

TOMO 58
Número 9
Noviembre
2005

FUNDADOS POR E. PEREZ CASTRO, A. PUIGVERT GORRO Y
L. CIFUENTES DELATTE

Director / Editor: E. Pérez-Castro Ellendt

Editor Asociado: L. Martínez-Piñeiro Lorenzo



José Gabriel Valdivia Uría

- Servicio de Urología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España
- Profesor Titular y Jefe de Servicio de Urología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza.
- Miembro del Grupo de Investigación Aplicada en Técnicas Mínimamente Invasivas.
- Miembro Fundador del Instituto Universitario de Investigación en Nanociencias de Aragón.

J. G. Valdivia Uría
Urbanización Santa Fe, calle 4ª, nº 13
Cuarte de Huerva 50411
Zaragoza. (España)
e-mail: valdivia@unizar.es

Nanotecnología, Medicina y Cirugía Mínimamente Invasiva

EDITORIAL

En el momento actual, los médicos somos conscientes de que el escenario real donde se desarrolla una enfermedad subyace a nivel celular y molecular, aunque la expresión de la misma sea a través de unos síntomas o signos clínicos, no siempre específicos, que en cualquier caso nos sirven para dar nuestros primeros pasos en la integración diagnóstica.

Con los medios tecnológicos actualmente disponibles podríamos llegar a ser capaces de objetivar - a escala nanométrica - los trastornos responsables de algunas enfermedades, pero sin embargo contamos con muy escasos medios como para poder repararlos selectivamente.

La terapia farmacológica, que desde el punto de vista teórico sería la que tendría más posibilidades de poder hacerlo, tiene el inconveniente de que su efecto es casi siempre sistémico, con lo que la dosis administrada se reparte por todo el organismo. Esto da lugar a una notoria reducción de la efectividad y a un aumento de los efectos secundarios no deseados.

La moderna cirugía, por muy mínimamente invasiva que pueda parecernos, resulta aún enormemente desproporcionada y agresiva en la inmensa mayoría de los casos en los que se aplica, y hoy por hoy resulta casi impensable el poder aplicarla a escala molecular.

EDITORIAL

El éxito de las intervenciones quirúrgicas que realizamos habitualmente no sólo se debe a nuestra destreza manual, sino a la propia habilidad que tienen las células de corregir los destrozos que hemos ocasionado, eliminando los detritus, revascularizando áreas isquémicas y cicatrizando los tejidos. Pero para que ello suceda - a una escala inferior, a nivel molecular - tienen que producirse innumerables procesos bioquímicos, asombrosamente precisos y coordinados, de los que pocas veces somos realmente conscientes.

La llamada Nanomedicina nos está permitiendo ya algunas incursiones diagnósticas en este campo que se nos anuncia más que prometedor. Sírvanos como ejemplos el empleo de los nanoarrays en el rastreo genético de ciertas enfermedades, o el uso de nanopartículas como nuevos medios de contraste en ecografía o resonancia magnética nuclear.

Pero antes de seguir adelante, permítanme hacer algunas precisiones conceptuales y comentarios que nos ayudarán a comprender mejor el mensaje de este editorial.

La nanotecnología podríamos definirla, de una manera muy simplista, como el campo científico que examina y fabrica objetos a nivel molecular. En realidad, es un campo multidisciplinar que se sirve de un amplio conjunto de aparatos y dispositivos derivados de la ingeniería, biología, física y de la química (1). En este mismo contexto, la nanomedicina sería la aplicación de la nanotecnología a la medicina.

No obstante, incluso a los cirujanos (urólogos) que realizamos cirugía de mínima invasión (CMI), y que por tanto trabajamos en la frontera de los campos macro y microscópicos, se nos hace ciertamente difícil imaginarnos el tamaño real que tiene un "nanómetro", y que es el de una millonésima parte de un milímetro.

Debemos de tener en cuenta que etimológicamente la palabra "cirugía" proviene de dos raíces griegas cheir que significa mano y urgòs obra; por tanto podría definirse a la cirugía como la rama de la medicina cuya terapéutica se basa en la intervención manual ayudada por aparatos e instrumentos. Nuestros instrumentos se han perfeccionado mucho y tienden a miniaturizarse cada vez más, pero aún no hemos podido utilizar ninguno a escala nanoscópica. Sin embargo, los físicos sí que tienen instrumentos con los que son capaces de manipular incluso hasta los átomos. Modulando el voltaje que llega a la punta de los microscopios de fuerza atómica (parecidos a los microscopios de efecto túnel, pero con la ventaja de que pueden trabajar en muestras no conductoras, como las biológicas) se consigue no sólo ver los átomos, sino también moverlos, colocarlos y manipularlos.

