling. Such changes contribute to enhanced multidrug resistance mechanisms. Endocytosis and proper intracellular trafficking are critical for the effective delivery of therapeutic payloads in cancer nanomedicines. However, since the endocytic uptake of nanomedicines is energy-dependent, hypoxia-induced alterations can directly undermine nanomedicine efficacy. Finally, beyond serving as a physical barrier, the ECM influences cell signaling pathways, promoting tumor progression and resistance to therapy.

3.3. Impact of Cellular Heterogeneity on Nanotherapeutics Efficacy

From the process of extravasation and tissue penetration to tumor cell targeting and accumulation, nanotherapeutics inevitably interact with the surrounding non-cancerous cell populations within the TME. The influence of these distinct cellular populations on the efficacy and delivery of nanotherapeutics is directly associated with the specific therapeutic being employed. The activated stromal components of the TME, which are primarily responsible for modifying the tumor ECM, frequently act as barriers to therapeutic delivery. Conversely, other stromal cells, such as mesenchymal stromal cells, may facilitate tumor resistance and proliferation or, more significantly, regulate immune cell responses. Immune cells present within the TME can exert profound effects on the efficacy and mechanisms of action of nanomedicines.

Since its introduction in the late 1990s, cancer nanomedicine has primarily focused on the development of drug delivery systems designed to evade immune detection and deliver therapeutic agents directly to tumor cells. However, as previously discussed, it is now recognized that the design of nanomedicines to actively engage the immune system and induce anti-tumoral responses presents considerable potential for cancer treatment. The use of nanotherapeutics for immuno-oncological purposes necessitates nano-formulations capable of precisely modulating the adaptive and/or innate immune system. For instance, immune cells within the TME, such as



tumor-associated macrophages (TAMs), have a dual role in influencing nanotherapeutic efficacy. TAMs exhibit high plasticity and can adopt either a pro-inflammatory (M1) or an anti-inflammatory, pro-tumoral (M2) phenotype. In their M2 state, TAMs promote tumor growth, angiogenesis, and immunosuppression, thereby creating a challenging environment for effective therapy. Furthermore, TAMs can internalize nanoparticles through phagocytosis, resulting in their sequestration and premature clearance, which diminishes therapeutic efficacy. Nevertheless, nanoparticles can be engineered to leverage TAMs for drug delivery by selectively targeting TAMs to deliver therapeutic agents or reprogramming M2 TAMs into an M1 phenotype, thereby enhancing anti-tumor immunity. Other immune cells, such as dendritic cells, neutrophils, and T-cells, also interact with nanoparticles in ways that can either augment or impair therapeutic outcomes. Modulating these interactions in state-of-the-art *in vitro* 3D tumor models will be increasingly required to account for their impact on nanotherapeutics performance.

4. 3D *IN VITRO* TUMOR MODELS FOR NANOTHERAPIES SCREENING

In the last decade, 3D *in vitro* tumor models have emerged as highly valuable platforms for screening nanotherapies. Comparing to simplistic cell cultures, such models are able to recreate a more physiologically relevant tumor microenvironment (TME), closely emulating gene expression patterns, cell-cell interactions, nutrients and oxygen transport limitations, and the spatial organization found *in vivo*. In fact, preclinical 3D platforms can provide important insights regarding the evaluation of the efficacy of nanocarriers- delivery systems and the impact of TME on drug response, as well as study and predict the penetration and distribution of such agents with 3D malignant tissues (Figure 1).

In recent years, conventional cancer therapies have undergone a considerable evolution, as they have demonstrated to be insufficient as standalone treatment for achieving a favorable patients' outcome. Recently, several other therapies approaches (e.g., immunotherapy, nanotherapy, etc.) have been implemented as adjuvant therapies of the traditional ones. Nanotherapies, in special, have emerged as a promising adjuvant approach in cancer treatment, offering several advantages such as the enhancement in the efficacy of existing cancer treatments while potentially reducing side effects and overcoming drug resistance. However, major barriers to the therapeutic efficacy of nanomedicines remain, essentially based on their low selectivity and undesirable side effects. In recent years, there have been reports of rationally developed

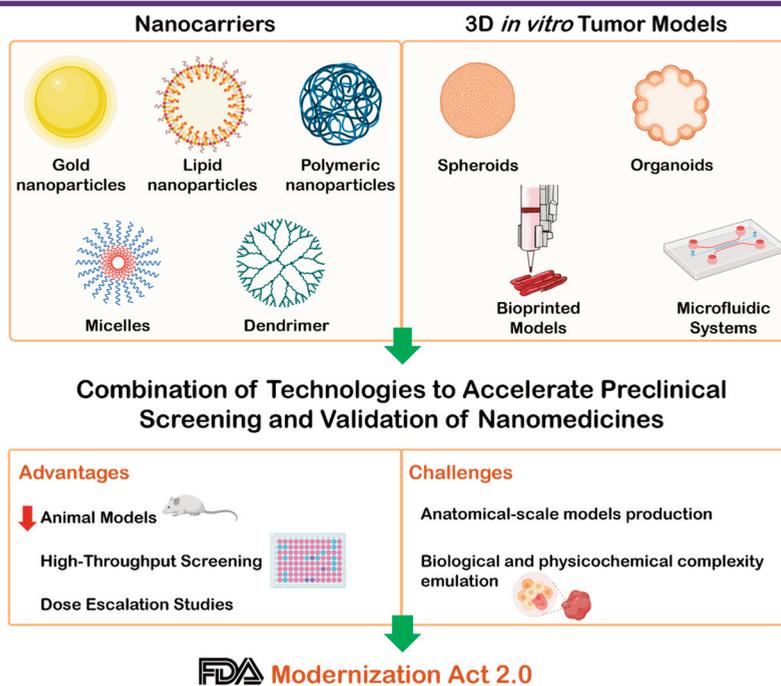


Figure 1. Potential of 3D *in vitro* tumor models for accelerating and upgrading nanotherapies screening for cancer treatment. 3D tumor models enable researchers to better recapitulate the complex native tumor-microenvironment more accurately than monolayer cultures. Such platforms offer the ability to evaluate for example the impact of natural physiological barriers to nanotherapeutics penetration and the delivery/internalization to cancer cells (or others of the stromal compartment), as well as their performance and therapeutic efficacy. These advancements in the preclinical validation of nanotherapeutics contribute to largely reducing animal models' usage, being in line with the most recent guidelines from regulatory organizations (i.e., FDA, etc.). Illustration prepared with BioRender software.

nanotherapeutics that are functionalized with multivalent tumor targeting moieties or created with certain physicochemical qualities to overcome these restrictions. Nevertheless, it has been difficult and expensive to assess the best trade-off between ligand selectivity, surface density, surface passivation by protein corona-mediated changes, and nanomedicine stability in biological environments.

In light of the significant shifts in cell culture techniques, the *in vitro* screening of nanotherapies has shifted from conventional 2D cultures to 3D models (such as spheroids) and even on-chip systems. The implementation and testing of such therapeutics in 3D cell cultures offers several significant advantages for cancer research and drug development. For example, these models provide a better and more physiologically relevant model to evaluate the nanoparticles penetration and distribution within the tumor volume, which is crucial for understanding the effectiveness of nanotherapies. In the following sub-sections, a comprehensive overview of the different 3D models used.



4.1. Spheroids and organoids

Tumor spheroids have been widely used as 3D models for nanotherapies screening, providing a more accurate representation of the tumor microenvironment compared to 2D cell cultures. These microscale, spherical cell clusters formed through self-assembly, are one of the most common and versatile methods of 3D cell culture. Spheroids are highly versatile and depending on their size they can recapitulate proliferation regions on the outside and quiescent or necrotic regions on the inside due to nutrient and oxygen transport limitations, similar to those observed in many cancers *in vivo*.

Over the past decade, numerous studies have explored nanoparticle-mediated drug delivery and drug uptake using tumor spheroid models, particularly in lung, colorectal, and ovarian cancers. For instance, is a recent study where the researcher explored the potential of repurposing amodiaquine (AQ), an antimalarial drug, for the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC). The researchers developed inhalable nanoparticles containing AQ using a scalable high-pressure homogenization (HPH) process. The authors employed 3D spheroids of A549 and H1299 cell lines to further examine the nanoparticle's penetration and growth-inhibiting properties, and the outcomes demonstrate great potential. The work emphasizes how drug repurposing in cancer nanomedicine has promise for creating novel therapeutics with possibly shorter development times and cheaper costs than conventional drug discovery methods. In more advanced work, researchers also applied a similar nanotherapies technology in the development of a targeted drug delivery system for ovarian cancer treatment by combining photothermal nanoparticle-based therapy with tumor spheroids. The bioengineering of the spheroids was based on the use of hydrogel microwell arrays that enable the production of structurally well-defined 3D tumor spheroids, in a high-throughput way. The findings showed the capacity of the developed system in the production of robust 3D spheroids, that can be easily transferable to 2D culture substrates while maintaining their 3D structure. To validate the ability of these models to recapitulate the *in vivo* scenario of the tumors, gold-graphene hybrid nanoparticles were loaded with doxorubicin and were integrated in the model for photothermal cancer therapy. The results demonstrated selectivity of the nanoparticles towards fast-dividing cells in 3D spheroids.

In the last few years organoids and tumoroids have emerged as models for cancer research, offering a more complex architecture and cell composition recapitulating more closely the native primary tumor tissue. Organoids can be derived from human stem cells, organ-specific progenitor



cells, or even disassociated tumor tissues. Tumoroids have a similar structure and function to primary tissues, and they retain the same genetic profile, histological traits, mutational landscape, and even treatment responses. However, it is still an emerging field there are already some examples in the literature. In a recent study, semiconducting polymer nanoparticles were explored for photothermal therapy for the ablation of colorectal cancer organoids. Here, the authors used two different theragnostic nanoparticles hybrid donor-acceptor polymer particles (HDAPPs) and poly[4,4-bis(2-ethylhexyl)-cyclopenta[2,1-b;3,4-b']dithiophene-2,6-diyl-alt-4,7-bis(2-thienyl)-2,1,3-benzothiadiazole] nanoparticles (PCPDTBSe or BSe). The nanoparticles were coated with hyaluronic acid to target CD44, a receptor overexpressed by CRC cell. The results revealed that only HA-BSe NPs were found to be capable of significantly lowering tumor cell viability in the organoids through photothermal activation. Even though the CD44-targeted theragnostic nanoparticles have demonstrated limited transport, moreover, their targeted retention revealed increased heat that improves photothermal ablation in the 3D models, which is advantageous for evaluating nanoparticle therapeutics before *in vivo* testing.

As the field advances, cancer organoids are anticipated to become more significant in the preclinical screening of nanotherapeutics, which might speed up the drug development process and enhance the conversion of research results into clinical applications.