Pero hasta que los cirujanos podamos manipular con instrumental nanoscópico, la cirugía que practiquemos seguirá considerándose como una suma de agresiones calculadas con repercusiones a nivel local (herida) o general (coma anestésico, depresión inmunológica, trastornos psicósomáticos, etc) e irá cargada de un conjunto de daños que seguiremos asumiendo como "inevitables" (2).

Aunque con la CMI se consiguen evitar todas o casi todas las lesiones inherentes a la vía de abordaje, utilizando para ello las vías naturales o punciones percutáneas, las modernas fuentes de energía de aplicación extracorpórea tienden progresivamente a remplazarla. Esto ha ocurrido ya con la litotricia por ondas de choque extracorpóreas y empieza a pasar con otras modernas terapias de ablación tisular y que constituirán el futuro de la exéresis atraumática (ultrasonidos focalizados de alta intensidad, piroterapia focalizada piezoeléctrica, etc). La selectividad y eficacia de algunas de estas técnicas estará muy directamente relacionada con el uso combinado de nanopartículas de hierro, sílice u otros nanomateriales biocompatibles.

EDITORIAL

¿Qué papel juega actualmente la nanomedicina y qué se espera de ella en las próximas décadas? Sus aportaciones abarcan tanto los campos del diagnóstico como de la terapéutica. La nanomedicina nos está proporcionando ya diagnósticos sumamente precisos.

Mediante nanopartículas superparamagnéticas (partículas que responden a un campo magnético pero no quedan magnetizadas al desaparecer éste) se ha hecho posible la separación inmunomagnética de células, de organelas, el aislamiento del RNA mensajero de células muy específicas, el análisis del DNA (con fines clínicos o forenses), el aislamiento y purificación de proteínas, etc. (3).

En un escenario ideal, empieza a ser posible por ejemplo el detectar mediante screening los cambios iniciales que se producen en la malignización de las células. En efecto, la inyección intravascular de "nanovectores" (nanoestructuras sólidas o huecas con un diámetro entre 1 y 1000 nanómetros) permite la visualización no invasiva e *in-vivo* de ciertos marcadores moleculares, pudiendo detectarse así, en fases muy precoces, muchas enfermedades.

En este mismo sentido se están empleando nanopartículas "inteligentes" para estudiar la actividad de la telomerasa. A nivel experimental y gracias también a nanopartículas marcadas con integrinas se ha conseguido obtener imágenes de la angiogénesis mediante RMN. Igualmente se están utilizando nanopartículas de óxido de hierro, conjugadas con anexina-V que a su vez es capaz de reconocer a la fosfatidilserina presente en la células con apoptosis, para estudiar *in vitro*, mediante RMN la apoptosis celular inducida. Este campo tiene y tendrá muchas otras más aplicaciones clínicas, especialmente en el estudio del cáncer.

Por otra parte, a nadie le sorprende ya, y se han incorporado como un elemento de trabajo casi rutinario en nuestros laboratorios los llamados "microarrays". Éstos también se están utilizando cada vez más en el diagnóstico molecular y en el tipado genético, lo que está haciendo posible el estudio de la predisposición genética a padecer determinadas enfermedades, incluyendo las neoplásicas.

Actualmente, con la posibilidad de controlar las aposiciones moleculares (a un rango nanométrico) se ha hecho posible incrementar en un millón la densidad de capas de información integrada en los llamados "nanoarrays". Esta información, basada en la lectura de nanopartículas fluorescentes está especialmente orientada al estudio ultrasensible de las alteraciones de los ácidos nucleicos o a la detección de perfiles proteómicos (4).

Los llamados "quantum dots" (nanopartículas semiconductoras recubiertas con un polímero inerte) bioconjugadas con anticuerpos marcados se utilizan como sensores ópticos, para reconocer visualmente la presencia de determinadas moléculas en células vivas, (5).

Existen también sensores biomoleculares de detección masiva, capaces de detectar al mismo tiempo un gran número de diferentes moléculas proteómicas del suero o tejidos, y se utilizan para el diagnóstico, pronóstico y monitorización terapéutica de determinados cánceres, entre ellos, el cáncer prostático. Estos multisensores se basan en los llamados micro o "nanocantilever arrays" que consisten en un gran número de micro o "nanopalanca" capaces de sufrir una deflexión cuando se fijan a ellas determinadas biomoléculas. Estas deflexiones son analizadas mediante luz láser, (6, 7).