4.2. Scaffold-based models

Scaffolds are becoming an attractive option for the delivery of anticancer nanotherapies, through an implanted or injectable platform which generates localized or targeted toxicity in the tumor. The injectable scaffolds have the potential to release the therapies in a regulated and sustained manner, resulting in a multifunctional therapeutic effect. These scaffolds can also be applied as implants at the site. For the application of these models, it is crucial to consider biodegradability, immunogenicity, ensuring the highly effective and responsive tumors. Over the decades, several kinds of nano/micro-drug delivery systems utilizing 3D scaffolds have been created; these systems vary from one another in terms of composition, crosslinker, ionic charge, pore size, release kinetics, and formulation techniques.

In the last years, some studies have emerged exploring scaffold-based models as a way to deliver nanotherapies to the tumor site. In a recent study, the authors developed scaffolds using sodium alginate and chitosan,



functionalized with gold nanoparticles and alginate-coated gold nanoparticles. These scaffolds were implanted *in vivo* to attest the biocompatibility of the materials and the ability of these structures to modulate the inflammation and immune response. The results of this study demonstrated that while the scaffolds exhibited a characteristic foreign body response, this was solved in some days. Besides that, it was observed that the functionalization of the nanoparticles decreased markers associated with cell death by apoptosis and polymorphonuclear leukocyte recruitment. Also, they were able to observe the increase of alpha smooth muscle actin (α -SMA), indicating angiogenic properties of the implanted scaffolds. The enhanced biocompatibility and angiogenic properties of these scaffolds functionalized with nanoparticles imply possible uses in tissue engineering, which may be pertinent for cancer treatment approaches involving tissue regeneration or targeted drug delivery. In another study, a different approach was explored, using 3D printed hydrogel-based scaffolds and surface-enhanced Raman scattering (SERS) biosensing and imaging of 3D breast cancer models. In brief, plasmonic nanoparticles were integrated in the scaffolds, for SERS biosensing, and after the bioprinting breast cancer spheroids were included in the scaffolds. The results demonstrated the adaptability and modularity of the scaffolds in supporting breast cancer spheroids. In general, this approach offers the possibility to discover new insights into cancer biology and drug responses.

4.3. Dynamic Flow Systems

In the last decade, microfluidic technologies, often abbreviated to lab-on-a-chip technology, emerged as an innovative approach that could solve several limitations of the current models enabling to recapitulate the dynamic environment sense *in vivo*. This technology presents a number of intriguing features, such as small size, adaptability, skill in working with small fluid volumes, and support for a variety of analytical methods. One evident benefit of bioengineered microfluidic devices is their ability to enhance the delivery efficiency of anticancer medications under a flow-based 3D TME, create drug concentration gradients, and assess NP dose response. By offering dynamic, regulated settings that more nearly resemble *in vivo* conditions, these devices offer more precise and effective assessment of treatments based on nanoparticles.

Microfluidic devices for cancer modeling can be configured with one, two, or more compartments, including different cells or constituents in the compartmentalized chambers. In a recent study, the researchers used single-channel and double-channel configurations of microfluidic chips to recapitulate the spatial organization of glioblastoma tumors and to explore



the therapeutic efficacy of molecular and nano anti-cancer agents (DTXL, DTXL-SPN and Fmoc-Glc6P). Crucially, when compared to U87-MG cells grown in the single-channel chips, the cells grown in 2D exhibit a 50-fold higher IC₅₀ and are obviously more resistant to DTXL therapy. This work also demonstrates the exceptional behavior of Fmoc-Glc6P, which exhibits a selective effect on cells, killing cancer cells without harming healthy or normal cells. Furthermore, the impact of Fmoc-Glc6P, particularly, on cancer cells cultivated in double-channel microfluidic chips, demonstrates the model's capacity to more accurately predict *in vivo* results. The outcomes showed that their microfluidic chips may be utilized to evaluate the anti-cancer effectiveness of different drugs given both systemically and *in situ*. Moreover, they can successfully replicate the three-dimensional complicated spatial organization of solid tumors in a more complex manner than other 3D models. In another study, a novel approach to study the stability and extravasation of self-assembled micelles in real-time using a cancer-on-chip model was explored. Here, the author recreated four important barriers (i.e. blood vessels, endothelial barrier, extracellular matrix and the tumor spheroid), that the nanoparticles must cross to enable the delivery of the therapies into the tumor. The results of this study revealed the interaction between extravasation, micellar stability, and carrier structure. In brief, this study offers important insights for creating more relevant drug delivery systems, through the establishment of a reliable testing platform for assessing nanocarrier interactions with biological barriers. In another study, the authors used a different approach, combining tumor spheroids and microfluidic to study the effects of gold nanoshells conjugated with an anti-MUC1 aptamer (HGNS@anti-MUC1) as a photothermal therapy for breast cancer (MCF-7 cells) and lung cancer (A549 cells). Following irradiation, the evaluated nanoshells demonstrated effectiveness in decreasing the size and vitality of tumor spheroids. The authors compared the effect of this therapy in spheroids of non-tumorous cell lines. The results demonstrate that the internalization of the nanomedicine was less effective than in tumor spheroids, and also that non-tumorous spheroids showed less pronounced effects under the same treatment conditions. The idea that the reaction to heat is tissue-dependent is further supported by the fact that spheroids from various cell lines had varying treatment outcomes.

Understanding the delivery and effectiveness of various nanotherapies has been made possible through the use of dynamic 3D models, such as cancer-on-a-chip platforms. However, the design of multi-compartment systems and the inclusion of cellular heterogeneity are still highly required and a critical next step that must be achieved to better mimic cancer physiology, in these systems.



5. CONCLUSION

The use of 3D tumor models for the preclinical validation of nanotherapies promises to be a significant step forward in cancer research. The screening of new anti-cancer nanocarriers in more predictive models accelerates and upgrades the validation of candidate nanoplateforms, ultimately impacting the discovery of more effective cancer therapies. These *in vitro* models offer the possibility of smartly recapitulating crucial biophysical barriers present in the native tumor microenvironment, overcoming the issues of more simplistic 2D cultures. Up to date, 3D tumor models have been particularly relevant for evaluating nanotherapies cell targeting performance, tumor penetration, internalization and their anti-cancer therapeutic outcome. Synergistically, these *in vitro* models are also able to serve as high-throughput analysis systems that can greatly reduce the usage of *in vivo* animal models during validation stages. As we move forward, the screening of nanotherapeutics in physiologically relevant 3D *in vitro* models will play an increasingly important role in their design and therapeutic performance analysis before clinical application.

Acknowledgements

This work was developed within the scope of the project CICECO-Aveiro Institute of Materials, UIDB/50011/2020, UIDP/50011/2020 & LA/P/0006/2020, financed by national funds through the FCT/MEC (PIDDAC). This work was also supported by the Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI), in the component FEDER. This work was also funded by the European Union's Horizon Europe research and innovation programme under the scope of project INSPIRE (Grant agreement ID: 101057777). The authors acknowledge the financial support by the Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) through Doctoral Grants (DFA/BD/7692/2020, M.V.M., 2023.03472.BDANA, M.T.C.).

6. REFERENCES

1. Katrina, A.; Voliani, V. Three-Dimensional Tumor Models : Promoting Breakthroughs in Nanotheranostics Translational Research. *Appl Mater Today* 2020, 19, 100552. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.100552>.
2. Shen, S.; Xu, X.; Lin, S.; Zhang, Y.; Liu, H.; Zhang, C.; Mo, R. A Nanotherapeutic Strategy to Overcome Chemotherapeutic Resistance of Cancer Stem-like Cells. *Nat Nanotechnol* 2021, 16 (1), 104-113. <https://doi.org/10.1038/s41565-020-00793-0>.
3. van der Meel, R.; Sulheim, E.; Shi, Y.; Kiessling, F.; Mulder, W. J. M.; Lammers, T. Smart Cancer Nanomedicine. *Nat Nanotechnol* 2019, 14 (11), 1007-1017. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0567-y>.



4. Sousa de Almeida, M.; Susnik, E.; Drasler, B.; Taladriz-Blanco, P.; Petri-Fink, A.; Rothen-Rutishauser, B. Understanding Nanoparticle Endocytosis to Improve Targeting Strategies in Nanomedicine. *Chem Soc Rev* 2021, 50 (9), 5397-5434. <https://doi.org/10.1039/D0CS01127D>.
5. Zhang, J.; Wang, S.; Zhang, D.; He, X.; Wang, X.; Han, H.; Qin, Y. Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems to Enhance Cancer Immunotherapy in Solid Tumors. *Front Immunol* 2023, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1230893>.
6. Shi, Y.; Lammers, T. Combining Nanomedicine and Immunotherapy. *Acc Chem Res* 2019, 52 (6), 1543-1554. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00148>.
7. Ferreira, L. P.; Gaspar, V. M.; Monteiro, M. V.; Freitas, B.; Silva, N. J. O.; Mano, J. F. Screening of Dual Chemo-Photothermal Cellular Nanotherapies in Organotypic Breast Cancer 3D Spheroids. *Journal of Controlled Release* 2021, 331, 85-102. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.12.054>.
8. Manduca, N.; Maccafeo, E.; De Maria, R.; Sistigu, A.; Musella, M. 3D Cancer Models: One Step Closer to *in vitro* Human Studies. *Front Immunol* 2023, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1175503>.
9. Fitzgerald, K. A.; Malhotra, M.; Curtin, C. M.; Brien, J. O.; Driscoll, C. M. O. Life in 3D Is Never Flat: 3D Models to Optimise Drug Delivery. *Journal of Controlled Release* 2015, 215, 39-54.
10. Samanta, S.; Sistla, R.; Chaudhuri, A. The Use of RGDGWK-Lipopeptide to Selectively Deliver Genes to Mouse Tumor Vasculature and Its Complexation with P53 to Inhibit Tumor Growth. *Biomaterials* 2010, 31 (7), 1787-1797. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.10.027>.
11. Wang, C.; Zhao, M.; Liu, Y.-R.; Luan, X.; Guan, Y.-Y.; Lu, Q.; Yu, D.-H.; Bai, F.; Chen, H.-Z.; Fang, C. Suppression of Colorectal Cancer Subcutaneous Xenograft and Experimental Lung Metastasis Using Nanoparticle-Mediated Drug Delivery to Tumor Neovasculature. *Biomaterials* 2014, 35 (4), 1215-1226. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.08.091>.
12. Li, J.; Huo, M.; Wang, J.; Zhou, J.; Mohammad, J. M.; Zhang, Y.; Zhu, Q.; Waddad, A. Y.; Zhang, Q. Redox-Sensitive Micelles Self-Assembled from Amphiphilic Hyaluronic Acid-Deoxycholic Acid Conjugates for Targeted Intracellular Delivery of Paclitaxel. *Biomaterials* 2012, 33 (7), 2310-2320. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.11.022>.
13. Zhuang, J.; Holay, M.; Park, J. H.; Fang, R. H.; Zhang, J.; Zhang, L. Nanoparticle Delivery of Immunostimulatory Agents for Cancer Immunotherapy. *Theranostics* 2019, 9 (25), 7826-7848. <https://doi.org/10.7150/thno.37216>.
14. Perciani, C. T.; Liu, L. Y.; Wood, L.; MacParland, S. A. Enhancing Immunity with Nanomedicine: Employing Nanoparticles to Harness the Immune System. *ACS Nano* 2021, 15 (1), 7-20. <https://doi.org/10.1021/acs.nano.0c08913>.
15. Yu, H.; De Geest, B. G. Nanomedicine and Cancer Immunotherapy. *Acta Pharmacol Sin* 2020, 41 (7), 879-880. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0426-2>.



16. Jindal, A.; Sarkar, S.; Alam, A. Nanomaterials-Mediated Immunomodulation for Cancer Therapeutics. *Front Chem* 2021, 9. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.629635>.
17. Rios-Doria, J.; Durham, N.; Wetzel, L.; Rothstein, R.; Chesebrough, J.; Holoweckyj, N.; Zhao, W.; Leow, C. C.; Hollingsworth, R. Doxil Synergizes with Cancer Immunotherapies to Enhance Antitumor Responses in Syngeneic Mouse Models. *Neoplasia* 2015, 17 (8), 661-670. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2015.08.004>.
18. Wells, K.; Liu, T.; Zhu, L.; Yang, L. Immunomodulatory Nanoparticles Activate Cytotoxic T Cells for Enhancement of the Effect of Cancer Immunotherapy. *Nanoscale* 2024, 16 (38), 17699-17722. <https://doi.org/10.1039/D4NR01780C>.
19. Nguyen, V. Du; Min, H.-K.; Kim, D.-H.; Kim, C.-S.; Han, J.; Park, J.-O.; Choi, E. Macrophage-Mediated Delivery of Multifunctional Nanotherapeutics for Synergistic Chemo-Photothermal Therapy of Solid Tumors. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020, 12 (9), 10130-10141. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b23632>.
20. Jiang, Y.; Fan, M.; Yang, Z.; Liu, X.; Xu, Z.; Liu, S.; Feng, G.; Tang, S.; Li, Z.; Zhang, Y.; Chen, S.; Yang, C.; Law, W.-C.; Dong, B.; Xu, G.; Yong, K.-T. Recent Advances in Nanotechnology Approaches for Non-Viral Gene Therapy. *Biomater Sci* 2022, 10 (24), 6862-6892. <https://doi.org/10.1039/D2BM01001A>.
21. Roma-Rodrigues, C.; Rivas-García, L.; Baptista, P. V.; Fernandes, A. R. Gene Therapy in Cancer Treatment: Why Go Nano? *Pharmaceutics* 2020, 12 (3), 233. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030233>.
22. Shi, J.; Kantoff, P. W.; Wooster, R.; Farokhzad, O. C. Cancer Nanomedicine: Progress, Challenges and Opportunities. *Nat Rev Cancer* 2017, 17 (1), 20-37. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.108>.
23. Huang, B. W.; Gao, J. Q. Application of 3D Cultured Multicellular Spheroid Tumor Models in Tumor-Targeted Drug Delivery System Research. *Journal of Controlled Release* 2018, 270 (August 2017), 246-259. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.12.005>.
24. Barriga, V.; Kuol, N.; Nurgali, K.; Apostolopoulos, V. The Complex Interaction between the Tumor Micro-Environment and Immune Checkpoints in Breast Cancer. *Cancers (Basel)* 2019, 11 (8). <https://doi.org/10.3390/cancers11081205>.
25. Wang, L.; Zhu, B.; Zhang, M.; Wang, X. Roles of Immune Microenvironment Heterogeneity in Therapy-Associated Biomarkers in Lung Cancer. *Semin Cell Dev Biol* 2017, 64, 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.09.008>.
26. Son, B.; Lee, S.; Youn, H.; Kim, E.; Kim, W.; Youn, B. The Role of Tumor Microenvironment in Therapeutic Resistance. *Oncotarget* 2017. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13907>.
27. Nicolas-Boluda, A.; Silva, A. K. A.; Fournel, S.; Gazeau, F. Physical Oncology: New Targets for Nanomedicine. *Biomaterials* 2018, 150, 87-99. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.10.014>.



28. (Soeiro, J. F.; Sousa, F. L.; Monteiro, M. V.; Gaspar, V. M.; Silva, N. J. O.; Mano, J. F. *Advances in Screening Hyperthermic Nanomedicines in 3D Tumor Models. Nanoscale Horiz* 2024, 9 (3), 334-364. <https://doi.org/10.1039/D3NH00305A>.
29. Cullion, K.; Petishnok, L. C.; Koo, H.; Harty, B.; Melero-Martin, J. M.; Kohane, D. S. Targeting Nanoparticles to Bioengineered Human Vascular Networks. *Nano Lett* 2021, 21 (15), 6609-6616. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c02027>.
30. Jasim, S. A.; Farber, I. M.; Noraldeem, S. A. M.; Bansal, P.; Alsaab, H. O.; Abdullaev, B.; Alkhafaji, A. T.; Alawadi, A. H.; Hamzah, H. F.; Mohammed, B. A. Incorporation of Immunotherapies and Nanomedicine to Better Normalize Angiogenesis-Based Cancer Treatment. *Microvasc Res* 2024, 154, 104691. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2024.104691>.
31. Carter, E. P.; Roozitalab, R.; Gibson, S. V.; Grose, R. P. Tumour Microenvironment 3D-Modelling: Simplicity to Complexity and Back Again. *Trends Cancer* 2021, 7 (11), 1033-1046. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2021.06.009>.
32. Kuczynski, E. A.; Vermeulen, P. B.; Pezzella, F.; Kerbel, R. S.; Reynolds, A. R. Vessel Co-Option in Cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2019, 16 (8), 469-493. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0181-9>.
33. Jain, R. K.; Di Tomaso, E.; Duda, D. G.; Loeffler, J. S.; Sorensen, A. G.; Batchelor, T. T. Angiogenesis in Brain Tumours. *Nat Rev Neurosci* 2007, 8 (8), 610-622. <https://doi.org/10.1038/nrn2175>.
34. Chen, Y.; Ding, B. Sen. Comprehensive Review of the Vascular Niche in Regulating Organ Regeneration and Fibrosis. *Stem Cells Transl Med* 2022, 11 (11), 1135-1142. <https://doi.org/10.1093/stcltm/szac070>.
35. Fang, J.; Islam, W.; Maeda, H. Exploiting the Dynamics of the EPR Effect and Strategies to Improve the Therapeutic Effects of Nanomedicines by Using EPR Effect Enhancers. *Adv Drug Deliv Rev* 2020, 157, 142-160. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.06.005>.
36. Shilova, O. N.; Shilov, E. S.; Lieber, A.; Deyev, S. M. Disassembling a Cancer Puzzle: Cell Junctions and Plasma Membrane as Targets for Anticancer Therapy. *Journal of Controlled Release* 2018, 286 (March), 125-136. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.07.030>.
37. De Palma, M.; Biziato, D.; Petrova, T. V. Microenvironmental Regulation of Tumour Angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2017, 17 (8), 457-474. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.51>.
38. Multhaupt, H. A. B.; Leitinger, B.; Gullberg, D.; Couchman, J. R. Extracellular Matrix Component Signaling in Cancer. *Adv Drug Deliv Rev* 2016, 97, 28-40. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.10.013>.
39. Naba, A.; Hynes, R. O.; Pearce, O. M. T. T.; Rajeeve, V.; Cutillas, P. R.; Balkwill, F. R.; Del Rosario, A.; Ma, D.; Ding, H.; Rajeeve, V.; Cutillas, P. R.; Balkwill, F. R.; Hynes, R. O. Characterization of the Extracellular Matrix of Normal and Diseased Tissues Using Proteomics. *J Proteome Res* 2017, 16 (8), 3083-3091. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00191>.
40. Cox, T. R. The Matrix in Cancer. *Nature Reviews Cancer. Nature Research* April 1, 2021, pp 217-238. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-00329-7>.



41. Mohammadi, H.; Sahai, E. Mechanisms and Impact of Altered Tumour Mechanics. *Nat Cell Biol* 2018, 20 (7), 766-774. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0131-2>.
42. Henke, E.; Nandigama, R.; Ergün, S. Extracellular Matrix in the Tumor Microenvironment and Its Impact on Cancer Therapy. *Front Mol Biosci* 2020, 6 (January), 1-24. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00160>.
43. Nguyen, L. N. M.; Lin, Z. P.; Sindhvani, S.; MacMillan, P.; Mladjenovic, S. M.; Stordy, B.; Ngo, W.; Chan, W. C. W. The Exit of Nanoparticles from Solid Tumours. *Nat Mater* 2023, No. April 2022. <https://doi.org/10.1038/s41563-023-01630-0>.
44. Cassani, M.; Fernandes, S.; Pagliari, S.; Cavalieri, F.; Caruso, F.; Forte, G. Unraveling the Role of the Tumor Extracellular Matrix to Inform Nanoparticle Design for Nanomedicine. *Advanced Science* 2024. <https://doi.org/10.1002/advs.202409898>.
45. Mitchell, M. J.; Billingsley, M. M.; Haley, R. M.; Wechsler, M. E.; Peppas, N. A.; Langer, R. Engineering Precision Nanoparticles for Drug Delivery. *Nat Rev Drug Discov* 2021, 20 (2), 101-124. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8>.
46. Cabeza, L.; Perazzoli, G.; Peña, M.; Cepero, A.; Luque, C.; Melguizo, C.; Prados, J. Cancer Therapy Based on Extracellular Vesicles as Drug Delivery Vehicles. *Journal of Controlled Release* 2020, 327 (June), 296-315. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.08.018>.
47. van der Meel, R.; Sulheim, E.; Shi, Y.; Kiessling, F.; Mulder, W. J. M. M.; Lammers, T. Smart Cancer Nanomedicine. *Nat Nanotechnol* 2019, 14 (11), 1007-1017. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0567-y>.
48. Matsuo, I.; Kimura-Yoshida, C. Extracellular Distribution of Diffusible Growth Factors Controlled by Heparan Sulfate Proteoglycans during Mammalian Embryogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 2014, 369 (1657). <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0545>.
49. Chen, R.; Huang, L.; Hu, K. Natural Products Remodel Cancer-Associated Fibroblasts in Desmoplastic Tumors. *Acta Pharm Sin B* 2020, 10 (11), 2140-2155. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.04.005>.
50. Lu, Q.; Kou, D.; Lou, S.; Ashrafizadeh, M.; Aref, A. R.; Canadas, I.; Tian, Y.; Niu, X.; Wang, Y.; Torabian, P.; Wang, L.; Sethi, G.; Tergaonkar, V.; Tay, F.; Yuan, Z.; Han, P. Nanoparticles in Tumor Microenvironment Remodeling and Cancer Immunotherapy. *J Hematol Oncol* 2024, 17 (1), 16. <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01535-8>.
51. Mandal, D.; Kushwaha, K.; Gupta, J. Emerging Nano-Strategies against Tumour Microenvironment (TME): A Review. *OpenNano* 2023, 9, 100112. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2022.100112>.
52. Dang, B.-T. N.; Duwa, R.; Lee, S.; Kwon, T. K.; Chang, J.-H.; Jeong, J.-H.; Yook, S. Targeting Tumor-Associated Macrophages with Mannosylated Nanotherapeutics Delivering TLR7/8 Agonist Enhances Cancer Immunotherapy. *Journal of Controlled Release* 2024, 372, 587-608. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2024.06.062>.