Los "nanoalambres" de silicona son otros sensores biomoleculares de detección masiva y simultánea. Operan como biotransistores de efecto campo a escala nanométrica, dando a conocer mediante cambios en su conductancia, las posibles fijaciones de determinadas moléculas en su superficie (8). Entre sus aplicaciones prácticas está la posibilidad de detectar diferentes tipos de virus. Para la detección molecular in vivo se empiezan a utilizar a nivel experimental sensores implantables, equipados con una tecnología capaz de enviar la información al exterior del organismo. No obstante estos sensores implantados tienen aún el inconveniente de que muy pronto se hacen inservibles por la adsorción inespecífica de proteínas séricas.

También los "nanotubos" de carbono han sido utilizados como sensores altamente específicos de los anticuerpos responsables de ciertas enfermedades autoinmunes (9).

Los "nanofiltros" fabricados en chips de silicona, con poros que oscilan entre rangos de 5 y 100 nanómetros se están utilizando para separación de moléculas, transporte y entrega controlada de fármacos, inmunoaislamiento de células y para el transporte y caracterización del DNA (10, 11).

Otro gran campo de aplicaciones de la nanotecnología diagnóstica viene de la mano de los nuevos medios de contraste. Se están utilizando ya en estudios clínicos diversas nanopartículas como medio de contraste en resonancia magnética nuclear (RMN). Además de las basadas en gadolinio se están utilizando nanopartículas basadas en óxido de hierro y más recientemente medios de contraste basados en nanoagentes multimodales capaces de mejorar la imagen de la RMN, marcado biológico y detección óptica, (12), (13). Así, mediante nanopartículas de óxido de hierro (utilizadas como contraste en RMN) conjugadas con un fluorocromo detectable ópticamente mediante luz infrarroja se puede diagnosticar, por ejemplo, un tumor cerebral y visualizar sus márgenes quirúrgicos intraoperatoriamente.

Experimentalmente se han conseguido visualizar mediante RMN micrometástasis de tumores de mama utilizando medios de contraste basados en dendrímeros, (14).

En ecografía se están usando como medio de contraste nanopartículas lipídicas de baja densidad, (15). Según el tipo de patología a explorar es posible desarrollar nanopartículas capaces de incrementar la señal ecogénica y al mismo tiempo actuar como marcadores biológicos.

En nuestra especialidad, la nanotecnología ha logrado una de las mejores aportaciones al estadiaje clínico del cáncer de próstata, y que incomprensiblemente no ha tenido la difusión que merece. Weissleder et al. (16) demostraron que el linfotropismo de las nanopartículas paramagnéticas hacía posible detectar mediante RMN metástasis linfáticas ocultas en el cáncer de próstata. Sus trabajos se han visto confirmados muy recientemente en un estudio multicéntrico, de carácter prospectivo, realizado sobre un total de 80 pacientes. Este estudio demostró que este método incrementa la sensibilidad de la RMN del 45,4 % al 100 %, con una especificidad del 95,7 %, (17).

Las aplicaciones terapéuticas de la nanomedicina están en una fase de desarrollo menos avanzado que sus aplicaciones en el campo diagnóstico.

A nivel experimental se ha ensayado con éxito un nuevo método de depuración sanguínea extracorpórea, especialmente útil para tratar intoxicaciones. Se trata de la incorporación de nanopartículas magnéticas adsorbentes a la sangre que pasa por un corto circuito extracorpóreo. La gran extensión de

EDITORIAL

la capa carbonosa que recubre las partículas férricas adsorbe las toxinas de la sangre, y un campo magnético situado al final del circuito atrapa las partículas antes de que reingrese la sangre al torrente circulatorio. Este procedimiento aventaja a la hemodiálisis, la hemoperfusión y a la ultrafiltración en el tratamiento de las intoxicaciones, (18p). Téngase en cuenta que un solo gramo de carbón tiene una superficie de 3000 metros cuadrados.

El empleo de nanovectores como elementos de transporte selectivo de fármacos es otro de los campos de aplicación terapéutica más prometedores de las nanopartículas.