53. Schultze, J. L.; Schmieder, A.; Goerd, S. Macrophage Activation in Human Diseases. *Semin Immunol* 2015, 27 (4), 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2015.07.003>.
54. Leonard, F.; Curtis, L. T.; Ware, M. J.; Nosrat, T.; Liu, X.; Yokoi, K.; Frieboes, H. B.; Godin, B. Macrophage Polarization Contributes to the Anti-Tumoral Efficacy of Mesoporous Nanovectors Loaded with Albumin-Bound Paclitaxel. *Front Immunol* 2017, 8 (JUN). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00693>.
55. Foglietta, F.; Serpe, L.; Canaparo, R. The Effective Combination between 3D Cancer Models and Stimuli-Responsive Nanoscale Drug Delivery Systems. *Cells* 2021, 10 (12), 3295. <https://doi.org/10.3390/cells10123295>.
56. Murar, M.; Pujals, S.; Albertazzi, L. Multivalent Effect of Peptide Functionalized Polymeric Nanoparticles towards Selective Prostate Cancer Targeting. *Nanoscale Adv* 2023, 5 (5), 1378-1385. <https://doi.org/10.1039/D2NA00601D>.
57. Fang, C.; Bhattarai, N.; Sun, C.; Zhang, M. Functionalized Nanoparticles with Long-Term Stability in Biological Media. *Small* 2009, 5 (14), 1637-1641. <https://doi.org/10.1002/sml.200801647>.
58. Zanoni, M.; Piccinini, F.; Arienti, C.; Zamagni, A.; Santi, S.; Polico, R.; Bevilacqua, A.; Tesei, A. 3D Tumor Spheroid Models for *in vitro* Therapeutic Screening: A Systematic Approach to Enhance the Biological Relevance of Data Obtained. *Sci Rep* 2016, 6 (1), 19103. <https://doi.org/10.1038/srep19103>.
59. Parvathaneni, V.; Kulkarni, N. S.; Chauhan, G.; Shukla, S. K.; Elbatanony, R.; Patel, B.; Kunda, N. K.; Muth, A.; Gupta, V. Development of Pharmaceutically Scalable Inhaled Anti-Cancer Nanotherapy - Repurposing Amodiaquine for Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Materials Science and Engineering: C* 2020, 115, 111139. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111139>.
60. Lee, J. M.; Park, D. Y.; Yang, L.; Kim, E.-J.; Ahrberg, C. D.; Lee, K.-B.; Chung, B. G. Generation of Uniform-Sized Multicellular Tumor Spheroids Using Hydrogel Microwells for Advanced Drug Screening. *Sci Rep* 2018, 8 (1), 17145. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35216-7>.
61. Xu, H.; Jiao, D.; Liu, A.; Wu, K. Tumor Organoids: Applications in Cancer Modeling and Potentials in Precision Medicine. *J Hematol Oncol* 2022, 15 (1), 58. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01278-4>.
62. Rossi, G.; Manfrin, A.; Lutolf, M. P. Progress and Potential in Organoid Research. *Nat Rev Genet* 2018, 19 (11), 671-687. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0051-9>.
63. Xu, H.; Lyu, X.; Yi, M.; Zhao, W.; Song, Y.; Wu, K. Organoid Technology and Applications in Cancer Research. *J Hematol Oncol* 2018, 11 (1), 116. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0662-9>.
64. McCarthy, B.; Cudykier, A.; Singh, R.; Levi-Polyachenko, N.; Soker, S. Semiconducting Polymer Nanoparticles for Photothermal Ablation of Colorectal Cancer Organoids. *Scientific Reports* 2021 11:1 2021, 11 (1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81122-w>.



65. Zhang, I.; Lépine, P.; Han, C.; Lacalle-Aurioles, M.; Chen, C. X.-Q.; Haag, R.; Durcan, T. M.; Maysinger, D. Nanotherapeutic Modulation of Human Neural Cells and Glioblastoma in Organoids and Monocultures. *Cells* 2020, 9 (11), 2434. <https://doi.org/10.3390/cells9112434>.
66. Shahriar, S. M. S.; Andrabai, S. M.; Islam, F.; An, J. M.; Schindler, S. J.; Matis, M. P.; Lee, D. Y.; Lee, Y. Next-Generation 3D Scaffolds for Nano-Based Chemotherapeutics Delivery and Cancer Treatment. *Pharmaceutics* 2022, 14 (12), 2712. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122712>.
67. Viveros-Moreno, N. G.; Garcia-Lorenzana, M.; Peña-Mercado, E.; García-Sanmartín, J.; Narro-Íñiguez, J.; Salazar-García, M.; Huerta-Yepez, S.; Sanchez-Gomez, C.; Martínez, A.; Beltran-Vargas, N. E. *in vivo* Biocompatibility Testing of Nanoparticle-Functionalized Alginate-Chitosan Scaffolds for Tissue Engineering Applications. *Front Bioeng Biotechnol* 2023, 11. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1295626>.
68. García-Astrain, C.; Henriksen-Lacey, M.; Lenzi, E.; Renero-Lecuna, C.; Langer, J.; Piñeiro, P.; Molina-Martínez, B.; Plou, J.; Jimenez de Aberasturi, D.; Liz-Marzán, L. M. A Scaffold-Assisted 3D Cancer Cell Model for Surface-Enhanced Raman Scattering-Based Real-Time Sensing and Imaging. *ACS Nano* 2024, 18 (17), 11257-11269. <https://doi.org/10.1021/acsnano.4c00543>.
69. Bakhshi, A.; Pandey, A.; Kharaba, Z.; Razlansari, M.; Sargazi, S.; Behzadmehr, R.; Rahdar, A.; Díez-Pascual, A. M.; Fathi-karkan, S. Microfluidic-Based Nanoplatfoms for Cancer Theranostic Applications: A Mini-Review on Recent Advancements. *OpenNano* 2024, 15, 100197. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2023.100197>.
70. (70) Wlodkowic, D.; Cooper, J. M. Tumors on Chips: Oncology Meets Microfluidics. *Curr Opin Chem Biol* 2010, 14 (5), 556-567. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.08.016>.
71. Martins, A. M.; Brito, A.; Barbato, M. G.; Felici, A.; Reis, R. L.; Pires, R. A.; Pashkuleva, I.; Decuzzi, P. Efficacy of Molecular and Nano-Therapies on Brain Tumor Models in Microfluidic Devices. *Biomaterials Advances* 2023, 144, 213227. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2022.213227>.
72. Feiner-Gracia, N.; Glinkowska Mares, A.; Buzhor, M.; Rodriguez-Trujillo, R.; Samitier Marti, J.; Amir, R. J.; Pujals, S.; Albertazzi, L. Real-Time Ratiometric Imaging of Micelles Assembly State in a Microfluidic Cancer-on-a-Chip. *ACS Appl Bio Mater* 2021, 4 (1), 669-681. <https://doi.org/10.1021/acsbm.0c01209>.
73. Kalinowska, D.; Grabowska-Jadach, I.; Liwinska, M.; Drozd, M.; Pietrzak, M.; Dybko, A.; Brzozka, Z. Studies on Effectiveness of PTT on 3D Tumor Model under Microfluidic Conditions Using Aptamer-Modified Nanoshells. *Biosens Bioelectron* 2019, 126, 214-221. <https://doi.org/10.1016/J.BIOS.2018.10.069>.



Nanopartículas basadas en vidrios mesoporosos para regeneración ósea

Nanoparticles based on mesoporous glasses for bone regeneration



Antonio J. Salinas Sánchez

Académico de número de la RANFE
e-mail: salinas@ucm.es

PALABRAS CLAVE

Nanopartículas
Vidrios
Mesoporosos
Regeneración
Hueso

RESUMEN

Las nanopartículas basadas en vidrios mesoporosos bioactivos son de gran interés en nanomedicina porque se unen al tejido óseo y, simultáneamente, pueden liberar biomoléculas y fármacos cargados en su interior. Por ello, se están investigando para diseñar nanosistemas útiles en situaciones clínicas en las que se requiera regeneración ósea. Cuando se ponen en contacto con células y tejidos vivos, su comportamiento varía en función de su composición, forma, porosidad o grado y tipo de funcionalización. Por tanto, pueden diseñarse para adaptarse a las necesidades de cada aplicación y son excelentes candidatos para incorporar futuros avances que se produzcan en nanomedicina. Este capítulo describe el estado actual y perspectivas de futuro de las nanopartículas basadas en vidrios mesoporosos bioactivos para regenerar hueso.

KEYWORDS

Nanoparticles
Glass
Mesoporous
Regeneration
Bone

ABSTRACT

Nanoparticles based on bioactive mesoporous glasses are of great interest in Nanomedicine because they bind to bone tissue and, simultaneously, can release biomolecules and drugs loaded inside them. They are therefore being investigated to design nanosystems useful in clinical situations where bone regeneration is required. When placed in contact with living cells and tissues, their behavior varies depending on their composition, shape, porosity or degree and type of functionalization. They can therefore be designed to suit the needs of each application and are excellent candidates for incorporating future advances in Nanomedicine. This chapter describes the current status and future prospects of nanoparticles based on bioactive mesoporous glasses for bone regeneration.



1. NANOPARTÍCULAS EN NANOMEDICINA

El pequeño tamaño de las nanopartículas les confiere propiedades que no tienen esos materiales con mayor tamaño partícula, debido a la elevada fracción de átomos que se encuentran en la superficie de una nanopartícula. Las nanopartículas están desempeñando un papel fundamental en los nuevos avances de la nanociencia, la nanotecnología y la nanomedicina (1,2). La Figura 1 muestra diversas nanopartículas que se están investigando para aplicaciones médicas. En la parte izquierda se muestran las que son de origen orgánico y a la derecha las de origen inorgánico. Entre estas últimas se encuentran las nanopartículas bioactivas de vidrio mesoporoso (MBGN), en las que se centra este capítulo. Aunque la mayoría de los fármacos comerciales actuales que utilizan nanopartículas se basan en liposomas, en última década han despertado bastante interés las nanopartículas de sílice mesoporosas (MSN) y las mencionadas MBGN ya que son robustas y tienen gran capacidad de carga con moléculas biológicamente activas. Las nanopartículas de origen inorgánico tienen gran un potencial para sistemas de nanodiagnóstico y administración de fármacos, para terapias de hipertermia o fototerapia y para transfección de genes. Su diminuto tamaño facilita asimismo procesos biológicos como la endocitosis, propiedad esencial para ciertas aplicaciones clínicas.

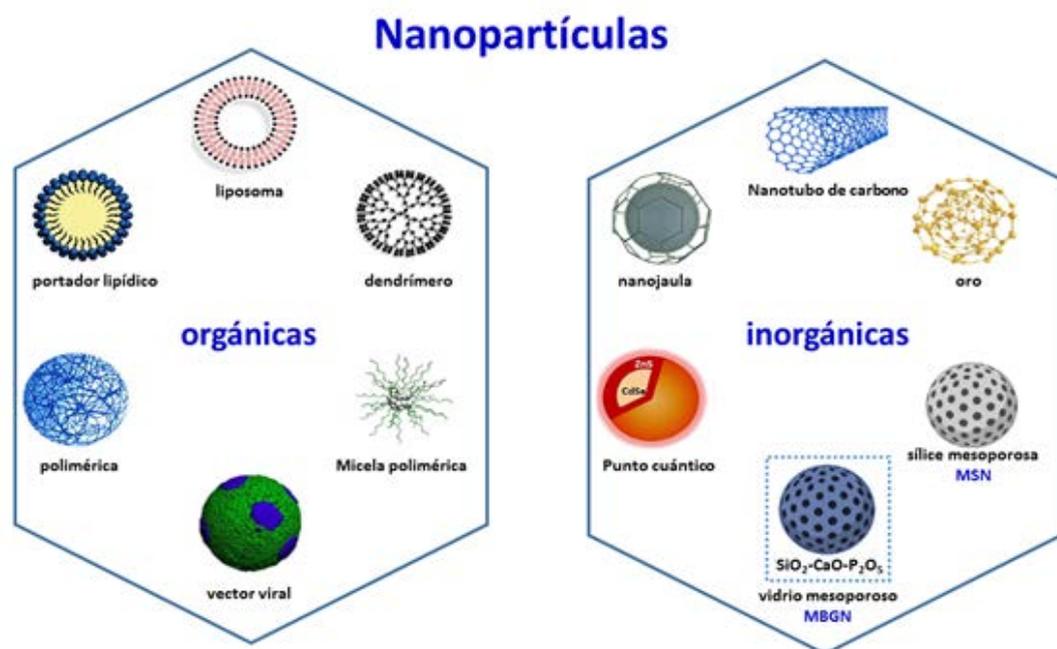


Figura 1 Tipos de nanopartículas utilizadas en Nanomedicina.



2. SÍLICE MESOPOROSA EN BULK Y EN FORMA DE NANOPARTÍCULAS

El descubrimiento en 1991 de los *materiales mesoporosos de sílice* (SiO_2) con porosidad ordenada y diámetros de poro homogéneos en la región de los mesoporos (es decir, entre 2 y 50 nm) supuso un gran avance para aplicaciones en catálisis y adsorción (3). Esta peculiar porosidad ordenada y con tamaño de mesoporo uniforme se obtiene utilizando surfactantes que actúan como agentes directores de la estructura, esto es como plantillas. En 2001, la Prof. María Vallet Regi y sus colaboradores propusieron la utilización de los materiales mesoporosos de sílice en *bulk* (es decir con un tamaño de partícula cercano o superior a un micrómetro) para sistemas de liberación controlada de fármacos. La prueba de concepto confirmó su idoneidad para esta aplicación (4), lo que abrió una nueva línea de investigación que están siguiendo cientos de investigadores (5,6).

Las nuevas herramientas analíticas que alcanzaban la escala atómica, como la microscopia de efecto túnel descubierta por Binnig y Rohrer en 1981 y la microscopia de fuerza atómica descubierta en 1986, propiciaron grandes avances en la nanociencia y, en consecuencia, en la nanotecnología y la nanomedicina. Los materiales obtenidos con tamaño de partícula de unos 100 nm o menores (nanopartículas) tienen unas propiedades especiales en comparación con los mismos materiales obtenidos en forma de partículas más grandes (*bulk*). Por ello, surgió el interés de obtener nanopartículas a partir de los nuevos materiales de sílice mesoporosa. Asimismo, se descubrió que las nanopartículas de sílice mesoporosa (MSN, por sus siglas en inglés) podían optimizarse para cada aplicación controlando el tamaño y forma de las nanopartículas, la funcionalización de su superficie y el diseño de sus poros.

Las primeras MSN se desarrollaron en 2001 y sus aplicaciones se centraron en la *catálisis* y la *adsorción*. Poco a poco, la investigación se orientó hacia otros ámbitos como el *medio ambiente*, para adsorber contaminantes y el tratamiento de aguas o el *almacenamiento de energía* para diseñar materiales para baterías avanzadas y dispositivos de almacenamiento. En Medicina, las MSN se están investigando para la administración de fármacos, terapia génica y liberación de agentes con actividad biológica, y constituyen una plataforma clave para diversas aplicaciones biomédicas (6,7). El desarrollo de las MSN ha sentado las bases de numerosas innovaciones científicas y tecnológicas y las ha convertido en una herramienta clave para fabricar nanoplateformas en Nanomedicina (8,9).



3. VIDRIOS MESOPOROSOS EN *BULK* Y COMO NANOPARTÍCULAS

Los mesoporosos de sílice obtenidos en *bulk*, o MSN mencionados tienen un enorme potencial clínico, pero al estar compuestos exclusivamente de SiO_2 , no resultaron óptimos para regenerar tejidos óseos. Por ello, en 2004 se diseñaron los vidrios mesoporosos bioactivos (MBG) en *bulk* que contienen SiO_2 como elemento mayoritario y, además, se añade hasta un 15 % o más de óxido de calcio, CaO y hasta un 5 % de pentóxido de fósforo, P_2O_5 (10). En consecuencia, los MBG pertenecen al sistema ternario SiO_2 - CaO - P_2O_5 aunque, como veremos más adelante, en ocasiones se elimina el P_2O_5 y a veces se añaden pequeñas cantidades óxidos como el ZnO o el SrO para potenciar comportamientos biológicos específicos. También se intenta mejorarlos cargándolos con moléculas osteogénicas o decorándolos con células (11). En un amplio artículo de revisión de 2021, se recoge el estado del arte de los MBG en *bulk*, indicando las ventajas que aportan respecto a los vidrios bioactivos de fusión y los vidrios sol-gel previamente descritos (12).

Del mismo modo que al estudio de los materiales mesoporosos de sílice le siguió el de las MSN, a la investigación sobre los MBG en *bulk* le siguieron publicaciones dedicadas a la síntesis y caracterización de nanopartículas de vidrio mesoporoso bioactivo (MBGN) que constituyen el objetivo de este capítulo. Cabe citar el artículo: “Functional mesoporous bioactive glass nanospheres: synthesis, high loading efficiency, controllable delivery of doxorubicin and inhibitory effect on bone cancer cells”, de Wu, Fan y Chang (12).

Los estudios realizados han demostrado que las MBGN combinan las propiedades de los vidrios bioactivos y los materiales mesoporosos y tienen una gran capacidad para liberar iones bioactivos (13). Las MBGN, generalmente esféricas y con un tamaño que puede controlarse, destacan por su potencial como vehículo para liberación de fármacos y la regeneración ósea. Por tanto, abren nuevas posibilidades en el diseño de nanomateriales bioactivos para las aplicaciones mencionadas. La Tabla 1 muestra las ventajas de las MBGN frente a los MBG para regeneración ósea, que son consecuencia de sus diferentes propiedades fisicoquímicas y biológicas.

Para recapitular, en comparación con los MBG en *bulk*, las MBGN muestran mayor flexibilidad para aplicaciones clínicas y terapias combinadas y un enfoque menos invasivo, como la administración parenteral, un aumento de las propiedades texturales con baja toxicidad y una excreción más fácil (Jav20). Todo ello, junto con su capacidad para unirse al hueso las convierte en una opción prometedora para la regeneración ósea avanzada. En la Tabla 2 se resumen las principales similitudes y diferencias entre los vidrios bioactivos según se utilicen forma de nanopartículas o en *bulk*.



Tabla 1. Ventajas de las nanopartículas de vidrio bioactivo, MBGN, frente a los vidrios mesoporosos bioactivos en bulk, MBG.

Mayor relación superficie/volumen	Tienen una superficie específica mucho mayor: <ul style="list-style-type: none">- Mayor área de interacción con tejidos biológicos y fluidos corporales.- Liberación más eficiente y controlada de iones como calcio, silicio y fosfato, que estimulan la osteogénesis.- Mejora en la capacidad de adsorción y liberación de biomoléculas como factores de crecimiento o fármacos.
Mejor capacidad de personalización	Pueden diseñarse con diferentes tamaños (10-500 nm) y formas (esferas, barras, etc.) lo que permite: <ul style="list-style-type: none">- Mejorar la internalización celular por fagocitosis o endocitosis.- Adaptarse a las necesidades del tejido óseo defectuoso.- Funcionalizarse fácilmente con biomoléculas específicas, aumentando su biocompatibilidad y direccionamiento.
Mayor bioactividad y reactividad	Debido a su reducido tamaño y alta porosidad: <ul style="list-style-type: none">- Inducen una formación más rápida de apatita (componente principal del hueso) tras sumergir en soluciones de fluido corporal simulado.- Generan gradientes de liberación de iones óptimos para acelerar la diferenciación osteoblástica y la formación de tejido óseo.
Mejor distribución y administración localizada	Pueden dispersarse uniformemente en matrices poliméricas o hidrogeles formando andamiajes homogéneos y con propiedades mecánicas más adecuadas. Pueden ser inyectables, lo que permite aplicaciones mínimamente invasivas en defectos óseos complejos o de difícil acceso.



Mayor versatilidad para terapias combinadas	Pueden cargarse con fármacos, factores de crecimiento (como BMP-2) o moléculas bioactivas (como curcumina), permitiendo una liberación dual de iones bioactivos y agentes terapéuticos promoviendo regeneración ósea, y control de infecciones (por liberación de agentes antimicrobianos).
Mejor degradabilidad controlada	Presentan tasas de degradación más ajustables lo que permite sincronizar la disolución del material con el crecimiento del nuevo tejido óseo.
Menor densidad y peso	Son menos densas y más fáciles de manipular cuando se utilizan como rellenos óseos o aditivos en recubrimientos de implantes.
Facilidad de síntesis y escalabilidad	Su fabricación permite un mejor control en la estructura de poros (tamaño y volumen), composición y funcionalización superficial.
	Suelen requerir menos material lo que reduce costes.

Tabla 2. Similitudes y diferencias entre los vidrios mesoporosos bioactivos en forma de nanopartículas, MBGN y en bulk, MBG.