Estos nanovectores constan de tres partes: un núcleo o corazón, una carga terapéutica y unos modificadores biológicos de su superficie que hacen posible el direccionamiento hacia una diana (mediante uno o varios anticuerpos conjugados), el aumento de la permeabilidad del endotelio vascular y la defensa contra los macrófagos (capa de polietilenglicol).

La ventaja de utilizar nanovectores sobre simples drogas marcadas con anticuerpos radica en la posibilidad de poder entregar selectivamente en un determinado punto, grandes dosis de un fármaco. Los "liposomas" (tipo de nanovectores formados por capas de lípidos envolviendo un núcleo de agua) fueron los primeros nanovectores que se utilizaron para vehicular la quimioterapia en el sarcoma de Kaposi, de esto hace ya más de 10 años, y ahora se utilizan en la quimioterapia del cáncer de mama y en el tratamiento del cáncer de ovario refractario, (18).

Se está ensayando el encapsulado de nanopartículas magnéticas en liposomas cargados de anticuerpos anti VIH. Su posterior inyección por vía intravenosa y ulterior calentamiento a 50° – 60° C mediante campos externos de inducción magnética podría ser una forma de eliminar selectivamente a este virus, (19, 20).

Una versión mucho más sofisticada de los nanovectores serán los llamados nanorobots, los cuales de momento sólo existen en la mente y en los ordenadores de los científicos que los diseñan, ya que aún no se ha llegado a construir y utilizar ninguno. Los virus son el modelo a emular en el diseño de los nanorobots, aunque éstos tendrán unas dimensiones que oscilarán entre 0,5 y 3 micras con el fin de que puedan circular libremente por el torrente sanguíneo (los capilares más finos del pulmón tienen 8 micras). Las principales aplicaciones que se pretende dar a los nanorobots son: la reparación tisular, el tratamiento de determinadas enfermedades genéticas, del SIDA y especialmente del cáncer.

Los nanorobots estarán ensamblados con carbono (en forma de diamante o de fullereno), hidrógeno, oxígeno, flúor y sílice y estarán diseñados para realizar tareas muy específicas, motivo por el cual no será necesario que dispongan de inteligencia artificial, y sí en cambio un sistema de comunicación bidireccional con el exterior, a través de una unidad central.

Uno de los proyectos más espectaculares de nanorobots con fines terapéuticos ha sido diseñado por Robert A Freitas Jr, (21). Se trata del llamado "respirocito" o glóbulo rojo artificial. Este robot mide una micra, es esférico y está constituido por 18 billones de átomos, casi todos de carbono y dispuestos como diamante. Es un verdadero tanque presurizado que puede albergar hasta 9 billones de moléculas de oxígeno y anhídrido carbónico, a una presión de 1000 atmósferas. Dispone de sensores, de forma que libera o absorbe oxígeno o anhídrido carbónico según sean las presiones parciales de estos gases en su entorno. Puede distribuir hasta 236 veces más oxígeno por unidad que un glóbulo rojo.

En el momento actual los experimentos con sangre artificial en emulación virtual y en animales de experimentación están dando resultados muy prometedores.

En el Instituto de Nanociencias de Aragón estamos desarrollando una novedosa forma de vehiculación de fármacos hacia órganos diana, en nuestro caso el riñón. Nos servimos de nanopartículas magnéticas de óxido de hierro, recubiertas por carbono, embebidas con doxorubicina e inyectadas intravenosamente en una solución de gelifundina. Previamente implantamos por vía laparoscópica en uno de los riñones de los animales de experimentación (conejos de raza neozelandés) un imán permanente recubierto de oro. Los animales se sacrifican en distintos periodos de tiempo y se examinan histológicamente diversos órganos. Nuestros primeros resultados son muy esperanzadores, pues aunque el sistema retículo endotelial se apodera de una parte de las nanopartículas, se obtienen unas concentraciones significativamente más altas de nanopartículas en las inmediaciones de la zona del implante (22).

La nanomedicina no es pues una entelequia, sino una realidad palpable, con una fuerte expansión en todos los campos y un sinnúmero de aplicaciones a las que los urólogos no debemos permanecer ajenos.