Propiedad	Nanopartículas	vidrios en bulk MBG
	MBGN	
Relación superficie-volumen	Alta	Baja
Liberación de iones y fármacos	Controlada y eficiente	Lenta y menos eficiente
Aplicaciones mínimamente invasivas	Posible	Difícil
Flexibilidad estructural	Alta	Baja
Osteointegración	Más rápida	Menos eficiente
Utilización en matrices y scaffolds	Excelente	Limitado



4. COMPARACIÓN ENTRE LAS NANOPARTÍCULAS MBGN Y LAS MSN

Las MSN y las MBGN tienen bastantes características en común. Al ser nanopartículas, ambas deben tener un tamaño cercano o inferior a 100 nm, lo que permite inyectarlas en el organismo tras disolverlas o dispersarlas en un medio adecuado. Su diminuto tamaño también significa que puedan ser internalizadas por las células. Además, ambos tipos de nanopartículas son materiales mesoporosos que presentan una estructura de poros ordenada con diámetros entre 2 y 20 nm, lo que les confiere una superficie específica y un volumen de poros muy elevados, convirtiéndolos en sistemas ideales para su uso como nanotransportadores de fármacos y biomoléculas. Otra característica de las MBGN que coincide con la de las MSN, es que en su composición se pueden añadir pequeñas cantidades de otros elementos inorgánicos que les proporcionen una acción biológica beneficiosa. Por último, debido al alto contenido de SiO_2 en su composición, ambos tipos de nanopartículas presentan una enorme cantidad de grupos silanol, Si-OH, en la superficie, lo que permite funcionalizarlas con diferentes tipos de moléculas que pueden convertirlas en sustancias zwitteriónicas o dirigir las hacia los órganos o tejidos deseados como, por ejemplo, células tumorales. Las principales diferencias entre las MBGN y las MSN radican en que la composición de las primeras trata de reproducir la de los vidrios mesoporosos en bulk, que como se ha dicho se basan en el sistema ternario SiO_2 -CaO- P_2O_5 . Esto ya es un indicio de que las principales aplicaciones que se buscan para las MBGN están dentro del sistema óseo. Cabe señalar que la principal característica de los vidrios bioactivos (ya sea de fusión, sol-gel o mesoporoso) es que son capaces de formar una unión mecánicamente fuertemente con el hueso (12). Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, la presencia de CaO en las MBGN modifica aspectos como el método de síntesis, y sus potenciales aplicaciones con respecto a las MSN. Por otra parte, la incorporación de P_2O_5 en las MBGN en las condiciones de síntesis utilizadas es compleja y, de hecho, sólo pueden incluirse pequeñas cantidades (en torno al 2 %) o ningún P_2O_5 . Por esta razón, en muchos de los estudios publicados, la composición de las MBGN investigadas pertenecía al sistema binario SiO_2 -CaO. Cabe mencionar un hallazgo digno de estudio que aún no ha sido explicado convenientemente: durante algunas síntesis de MBGN se incluyó fosfato de trietilo, TEP, para actuar como precursor del P_2O_5 . Sin embargo, el análisis de las MBGN obtenidas no detectó la presencia de P_2O_5 en las nanopartículas, sino que aumentó la cantidad de CaO incorporado a las nanopartículas. De ahí la aparente paradoja que se puede encontrar en algunos artículos que describen la síntesis de nanopartículas sin P_2O_5 , en el sistema SiO_2 -CaO, a pesar de que incluyen TEP como uno de los precursores para su síntesis.



	MBGN	MSN
Composición	$\text{SiO}_2 + \text{CaO}$	100 % SiO_2
Posibilidad de inyectarlas en sangre	No → son trombogénicas	Si → tras añadir agentes de silenciamiento
Aplicación	Locales. En tejidos poco vascularizados como el hueso	Sistémica
Mejoras	Adición de elementos inorgánicos con acción biológica: zinc, estroncio, cobre, manganeso,...	Adición de elementos inorgánicos con acción biológica: zinc, estroncio, cobre, manganeso,...
	Inclusión de biomoléculas con actividad biológica (principalmente osteogénica)	Inclusión de biomoléculas con actividad biológica
	Funcionalizarlas y sembrarlas con células	Funcionalizarlas y sembrarlas con células

Figura 2. Diferencias entre las MSNs y la MBGNs.

En la Figura 2 se muestran las similitudes y diferencias entre las MBGN y las MSN. Como se ha mencionado, la presencia de un contenido significativo de CaO modifica las posibles aplicaciones de las MGN que son mucho más restringidas que las MSN. Para empezar, esta cantidad el calcio confiere a carácter trombogénico las MBGN (15) por lo que no pueden ser inyectadas directamente a sangre y debe buscarse una aplicación local, como su uso dentro del sistema esquelético.

5. TIPOS DE MBGN PARA REGENERAR HUESO

Al ser nanopartículas las MBGN deberían tener un tamaño cercano o inferior a 100 nm. Sin embargo, algunos de los métodos de síntesis propuestos, que buscan una porosidad particular con potencial interés clínico, producen partículas de más de 200 nm que deberían denominarse partículas submicrométricas más que nanopartículas. En la referencia (14) se muestran las diferentes estrategias de síntesis de MBGN y las características de las nanopartículas que se obtienen en cada caso.

Si clasificamos la MBGN de acuerdo al tipo de porosidad que pueden tener, además de las que presentan mesoporosidad hexagonal análoga a las MSN, se han descrito MBGN con mesoporosidad radial (16), preparadas mediante separación por capas bifásica seguida por impregnación con calcio o MBGN con estructura núcleo-corteza, que se obtienen utilizando dos surfactantes. Este último tipo de nanopartículas, llamadas en ocasiones “huecas”, tienen



una estructura compuesta por una cáscara y un núcleo, que se consigue empleando dos tensioactivos: bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), que se utiliza para obtener el orden mesoporoso radial y un copolímero dibloque de poli(estireno)-ácido acrílico (PS-b-PAA), para obtener el núcleo y la porosidad interna (17).

La mayor parte de las MBGN investigadas tienen forma esférica y presentan una estructura ordenada de mesoporos cuyos tamaños varían con el método de síntesis, pero siempre están en la región de los mesoporos (entre 2 y 50 nm). Además, las MBGN presentan elevadas áreas superficiales y volúmenes de poros (18) que permiten cargarlas con cantidades significativas de una amplia variedad de biomoléculas y fármacos (19,20). El tamaño, la forma y la conectividad de los poros pueden ajustarse modificando los parámetros de síntesis. También se puede adaptar su reactividad modificando su superficie con diversos grupos funcionales y añadiendo iones inorgánicos con acción terapéutica (21,22). Las MBGN son robustas y estables para ejercer su función prevista y luego degradarse en el entorno biológico (23), son biocompatibles (24) y muestran altos niveles de excreción (25).

La composición de las MBGN desempeña un papel clave en su solubilidad y reactividad *in vitro* para que se produzcan procesos importantes como la formación de apatita tras sumergirlas en fluidos biológicos simulados (26). Asimismo, los iones biológicamente activos, incorporados al material, pueden añadir ciertas propiedades al material e inducir respuestas celulares específicas dependiendo del ion y de la concentración a la que se incorporen. Además de su gran potencial como nanotransportadores, las MBGN, al igual que las MSN, son excelentes candidatas para incorporar nuevos avances en nanomedicina y construir nanocomposites multifuncionales y biodegradables (27). Además, los MBGN pueden fabricarse a gran escala y presentan una amplia variedad morfológica y de funcionalización que les confiere la capacidad de utilizarse en múltiples aplicaciones biomédicas.

6.1 Síntesis de las MBGN

Las MBGN suelen sintetizarse por el método Stöber modificado basado en la química sol-gel utilizando tetraetilortosilicato (TEOS) como precursor de sílice (SiO_2) y trietilfosfato (TEP) como precursor de pentóxido de fósforo (P_2O_5). El resto de componentes del vidrio, en particular el precursor de CaO , se añaden en forma de sales inorgánicas como nitratos o cloruros. Los precursores, en las cantidades necesarias para cada composición, se añaden a una solución a base de agua, etanol e hidróxido de amonio. Al ajustar los



parámetros de síntesis (TEOS/H₂O, pH, tipo de tensioactivos, etc.) es posible modificar el tamaño, la morfología y la mesoporosidad de los MBGN. Al igual que ocurre en las MSN, la superficie de las MBGN está repleta de grupos hidroxilo (OH-) que producen fuerzas repulsivas entre las nanopartículas facilitando la formación de estructuras esféricas monodispersas (28).

Los precursores de iones metálicos se incorporan a estructura vítrea de la nanopartícula y actúan como modificadores de la red. Este proceso debe llevarse a cabo de forma controlada, ya que, de lo contrario, podría tener consecuencias negativas sobre la homogeneidad del tamaño (29), la formas regular (30) y la desintegración (13) y el aumento de tamaño de las nanopartículas. Cabe señalar que el fósforo, además de como TEP, también puede incorporarse a las MBGN en forma de ortofosfatos (PO₄³⁻). Este anión compensa su carga con los iones de calcio que se añaden en forma de nitrato y funcionan como modificadores de la red (31). Existe una cierta proporción de iones de calcio y de iones metálicos que pueden incorporarse a los MBGN para que sus parámetros se mantengan estables, ya que éstos también afectan a la morfología, composición y dispersión de las MBGN resultantes (32).

El método Stöber utiliza normalmente un tensioactivo catiónico, normalmente bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), que actúa como plantilla para generar la estructura mesoporosa ordenada (31). Los precursores de los iones metálicos (normalmente sales de nitrato) tienden a interactuar con los surfactantes catiónicos, lo que puede causar la pérdida de la mesoporosidad ordenada (33,34). La eliminación del CTAB conduce a la formación de los mesoporos característicos de los MBGN (31). Este tipo de síntesis permite incorporar especies orgánicas que actúan como agentes que dirigen la estructura o como barreras estéricas que mejoran la dispersión de las partículas. Además, estas especies orgánicas también pueden facilitar la creación de morfologías más complejas, como estructuras huecas. Mediante este método se pueden obtener diferentes tipos de nanopartículas con tamaños, mesoporosidades y formas variables (35). En este sentido, surge la posibilidad de sintetizar nanopartículas con porosidad central o radial y estructura mesoporosa tridimensional con un alto grado de accesibilidad (36), así como nanopartículas con estructura hexagonal 2D con poros longitudinalmente paralelos (estructura de panel). Además, su tamaño nos permite utilizarlas como nanotransportadores intercelulares de las sustancias que cargamos en su interior, ya que estas nanopartículas son capaces de atravesar la membrana celular y liberar su contenido en el interior de la célula (31).



6.2 MBGN como portadoras de fármacos

Las nanopartículas MSN ya se están investigando en profundidad para tratar diferentes tipos de patologías como el cáncer, las infecciones o la osteoporosis (37,38). Como se ha mencionado, una de las grandes cualidades de las nanopartículas mesoporosas es su capacidad para transportar diferentes fármacos u otras biomoléculas en el interior de sus poros (38), cualidad que también poseen las MBGN. Esto abre grandes posibilidades para tratar diferentes patologías de forma localizada. Cuando un fármaco se administra por vía sistémica, pasa al torrente sanguíneo y es transportado hasta llegar a la zona a tratar. Sin embargo, esta forma de administración presenta grandes limitaciones, especialmente en el tratamiento de patologías óseas. El hueso es un tejido con menor vascularización que otros tejidos, por lo que la vía sistémica no es la más adecuada para tratar las diferentes patologías que pueden surgir en el hueso. La utilización de nanopartículas nos permite cargar en su interior la sustancia que queremos administrar y dirigirla específicamente al lugar de la lesión. Esto supone un gran avance en medicina, ya que permite reducir las dosis empleadas, minimizar o evitar los efectos secundarios y aumentar su eficacia. Se están investigando numerosos tipos de moléculas con actividad biológica para cargar en el interior de los poros de las MBGN, entre ellas, agentes osteogénicos, fármacos antitumorales, antimicrobianos y antiinflamatorios (39).

7. COMPORTAMIENTO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE LAS MBGN

Debido a su pequeño tamaño, las MBGN pueden internalizarse en las células óseas y generar respuestas que pueden utilizarse para tratar las enfermedades del hueso (39,40). El estudio de las respuestas celulares específicas a las MBGN en tipos celulares implicados en el remodelado óseo, la osteogénesis, la angiogénesis y la respuesta inmunitaria, evidencian el alto potencial de estas nanopartículas para sistemas de administración de fármacos, reparación ósea y tratamientos de osteoporosis. Sin embargo, para la aplicación *in vivo* de cualquier tipo de nanopartícula es necesario conocer su biodistribución, la vida media en sangre, cómo será su eliminación y su posible toxicidad en los diversos tejidos y órganos. Se han realizado estudios de metabolismo sistémico y bioseguridad de las MBGN que evidencian que no hay riesgos evidentes (14). Se han realizado asimismo estudios con diferentes modelos animales para analizar los efectos de la aplicación local de MBGN *in vivo*. Estos estudios *in vivo* incluyen la implantación de MBGN en diferentes formas, como nanopartículas libres en



suspensión o formando parte de cementos y andamiajes. En este sentido, se investigaron nanopartículas huecas de biovidrio mesoporoso bioactivo cargadas con o sin ibuprofeno (IBU) para rellenar defectos óseos de 3 mm de diámetro y 3 mm de profundidad en las tibias de ratas Wistar (41). Tras cuatro semanas, se evidenció que las MBGN promovieron la osteogénesis, mientras que las IBU-MBGN favorecieron la regeneración ósea y aliviaron la inflamación local al mismo tiempo.

8. SITUACIÓN ACTUAL Y PERSPECTIVAS DE FUTURO DE LAS MBGN

El desarrollo de las MBGN está siguiendo en muchos casos el camino de las MSN, si bien éstas pueden utilizarse en una gama más amplia de aplicaciones, mientras que las MBGN se limitan principalmente a la regeneración del tejido óseo. Actualmente se sabe cómo obtener MSN de tamaño, forma y porosidad controlados y cómo mejorarlas añadiéndoles agentes vectores que las dirijan a la diana deseada, agentes silenciadores, para hacerlas invisibles a los macrófagos o puertas moleculares, para que la carga solo se libere cuando alcancen su objetivo. También se puede incluir en su composición pequeñas cantidades de iones inorgánicos, para que aporten diversas cualidades terapéuticas.

Todas estas mejoras se les pueden añadir, cuando sea necesario, a las MBGN. Precisamente cuando a las MSN se les añade altas cantidades de CaO (hasta un 32%) y pequeñas cantidades de P_2O_5 para una interacción más favorable con los tejidos óseos, pasan a denominarse MBGN, ya que su composición es análoga a la de los MBG en *bulk*. La estructura de las MBGN a escala atómica permite la inclusión en ellas de gran número de elementos inorgánicos que pueden conferirles acciones biológicas específicas como osteogénica, antimicrobiana, angiogénica, antiinflamatoria, anticancerígena, etc.

La presencia de CaO en las MBGN implica modificar el método de síntesis, ya que los iones Ca^{2+} precipitan en las condiciones de síntesis de las MSN. Además, la incorporación de calcio impide una de las principales aplicaciones de las MSN como es su inyección al torrente sanguíneo, ya que el CaO favorece la formación de trombos, si bien algunos autores están investigando su posible carácter hemostático. Por tanto, las MBGN deberían utilizarse localmente, formando andamiajes, para liberar fármacos y potenciar la bioactividad de composites y cementos óseos y dentales a los que se añadan, o bien inyectarse directamente en tejidos poco vascularizados como es el hueso.

Asimismo, se está investigando la capacidad de las MBGN de actuar como fuente de iones terapéuticos, la adsorción y liberación en las mismas de



diversos tipos de fármacos y cómo disminuir su toxicidad y facilitar su excreción. Las MBGN más prometedoras son las radiales de un tamaño próximo a 100 nm (42), cuyos canales porosos tienen forma de cono truncado en vez de cilindros y las huecas de 200 nm o más (43) cuya mesoestructura tiene una corteza porosa y un núcleo hueco que puede albergar fármacos.

9. CONCLUSIONES

Las MBGN, generalmente con forma esférica y un tamaño entre 50 y 200 nm, son una nueva herramienta terapéutica capaz de promover la regeneración ósea al tiempo que previenen o tratan procesos infecciosos y cancerosos. Se están investigando para utilizar como implantes óseos, aditivos de cementos dentales y óseos, y en sistemas inyectables, para tratar la osteoporosis, las infecciones y los tumores óseos.

Las MBGN pueden internalizarse en las células del tejido óseo y modificar favorablemente procesos como la remodelación ósea o la respuesta inflamatoria. Sin embargo, su pequeño tamaño puede conllevar efectos tóxicos, ya que pueden invadir las células circundantes y migrar por la sangre, causando daños en tejidos y órganos. Se investigan nuevos métodos de síntesis que maximicen sus efectos terapéuticos y disminuyan su toxicidad.

Las MBGN tienen un área superficial y un volumen de poros elevados y son fáciles de funcionalizar lo que les hace ideales para fines terapéuticos, diagnósticos y teranósticos. Asimismo, se están potenciando incluyendo pequeñas cantidades iones terapéuticos como el cobre, el zinc, el estroncio, el manganeso y otros.

Numerosos estudios se han centrado en sus similitudes con las MSN ya que las MBGN pueden considerarse MSN a las que se les ha añadido CaO y P₂O₅. Sin embargo, aunque se conocen numerosos aspectos del comportamiento *in vivo* de las MSN, como la influencia del método de preparación, tamaño y geometría de las nanopartículas, dosis y vías de administración, liberación controlada y gradual de silicio, etc., no existen estudios tan completos para las MBGN centrados en la importancia de sus propiedades fisicoquímicas en la regeneración ósea que puedan facilitar su traslación a la clínica.

Hasta el momento, los estudios *in vivo* realizados muestran un potencial terapéutico bajo para las MBGN. Además, todavía no se ha profundizado en su posible toxicidad y biodistribución en función de la vía de administración. Este es un aspecto esencial ya que su capacidad de liberar iones Ca²⁺ puede restringir su administración intravenosa limitándose a aplicaciones locales en tejidos poco vascularizados como el esquelético.



10. REFERENCIAS

1. Doane TL, Burda C. The unique role of nanoparticles in nanomedicine: imaging, drug delivery and therapy. *Chem. Soc. Rev.* 2012; 41: 2885-2911.
2. Vallet-Regí M, Colilla M, Izquierdo-Barba I, Manzano M. Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery: Current Insights. *Molecules* 2017; 23:47.
3. Kresge CT, Leonowicz M.E, Roth WJ, Vartuli JC, Beck JS. Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *Nature* 1992; 359: 710-712.
4. Vallet-Regí M, Rámila A, del Real RP, Pérez-Pariente J. A New Property of MCM-41: Drug Delivery System. *Chem. Mater.* 2001; 13; 308-311.
5. M. Vallet-Regí, F. Balas, D. Arcos, Mesoporous Materials for Drug Delivery, *Angew. Chemie Int. Ed.* 2007; 46: 7548-7558.
6. Doadrio AL, Salinas AJ, Sánchez-Montero JM, Vallet-Regí, M. Drug release from ordered mesoporous silicas. *Curr. Pharm. Des.* 2015; 21: 6213-6819.
7. Slowing II, Vivero-Escoto JL, Wu CW, Lin VS. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60: 1278-1288.
8. Wang Y, Zhao Q, Han N, Bai L, Li J, Liu J, Che E, Hu L, Zhang Q, Jiang T, Wang, S. Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 2015; 11: 313-327.
9. Vallet-Regí M. Our contributions to applications of mesoporous silica nanoparticles. *Acta Biomater.* 2022; 137:44-52.
10. Vallet-Regí M, Schüth F, Lozano D, Colilla M, Manzano M. Engineering mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: where are we after two decades? *Chem. Soc. Rev.* 2002; 51: 5365-5451.
11. Yan X, Yu C, Zhou X, Tang J, Zhao D. Highly ordered mesoporous bioactive glasses with superior *in vitro* bone-forming bioactivities. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2004; 12; 43:5980-4.
12. Salinas AJ, Esbrit P. Mesoporous bioglasses enriched with bioactive agents for bone repair, with a special highlight of María Vallet-Regí's contribution. *Pharmaceutics* 2022; 14: 202.
13. Vallet-Regí M, Salinas AJ. Mesoporous bioactive glasses for regenerative medicine. *Mater Today Bio.* 2021; 11:100121.
14. Wu C, Fan W, Chang J. Functional mesoporous bioactive glass nanospheres: synthesis, high loading efficiency, controllable delivery of doxorubicin and inhibitory effect on bone cancer cells. *J. Mater. Chem. B* 2013; 1: 2710-2718.
15. Arcos D, Portolés T. Mesoporous Bioactive Nanoparticles for Bone Tissue Applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24; 3249.
16. Ostomel TA, Shi Q, Tsung C-K, Liang H, Stucky GD. Spherical bioactive glass with enhanced rates of hydroxyapatite deposition and hemostatic activity. *Small* 2006; 2: 1261.
17. Du X, Qiao SZ, Dendritic Silica Particles with Center-Radial Pore Channels Promising Platforms for Catalysis and Biomedical Applications. *Small* 2015; 11: 392-413.