BIBLIOGRAFÍA y LECTURAS RECOMENDADAS (*lectura de interés y **lectura fundamental)

- **1. FERRARI, M.: "Cancer nanotechnology: opportunities and challenges". *Nature Reviews*, 5: 161, 2005.
2. VALDIVIA, J.G.: "Cirugía mínimamente invasiva: concepto, contenido, límites y posibilidades". Valdivia Uría J G (Ed) *Cirugía Mínimamente Invasiva en Urología*. ENE Ediciones. Madrid 1993.
3. BOSNES, M.; DEGGERDAL, A.; RIAN, A. y cols.: "Magnetic separation in molecular biology". Häfeli U, Schütt W, Teller J, Zborowski M (Ed), *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*. Plenum Press, New York, 1997.
4. LEE, K.B. y cols.: "Protein nanoarrays generated by dip-pen nanolithography". *Science*, 295: 1702, 2002.
5. JAISWAJ, K.; SIMON, S.M.: "Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates". *Nature Biotechnol.*, 21: 47, 2003.
6. HANSEN, K.M. y cols.: "Cantilever-based optical deflection assay for discrimination of DNA single-nucleotide mismatches". *Anal Chem.*, 73: 1567, 2001.
- *7. WU, G. y cols.: "Bioassay of prostate-specific antigen (PSA) using microcantilevers". *Nature Biotechnol.*, 19: 856, 2001.
8. CUI, Y.; QINGQIAO, W.; HONGKUN, P. y cols.: "Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species". *Science*, 293: 1289, 2001.
9. CHEN, R.J.; HONGJIE, D.: "Noncovalent functionalization of carbon nanotubes for highly specific electronics biosensors". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100: 4984, 2003.
10. DESAI, T.A. y cols.: "Microfabricated microcapsules provide short-term immunoisolation of insulinomaxenografts". *Biomed. Microdevices*, 1: 131, 1999.
11. MELLER, A.; BRANTON, D.: "Single molecule measurement of DNA transport through a nanopore". *Electrophoresis*, 23: 2583, 2002.
12. NEUWALT, E.A. y cols.: "Imaging of iron oxide nanoparticles with MR and light microscopy in patients with malignant brain tumors". *Neuropathol Appl Neurobiol*, 5: 456, 2004.
13. BERGEY, E.J.; PRASAD, P.N.: "DC magnetic field induced magnetocytolysis of cancer cells targeted by LH-RH magnetic nanoparticles in vitro". *Biomed Microdevices*, 4: 293, 2002.
14. KOBAYASHI, H.; CHOYQUE, P.L.; BRECHOBIEL, M.W. y cols.: "Lymphatic drainage"

EDITORIAL

- ge imaging of breast cancer in mice by magnetic resonance. Lymphangiography using a nano sized paramagnetic contrast agent". *J. Natl. Cancer Inst.*, 96: 703, 2004.
- *15. BLOCH, S.H.; WAN, M.; DAYTON, P.A. y cols.: "Optical observation of lipid and polymer-shelled ultrasound microbubble contrast agents". *Appl. Phys. Lett.*, 84: 631, 2004.
- *16. WEISSLEDER, R.; ELIZONDO, G.; WITTENBERG, J. y cols.: "Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: an intravenous contrast agent for assessing lymph nodes with MR imaging". *Radiology*, 175: 494, 1990.
- **17. HARISINGHANI, M.G.; BARENTSZ, J.; HAHN, P.F. y cols.: "Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer". *N. Engl. J. Med.*, 348: 2491, 2003.
- *18. KUTUSHOV, M.V.; KUZNETZOV, A.A.; FILIPPOV, V.I. y cols.: "New method of biological fluid detoxification based on magnetic adsorbents". Häfeli U, Schütt W, Teller J, Zborowski M (Ed), *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*. Plenum Press, New York, 1997.
- *19. PARK, J.W.: "Liposome-based drug delivery in breast cancer treatment". *Breast Cancer Res.*, 4: 95, 2002.
20. MÜLLER-SCHULTE, D.; FÜSSL, F.; LUENKEN, H. y cols.: "A new AIDS therapy approach using magnetoliposomes". Häfeli U, Schütt W, Teller J, Zborowski M (Ed), *Scientific and clinical applications of magnetic carriers*. Plenum Press, New York, 1997.
- **21. FREITAS, R.A.Jr.: "Exploratory design in medical nanotechnology: A mechanical artificial red cell". *Biotech.*, 26: 411, 1998.
22. VALDIVIA, J.G.; IBARRA, M.R.; GUTIÉRREZ, M. y cols.: "Oncoterapia inducida mediante nanopartículas magnéticas quimioportadoras y focalizadas hacia dianas ferromagnéticas intratumorales implantadas percutáneamente". Proyecto de investigación multidisciplinar, financiado por la Diputación General de Aragón, 2004