18. Li Y, Bastakoti BP, Yamauchi Y. Smart soft-templating synthesis of hollow mesoporous bioactive glass spheres, *Chem. A Eur. J.* 2015; 21: 8038-8042.
19. Xie W, Chen X, Li Y, Miao G, Wang G, Tian T, Zeng L, Chen S. Facile synthesis an *in vitro* bioactivity of radial mesoporous bioactive glass with high phosphorous and calcium content. *Adv. Powder. Technol.* 2020; 31: 3307.
20. El-Fiqi A, Kim J-H, Kim H-W. Osteoinductive Fibrous Scaffolds of Biopolymer /Mesoporous Bioactive Glass Nanocarriers with Excellent Bioactivity and Long- Term Delivery of Osteogenic Drug. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2015; 7:1140.
21. (20) Jiménez-Holguín J, Sánchez-Salcedo S, Cicuéndez M, Vallet-Regí M, Salinas AJ. Cu-Doped Hollow Bioactive Glass Nanoparticles for Bone Infection Treatment. *Pharmaceutics.* 2022; 14:845.
22. Sánchez-Salcedo S, Heras C, Lozano D, Vallet-Regí M, Salinas AJ. Nanodevices based on mesoporous glass nanoparticles enhanced with zinc and curcumin to fight infection and regenerate bone. *Acta Biomater.* 2023; 166: 655-669.
23. Ganem GCA, Oliveira LFM, Pagan BM, Okamoto S, Lopes JH. Unlocking the potential of multicomponent mesoporous bioactive glass nanoparticles: An approach to enhanced ion therapy. *J. Non-Cryst. Solids* 2022; 638: 123059.
24. Aguilar-Rabiela AE, Leal-Egaña A, Nawaz Q, Boccaccini AR. Integration of Mesoporous Bioactive Glass Nanoparticles and Curcumin into PHBV Microspheres as Biocompatible Composite for Drug Delivery Applications. *Molecules.* 2021; 26: 3177.
25. Kurtuldu F, Mutlu N, Michálek M, Zheng K, Masar M, Liverani L, Chen S, Galusek D, Boccaccini AR. Cerium and gallium containing mesoporous bioactive glass nanoparticles for bone regeneration: Bioactivity, biocompatibility and antibacterial activity. *Mater. Sci. Eng. C* 2021; 124: 112050.
26. Sui B, Zhong G, Sun J. Drug-loadable Mesoporous Bioactive Glass Nanospheres: Biodistribution, Clearance, BRL Cellular Location and Systemic Risk Assessment via ⁴⁵Ca Labelling and Histological Analysis. *Sci. Rep.* 2016; 6: 33443.
27. Bahati D, Bricha M, El Mabrouk K. Synthesis, characterization, and *in vitro* apatite formation of strontium-doped sol-gel-derived bioactive glass nanoparticles for bone regeneration applications. *Ceram. Int.* 2023; 49: 23020-23034.
28. Li S, Wu X, Chen J, Wang J, Gong L, Ni J, Xi S, Zhang H, Fu H, Shou, Q. Mesoporous bioactive glass nanoparticles with biomineralization activity for surgical hemorrhage control. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2023; 24: 2279030.
29. Firuzeh M, Labbaf S, Sabouri Z. A facile synthesis of mono-dispersed, spherical and mesoporous bioactive glass nanoparticles for biomedical applications. *J. Non-Cryst. Solids* 2021; 554: 120598.
30. Oliveira AAR, Souza DA, Dias LLS, Carvalho SM, Mansur HS, Magalhães Pereira M. Synthesis, characterization and cytocompatibility of spherical bioactive glass nanoparticles for potential hard tissue engineering applications, *Biomed. Mater.* 2013; 8: 025011.



31. Labbaf S, Tsigkou O, Müller KH, Stevens MM, Porter AE, Jones J.R. Spherical bioactive glass particles and their interaction with human mesenchymal stem cells *in vitro*. *Biomaterials* 2011; 32: 1010-1018.
32. Vichery C, Nedelec JM. Bioactive Glass Nanoparticles: From Synthesis to Materials Design for Biomedical Applications. *Materials (Basel)* 2016; 9: 288.
33. Zheng K, Dai X, Lu M, Hüser N, Taccardi N, Boccaccini AR. Synthesis of copper-containing bioactive glass nanoparticles using a modified Stöber method for biomedical applications. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2017;1 50: 159-167.
34. Yun H, Kim S, Lee S, Song I. Synthesis of high surface area mesoporous bioactive glass nanospheres, *Mater. Lett.* 2010; 64: 1850-1853.
35. Li Y, Chen X, Ning C, Yuan B, Hu Q, Facile synthesis of mesoporous bioactive glasses with controlled shapes. *Mater. Lett.* 161 (2015) 605-608.
36. Rahikkala A, Pereira SAP, Figueiredo P, Passos MLC, Araújo ARTS, Saraiva MLMFS, Santos HA. Mesoporous Silica Nanoparticles for Targeted and Stimuli-Responsive Delivery of Chemotherapeutics: A Review. *Adv. Biosyst.* 2018; 2: 1800020.
37. Du X, Qiao SZ, Dendritic Silica Particles with Center-Radial Pore Channels: Promising Platforms for Catalysis and Biomedical Applications, *Small.* 11 (2015) 392-413.
38. Mora-Raimundo P, Manzano M, Vallet-Regí M, Nanoparticles for the treatment of osteoporosis, *AIMS Bioeng.* 2017; 4: 259-274.
39. Gisbert-Garzarán M, Manzano M, Vallet-Regí M. Mesoporous Silica Nanoparticles for the Treatment of Complex Bone Diseases: Bone Cancer, Bone Infection and Osteoporosis, *Pharmaceutics* 2020; 12: 83.
40. Casarrubios L. Polo-Montalvo A, Serrano MC, Feito MJ, Vallet-Regí M, Arcos D, Portolés MT. Effects of ipriflavone-loaded mesoporous nanospheres on the differentiation of endothelial progenitor cells and their modulation by macrophages. *Nanomaterials* 2021; 11: 1102.
41. Meng L, Zhao P, Jiang Y, You J, Xu Z, Yu K, Boccaccini AR, Ma J Zheng, K. Extracellular and intracellular effects of bioactive glass nanoparticles on osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells and bone regeneration in zebrafish osteoporosis model. *Acta Biomater.* 2024; 174: 412-427.
42. Wang Y, Pan H, Chen X. The preparation of hollow mesoporous bioglass nanoparticles with excellent drug delivery capacity for bone tissue regeneration. *Front. Chem.* 2019; 7: 283.
43. Liang Q, Hu Q, Miao G, Yuan B, Chen X. A facile synthesis of novel mesoporous bioactive glass nanoparticles with various morphologies and tunable mesostructure by sacrificial liquid template method. *Mater. Lett.* 2015; 148: 45-49.
44. Bastakoti BP, Bhattarai N, Ashie MD, Tettey F, Yusa S-i, Nakashima K. Single-Micelle-Templated Synthesis of Hollow Barium Carbonate Nanoparticle for Drug Delivery. *Polymers*; 2023; 15:1739.



CONCLUSIONES

Nanomateriales y Nanomedicina

María Vallet Regí

Antonio J. Salinas



La *nanotecnología* está mejorando nuestra calidad de vida y su desarrollo se basa en las novedosas propiedades de los *nanomateriales*. Sin embargo, el uso masivo de nanomateriales puede producir efectos tóxicos. Por eso se están realizando estudios toxicológicos para elaborar normas que garanticen un uso seguro.

La *nanomedicina*, que aplica la nanotecnología y los nanomateriales al campo de la salud, mejora los tratamientos médicos, facilita la liberación controlada de fármacos, permite terapias avanzadas como la hipertermia para tratar el cáncer y puede utilizarse en dispositivos médicos como los *biosensores*.

Las *nanomedicinas* pueden transportar fármacos de forma selectiva, en cantidades muy elevadas, y hacer que permanezcan más tiempo en el lugar de acción. Son muchas las variables que determinan su eficacia y seguridad, pero este aspecto abre un amplio abanico de posibilidades para optimizar y personalizar los tratamientos.

Los *nanotransportadores* pueden atravesar barreras biológicas, proteger el fármaco y dirigirlo a los órganos o tejidos que se desea. La creciente disponibilidad de biomateriales que responden a estímulos ofrece un gran potencial para regular el perfil de liberación de fármacos.

El desarrollo de nuevas *nanomedicinas* y *nanosimilares* exige comprender el efecto de las variables fisicoquímicas en los nanotransportadores, así como las diferencias entre los modelos animales y los humanos. Además, es esencial monitorizar la capacidad de respuesta *in vivo*, ya que el ajuste on/off de la liberación del fármaco al inicio/desaparición del estímulo requiere una buena sensibilidad y una respuesta predecible y reproducible.

La combinación de agentes diagnósticos y terapéuticos en una estructura nanométrica permite abordar simultáneamente el diagnóstico por imagen de patologías, la vectorización de tratamientos y la evaluación de su eficacia en tiempo real. La *nanoteranosis* busca identificar rápidamente la estrategia terapéutica más adecuada.

Los avances en teranóstica, recubrimientos bioinspirados y capacidades de propulsión y focalización abren nuevos campos de conocimiento en *medicina personalizada*. Las nanoterapias son un enfoque prometedor para tratar el cáncer superando los mecanismos de resistencia a los fármacos y las barreras físicas del entorno tumoral.

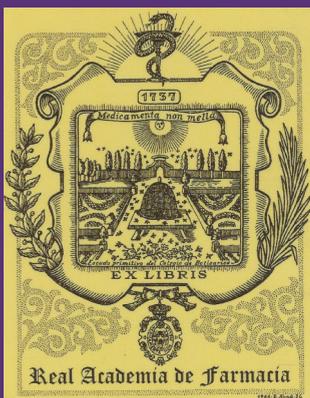


Los *agentes de contraste* nanoestructurados se acumulan en mayor cantidad y tienen una permanencia más prolongada en la zona de la lesión, al tiempo que sirven como agentes terapéuticos que pueden activarse mediante estímulos físicos externos.

Los *modelos 3D in vitro* mejoran el diseño y la validación de nanoterapias a nivel preclínico al generar un entorno que simula mejor la heterogeneidad celular y las barreras de los tumores sólidos. Esto acelera y mejora la validación de nuevas nanoplataformas, lo que conduce al descubrimiento de terapias contra el cáncer más eficaces. Además, estos modelos pueden servir como sistemas analíticos de alto rendimiento y reducir el empleo de modelos animales.

Las nanopartículas basadas en vidrios mesoporosos que contienen óxidos de silicio, de calcio y de fósforo favorecen la *remodelación ósea* al tiempo que previenen y tratan infecciones y tumores óseos. Se investigan para tratar la osteoporosis y como aditivos de cementos óseos. Se tratan de mejorar añadiendo moléculas osteogénicas, células y óxidos de elementos con acción biológica como cobre, zinc o estroncio.

Los avances en nanomateriales han hecho evolucionar de un planteamiento de “una inyección para múltiples tratamientos” a otro más avanzado: “una inyección que permite diagnósticos y tratamientos personalizados, con mayor seguridad y eficacia”. A pesar de los retos, la evidencia científica de las ventajas de las nanomedicinas, junto con la amplia gama de nanomateriales con los que pueden prepararse, las hace idóneas para los tratamientos personalizados y están impulsando un aumento de los ensayos clínicos, lo que las llevará a ocupar una posición cada vez más relevante en el arsenal terapéutico.



MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES