

Implementación de las nanopartículas en aplicaciones de diagnóstico

Implementation of nanoparticles in diagnostic applications

Palabras clave:
Nanodiagnóstico, Nanopartícula,
Nanodispositivos, Nanosistemas.

Yehidi Julieth Medina Castillo¹

Daniel Llamosa Pérez²

Mónica Losada Barragán³



¹ Estudiante del pregrado de Bioquímica de la Universidad Antonio Nariño. Sus intereses investigativos se enfocan en el desarrollo de nanopartículas como agentes de contraste para el diagnóstico de enfermedades.

ymedina17@uan.edu.co

El nanodiagnóstico es un proceso que puede generar un aporte a la medicina de forma in vivo o in vitro. Las nanopartículas permiten brindar un diagnóstico rápido, preciso y en un tiempo adecuado, lo que permite detectar el inicio de la enfermedad y así acceder a un tratamiento más rápido y adecuado.

² Ingeniero Físico. Tiene una maestría y un doctorado en materiales avanzados y nanotecnologías de la Universidad Autónoma de Madrid. Profesor investigador de la Universidad Antonio Nariño. Dentro de sus trabajos se encuentran el desarrollo de un sistema de bioimpedancia eléctrica, síntesis y caracterización de materiales multiferroicos, así como la ingeniería de nanomateriales. Además, sus áreas de interés son la biofísica y la ciencia de materiales. dllamosa@uan.edu.co

³ Docente investigadora, su trayectoria abarca las áreas de biología celular y molecular, bioquímica, parasitología e inmunología. Sus mayores aportes incluyen el trabajo con cultivos celulares in vitro y de modelo animal, enfocados en el estudio de enfermedades infecciosas y su relación con el sistema inmune en diferentes contextos nutricionales. Otra de las líneas de investigación de su interés es la aplicación de nuevas herramientas de diagnóstico para enfermedades neurodegenerativas e infecciosas. monica.losada@uan.edu.co

Resumen

El nanodiagnóstico se orienta a la identificación de enfermedades en sus estudios iniciales a nivel celular o molecular, e idealmente al nivel de una sola célula, mediante la utilización de nanodispositivos y sistemas de contraste. Esta herramienta proporciona un valioso aporte a la medicina, ya que permite un diagnóstico más rápido y exacto brindando la posibilidad de dar un tratamiento oportuno y adecuado. En este sentido, la nanotecnología permite obtener una comprensión fundamental de fenómenos biológicos a escala nanométrica. Con la implementación de esta nueva tecnología es posible crear y manipular dispositivos y sistemas con nuevas propiedades y funciones, originados por su tamaño nanométrico. Esta rama ha influenciado el área de la salud, cuyo principal objetivo es desarrollar herramientas que permitan diagnosticar, prevenir y tratar enfermedades. Patologías que pueden ser detectadas en su etapa inicial para así poder actuar de forma oportuna.

Summary

Nanodiagnosis allows the identification of diseases in their initial studies at the cellular or molecular level, and ideally at the level of a single cell, through the use of nanodevices and contrast systems. This tool provides a valuable contribution to medicine, since it allows a faster and more accurate diagnosis, offering the possibility of giving a timely and adequate treatment. Nanotechnology provides a fundamental understanding of biological phenomena at the nano-scale. With the implementation of this new technology, it is possible to create and manipulate devices and systems with new properties and functions, originated by their nanometric size. This branch has influenced the area of health, whose main objective is to develop tools to diagnose, prevent and treat diseases. Pathologies that can be detected in their initial stage and thus be able to act in a timely manner.

Esta rama ha influenciado el área de la salud, cuyo principal objetivo es desarrollar herramientas que permitan diagnosticar, prevenir y tratar enfermedades

Introducción

La nanotecnología es la aplicación de la ciencia y la ingeniería a escala atómica orientada a estudiar el diseño, síntesis, caracterización y aplicación de materiales y dispositivos en nanoescala. Por consiguiente, se ha convertido en un área estratégica de la investigación altamente competitiva, con un rápido crecimiento y un considerable potencial económico en diversos campos, como lo son la medicina, la biología, la química, los materiales, la energía y el medio ambiente (Lee et al., 2012).

Existen múltiples aplicaciones tecnológicas de los nanomateriales, pero es notable que en el campo de la biomedicina se depositen las mayores esperanzas en usos novedosos. Esta nueva área puede monitorizar, reparar, construir y controlar, componentes y funciones biológicas del organismo mediante el uso de sistemas en la nanoescala. Además, la denominada nanomedicina representa el punto donde la nanotecnología y la medicina confluyen para generar oportunidades que permitan llevar a cabo la mejora de nuevos tratamientos ya existentes (Bárcena et al., 2009; Calero, 2015; Lee et al., 2012).

La nanomedicina aborda tres áreas principales: el nanodiagnóstico, la nanoterapia y la medicina regenerativa. En el área de nanodiagnóstico, las principales contribuciones se llevan a cabo por medio de nanodispositivos y sistemas de contraste, allí se emplean nanopartículas semiconductoras, metálicas o magnéticas como agentes de contraste para marcaje. Por ejemplo, las nanopartículas magnéticas presentan un campo magnético externo, que generalmente puede estar formado de elementos magnéticos como el hierro, cobalto, níquel y otros óxidos. Sin embargo, estas nanopartículas sin recubrimiento suelen ser químicamente inestables y se oxidan fácilmente en el aire, produciendo

pérdida de la capacidad de magnetismo y de dispersarse. Por lo que es necesario el recubrimiento de la superficie de las nanopartículas con una capa biocompatible; este tipo de nanopartículas consiste en un núcleo y una cubierta de recubrimiento conocida como núcleo@corteza (Core@shell), en la cual su centro está recubierto por un polímero en su superficie. Las nanopartículas Core@shell tienen una amplia gama de aplicaciones en investigación biomédica, debido a que este puede presentar mayor estabilidad, distribución, funcionalización y son más específicas a la hora del nanodiagnóstico (Mandal, 2016).

El nanodiagnóstico contribuye a la identificación temprana de una manera rápida debido a que permite un diagnóstico más claro, una capacidad de respuesta más específica y una mayor posibilidad de tratamientos. Estos diagnósticos pueden realizarse in vivo o in vitro (Chamé, 2013; García, 2012).

**Nanomedicina
representa el
punto donde la
nanotecnología y la
medicina confluyen
para generar
oportunidades**

El diagnóstico in vivo es realizado mediante dispositivos que puedan penetrar en el cuerpo con el fin de identificar la presencia de un determinado patógeno o condición patológica. Es importante considerar la biocompatibilidad del material del dispositivo, ayudar a que cumpla con un diseño que asegure su eficiencia y minimice los efectos secundarios.

Por su parte, el diagnóstico in vitro brinda una mayor flexibilidad en el diseño, debido a que permite aplicar nanopartículas conjugadas con péptidos a muestras muy reducidas en fluidos corporales o tejidos. Este abordaje permite llevar a cabo una detección específica con gran precisión y selectividad de defectos genéticos o alteraciones orgánicas o tisulares (Akers et al., 2010; Burtea et al., 2011).

Resulta de gran interés los recientes avances que se han logrado en este campo, debido a que han permitido aumentar su sensibilidad, selectividad de agentes químicos y una detección en tiempo real, por ejemplo, en proporcionar un mayor contraste en técnicas de resonancia magnética de imagen. Es decir que el nanodiagnóstico permite la identificación de diversas enfermedades en estados iniciales, cuando el desarrollo

es limitado. De esta forma, esta área ofrece una mejor capacidad a la hora del diagnóstico generando una respuesta más rápida, posibilidad de terapias y recuperación (Calero, 2015).

¿Qué es el Nanodiagnóstico?

El nanodiagnóstico permite la identificación de enfermedades o de la predisposición a las mismas a nivel celular o molecular mediante la utilización de sistemas de contraste. Este concepto se puede aplicar en la necesidad social y clínica, implementando la capacidad tecnológica para detectar enfermedades oportunamente (Alharbi & Al-sheikh, 2014). Existen dos grandes aplicaciones en este campo como lo son: los nanodispositivos y los sistemas de contraste (nanosistemas de imagen), estas pueden adoptar un sistema para el diagnóstico tanto in vitro como in vivo.

Tabla 1. Resumen de los sistemas de nanodiagnóstico más desarrollados.



Fuente: Landín Basterra (2016).

Característica de los nanodispositivos

Nanodispositivos

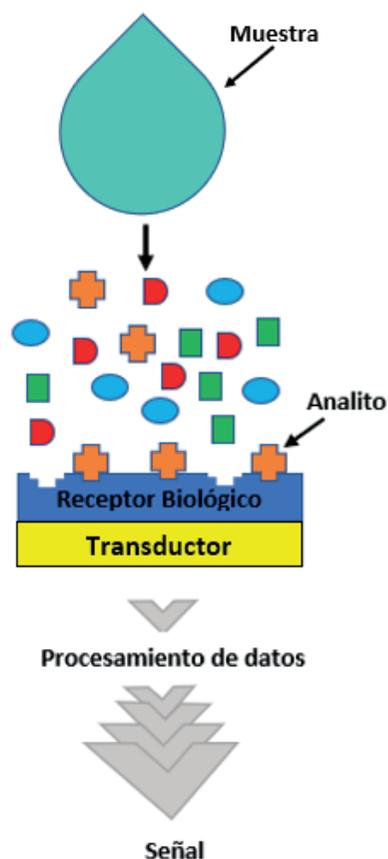
Los principales dispositivos de análisis que se están desarrollando en el nanodiagnóstico, hasta el momento, son los nanobiosensores,

estos son dispositivos capaces de detectar en tiempo real, sin necesidad de marcadores fluorescentes o radioactivos, todo tipo de sustancias químicas y biológicas con una alta sensibilidad y selectividad (Motellón & Bueren Roncero, 2010). Un biosensor es un dispositivo integrado por un receptor biológico (enzimas, ADN, anticuerpos, etc.) preparado para detectar una sustancia y posteriormente pasar a un transductor o sensor (Figura 1). El sensor permite el reconocimiento biomolecular y es capaz de medir la reacción traduciéndola en una señal cuantificable (Landín Basterra (2016).

Existen dos principales características en el biosensor, la primera es la selectividad, la cual se caracteriza de la integración del receptor biológico y el sensor, ocasionado que el dispositivo interactúe exclusivamente con el compuesto de interés y no con otros de propiedades similares. La segunda característica fundamental que hace interesante a los biosensores es la sensibilidad, ya que permite realizar el análisis de una sustancia en tiempo real y de forma directa (sin necesidad de marcador) a diferencia de cualquier análisis biológico o clínico que siempre requiere un marcador (ya sea fluorescente o radioactivo) (Echevarría-Castillo, 2013; Landín Basterra (2016).

Los nanodispositivos requieren de una cantidad de muestra relativamente baja, en micro o nanolitros, para realizar el análisis. Esto puede significar que los métodos a la hora de la extracción de la muestra en pacientes pueden ser menos invasivos y traumáticos. Al mismo tiempo, podrían ser fácilmente introducidos en el interior del cuerpo humano, suministrando datos mucho más fiables del estado de salud real de un paciente (Grüttner et al., 2013).

Figura 1. Esquema del funcionamiento de un biosensor.



Fuente: Landín Basterra (2016).

En la Figura 1 se ilustra como la muestra ingresa a un biosensor, descomponiéndose para tomar así el compuesto de interés que son requeridos para unirse al receptor biológico (enzimas, ADN, anticuerpos, etc.) que está preparado para detectar específicamente una sustancia, la cual pasa por un transductor o sensor que es capaz de medir la reacción de reconocimiento biomolecular y traducirla en una señal cuantificable.

El desarrollo de nanobiosensores se puede derivar en nanobiosensores fotónicos o nanoplasmonicos, que están basados en nanoestructuras como nanopartículas, nanotubos de carbono, nanoalambres, etc., los biosensores nanomecánicos y los “lab-on-a-chip” (Landín Basterra, 2016).

Nanosensores para el diagnóstico

Los nanosensores están basados en nanopartículas, que generalmente son semiconductoras, metálicas o magnéticas, que son empleadas como agentes de contraste para marcaje in vivo (Landín Basterra, 2016).

La técnica de hipertermia, un tipo de tratamiento en el que el tejido corporal está expuesto a altas temperaturas de calor para dañar y matar las células cancerosas.

Estos sistemas han evolucionado para crear mayor sensibilidad y un mayor contraste en las técnicas de imagen. Los primeros sistemas de nanopartículas formulados para el marcaje celular e identificación de zonas dañadas o tumores son las nanopartículas magnéticas o semiconductoras.

Los puntos cuánticos (en inglés, quantum dot o QD) son nanopartículas semiconductoras de unos pocos nanómetros típicamente entre 1-50 nm, Una de las propiedades más interesantes de los puntos cuánticos es que, al ser iluminados, re-emiten luz en una longitud de onda muy específica y que depende del tamaño de la nanopartícula. Este fenómeno se conoce como luminiscencia, por lo que son considerablemente útiles como marcadores biológicos.

Las nanopartículas magnéticas tienen un tamaño nanométrico que oscila entre 1-100 nm. En la actualidad, son empleadas en el diagnóstico como agentes de contraste en las imágenes de resonancia magnética (IRM) y en el ámbito terapéutico, como por ejemplo en la técnica de hipertermia, un tipo de tratamiento en el que el tejido corporal está expuesto a altas temperaturas de calor para dañar y matar las células cancerosas. En esta terapia se emplean nanopartículas para generar calor cuando se colocan en un campo magnético oscilante. De este modo se induce la muerte programada de las células cancerígenas (ver Figura 2) (Bañobre-López et al., 2013; Landín Basterra, 2016; Chen et al., 2012).

Una vez se encuentren situadas en el sitio de interés, las nanopartículas pueden ser liberadas de forma localizada, evitando los efectos secundarios de la administración sistémica en el organismo. Para conseguir la especificidad en su acción, las nanopartículas deben estar biofuncionalizadas, esto quiere decir que presentan

una modificación en la superficie del material, permitiendo incidir en el comportamiento de las células para que entren en contacto a fin de mejorar la respuesta en el organismo y permitir así un mejor diagnóstico (Conde et al., 2014; Li et al., 2013; Ruiz et al., 2013).

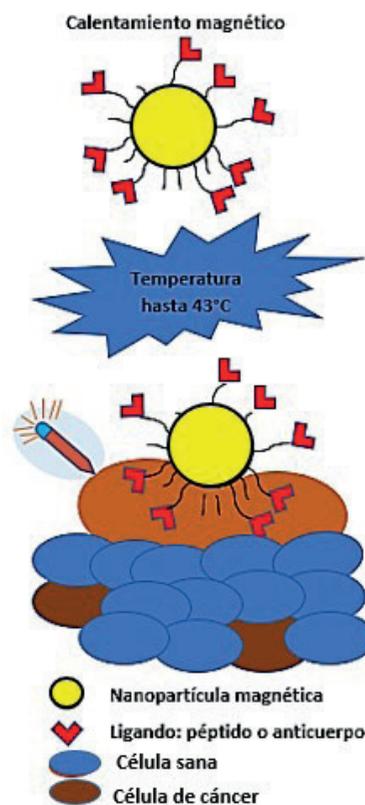
En la Figura 2 se ilustra la manera en que la nanopartícula interactúa como agente terapéutico con el ligando, el cual se relaciona con la célula de cáncer, produciendo muerte celular mediante hipertermia en respuesta a la aplicación de un campo magnético externo, donde el núcleo magnético de las nanopartículas permite que estas puedan ser dirigidas hacia las zonas de interés específicas, en nuestro caso las células cancerígenas, llevándolas así a su muerte para de esta manera generar más células sanas.

Diagnostico in vitro

El diagnóstico in vitro puede ser llevado a cabo mediante biosensores o dispositivos integrados conteniendo sensores. El biosensor permite el reconocimiento biomolecular y es capaz de medir la reacción traduciéndola en una señal cuantificable. Este tipo de dispositivos es citado en la Tabla 1, dispositivos que suelen ser revestidas con biomoléculas capaces de unirse a sustratos específicos como proteínas, ADN complementarios, secuencias genómicas o moléculas con adhesión y de reconocimiento receptor-ligando. Estos dispositivos son capaces de servir como plataforma de diagnóstico y ello permite detectar biomarcadores con mayor sensibilidad de la que se ha podido obtener con los métodos actuales.

Por otra parte, este tipo de diagnóstico nos ofrece una mayor capacidad para reconocer y capturar células de los tejidos dañados, quedando marcadas magnéticamente por las

Figura 2. Esquema ilustrativo del funcionamiento y aplicación de las nanopartículas magnéticas para terapia en medicina.



Fuente: Calero (2015).

nanopartículas, lo que facilita su captura utilizando imanes. Por lo tanto, se amplían los límites de detección de células tumorales y aumenta la posibilidad de realizar un mejor diagnóstico de certeza temprano (Landín Basterra, 2016).

Diagnostico in vivo

El diagnóstico in vivo con el uso de nanopartículas presenta resultados con mejores características debido al diagnóstico

por imagen a nivel molecular. Una imagen molecular puede definirse como la medida, caracterización y diagnóstico in vivo de procesos biológicos celulares o moleculares. Para realizar la proyección de estas imágenes se deben emplear agentes moleculares acoplados a técnicas de diagnóstico de imagen.

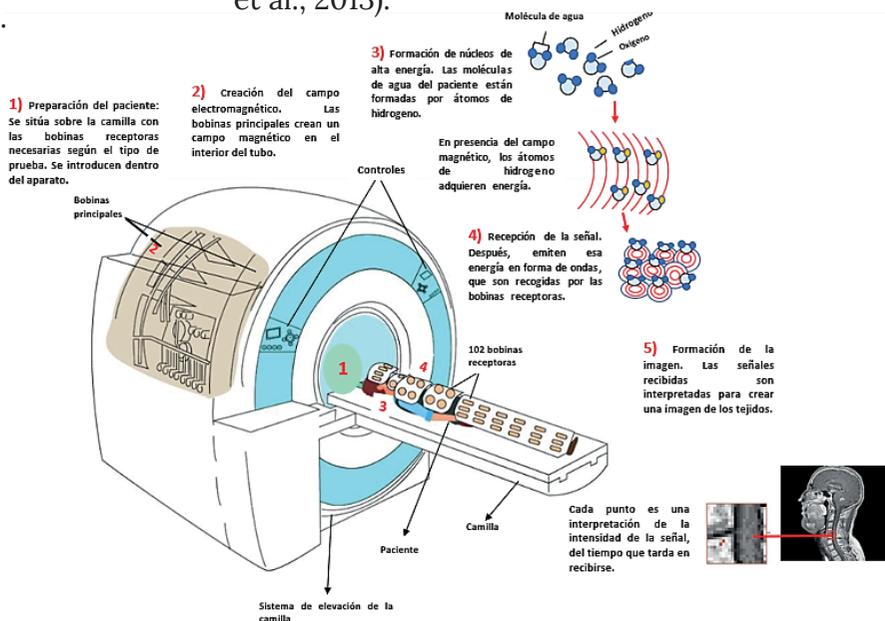
Además, el diagnóstico in vivo habitualmente requiere que los dispositivos puedan ser penetrados en el cuerpo humano, permitiendo identificar y cuantificar la presencia de un determinado patógeno o patología. Esto puede presentar una serie de problemas que pueden estar asociados con la biocompatibilidad del material, pero también requiere de un sofisticado diseño para garantizar su eficacia y minimizar los posibles efectos secundarios (Landín Bacerra, 2016).

La visualización de estas moléculas in vivo requiere que cumplan unos parámetros como lo son: la disponibilidad de dispositivos de imagen médico, ligandos de alta afinidad para la molécula de agentes de contraste, capacidad de alcanzar una concentración óptima y un tiempo suficiente para ser detectable en la imagen, empleo de estrategias químicas o biológicas para su amplificación, así como la disponibilidad de técnicas de imagen con una suficiente sensibilidad, resolución y velocidad.

El efecto de las nanopartículas que tiene en las imágenes de resonancia magnética

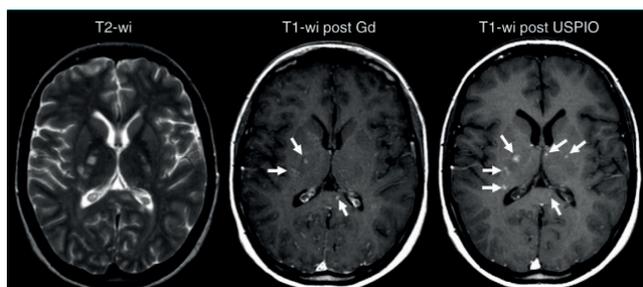
La resonancia magnética de imagen es una de las técnicas más utilizadas en la actualidad, ya que es sensible y no invasiva. Esta técnica no implementa radiación ionizante sino campos magnéticos. Para este caso, las nanopartículas introducidas al cuerpo como agentes de contraste se alinean con los momentos magnéticos nucleares de los átomos de hidrógeno presentes en el agua. De esta manera, incrementan las señales de los átomos de hidrógeno del agua. En función de la proporción de agua de los diferentes órganos se pueden diferenciar algunos órganos de otros, o los tejidos normales de los patológicos (ver Figura 3) (Calero, 2015; Li et al., 2013).

Figura 3. Esquema ilustrativo del equipo de resonancia magnética. *



El empleo de estas nanopartículas como agentes de contraste para imágenes de resonancia magnética, permitirá a futuro una mejor interpretación y caracterización de las lesiones, al aumentar la intensidad de la señal de tejidos afectados cuando se compara con los tejidos sanos de alrededor (ver Figura 4) (Calero, 2015).

Figura 4. Esquema ilustrativo de la comparación de imágenes por resonancia magnética (IRM) de cerebro empleando diferentes agentes de contraste.



Fuente: Rovaris et al. (2012).

En la Figura 4 se evidencian los diferentes agentes de contraste como gadolinio (Gd) y nanopartículas magnéticas (USPIO). En la imagen izquierda se puede evidenciar que no se emplean agentes de contraste. La imagen del centro usa gadolinio, mostrando así tres lesiones realzadas; mientras que la imagen derecha utiliza USPIO. Esta muestra las mismas tres lesiones anteriores, junto con tres lesiones adicionales.

Al comparar el gadolinio (Gd), uno de los medios de contraste más empleados, y USPIO a la hora del diagnóstico, es posible observar discrepancias en la visualización de una lesión por resonancia magnética. En la Figura 4 se observan más lesiones con USPIO (flechas blancas) en comparación con Gd (flechas blancas), indicando una mayor sensibilidad al emplear USPIO (Rovaris et al., 2012).

BIOCOMPATIBILIDAD DE LAS NANOPARTICULAS

En general, las nanopartículas en su composición deben presentar unas características específicas como: el tamaño, la forma, la rigidez, la carga, la conductividad, la porosidad y la compatibilidad con el organismo. El tipo de superficie y la carga superficial juegan un papel fundamental en la biocompatibilidad de las nanopartículas y en su internalización dentro de las células (Calero et al., 2014; Chen et al., 2012; Panariti et al., 2012; Thakor & Gambhir, 2013).

Estudios in vitro

Las nanopartículas pueden presentar cierto grado de citotoxicidad dado a que se pueden acumular intracelularmente e incluso es posible encontrarlas en orgánulos subcelulares como la mitocondria y el núcleo. Por tanto, las nanopartículas pueden llegar a interferir en procesos importantes como la producción de energía mitocondrial o la expresión de genes al comprometer las funciones de la membrana celular, mitocondrial y nuclear (Jeng & Swanson, 2006; Naqvi et al., 2010; Nel et al., 2006).

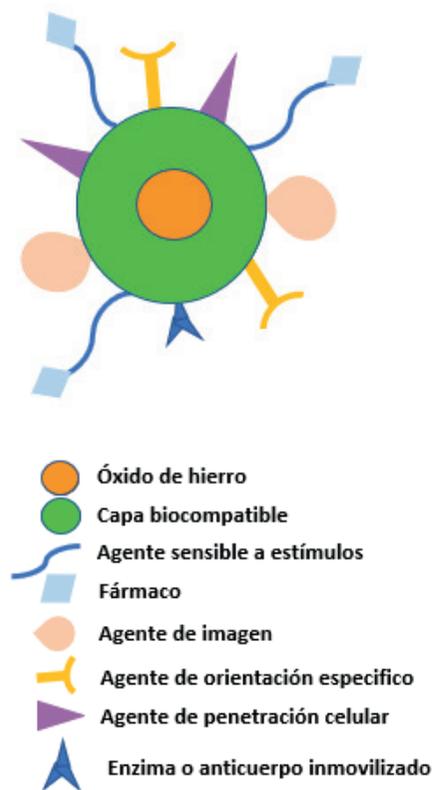
* Fuente Figura 3: Tomada de la Figura 3 del artículo "Resonancia magnética de 3 teslas". Pág. 4-6 publicado en Noticias de la Clínica Universitaria de Navarra. Número 58. Cuarto trimestre 2006. ISSN: 1139-8892. <https://www.cun.es/actualidad/revista-noticias-cun/n58/>

Hay también efectos citotóxicos que pueden ser generados por el estrés oxidativo que es uno de los daños celulares más comúnmente asociados a la presencia de nanopartículas en el interior de las células. El estrés oxidativo es causado por un incremento de la producción de las especies reactivas de oxígeno o moléculas inestables en el organismo, que generan la oxidación de componentes celulares seguida de una respuesta proinflamatoria y daños al ADN que llevan a la célula a sufrir muerte apoptótica (Albrecht et al., 2004; Jeng & Swanson, 2006; Oberdörster et al., 2007).

Sin embargo, los efectos citotóxicos son únicamente observados cuando hay una exposición a altas concentraciones de nanopartículas superiores a los 100 ug/mL (Gojova et al., 2007). Por tanto, el uso de concentraciones bajas de nanopartículas es esencial para evitar el daño celular produciendo menor efecto citotóxico y estrés oxidativo (Naqvi et al., 2010).

Las nanopartículas más utilizadas en investigaciones para posibles aplicaciones biomédicas son aquellas compuestas de óxido de hierro ya que son las más biocompatibles, y de las que se conocen en mayor profundidad los efectos secundarios. Las nanopartículas ferromagnéticas tienen con un tamaño menor a 50 nm, confiriéndoles propiedades superparamagnéticas (Calero, 2015; Li et al., 2013). Generalmente, estas nanopartículas se componen de un núcleo magnético formado por óxido de hierro en forma de magnetita (Fe_3O_4) o maghemita ($\gamma-Fe_2O_3$) (Estelrich et al., 2015; Chen et al., 2012; Villanueva et al., 2009) y una cubierta superficial modificada con determinados polímeros biodegradables que permiten aumentar la estabilidad y biocompatibilidad de estas (Figura 5).

Figura 5. Nanopartícula biofuncionalizadas.



Fuente: Autoría propia.

El estrés oxidativo es causado por un incremento de la producción de las especies reactivas de oxígeno o moléculas inestables en el organismo

Estudios in vivo

La biodistribución de las nanopartículas se ha evaluado en diferentes modelos que han demostrado que la vía de administración de nanopartículas tanto inhalatoria como intravenosa, depende de su diámetro para que puedan penetrar al tejido de interés (Kwon et al., 2008). Además, dependiendo de las rutas que emplee, las nanopartículas pueden llegar a interactuar con componentes de la matriz extracelular y la membrana plasmática (Majetich, 2006; Oberdörster et al., 2005, 2007).

Estudios previos han demostrado en modelos animales, la biocompatibilidad de las partículas de óxido de hierro en concentraciones menores a 0,1- 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que concentraciones mayores a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pueden generar citotoxicidad. Las vías de administración más utilizadas son la vía intravenosa o inhalatoria, llegando a acumularse en tejidos, pero sin producir alteraciones considerables en análisis histológicos (Majetich, 2006).

Por último, se puede decir que la dosis implementada, la composición del núcleo magnético de las nanopartículas, su tamaño, la composición química de la superficie de recubrimiento y la forma de administración de la nanopartícula, pueden jugar un papel concluyente en el resultado final de la biocompatibilidad de las nanopartículas.

Conclusión

El nanodiagnóstico representa un tema de interés en la actualidad. El principal objetivo de esta área es proporcionar una mejora en el diagnóstico clínico puesto que presenta una mayor sensibilidad, selectividad y una detección en tiempo real de agentes químicos y biológicos. Entre los abordajes metodológicos se encuentran los nanosistemas de imagen y los nanodispositivos, los cuales están capacitados para una detección molecular específica. Por tanto, esta área se destaca por su potencial impacto en la salud pública pues brinda diagnósticos más eficientes, disminuye los efectos secundarios al organismo y acelera la implementación de un tratamiento oportuno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akers, W. J., Zhang, Z., Berezin, M., Ye, Y., Agee, A., Guo, K., Fuhrhop, R. W., Wickline, S. A., Lanza, G. M., & Achilefu, S. (2010). Targeting of $\alpha_5\beta_1$ -integrins expressed on tumor tissue and neovasculature using fluorescent small molecules and nanoparticles. *Nanomedicine*, 5(5), 715–726. <https://doi.org/10.2217/nmm.10.38>
- Albrecht, C., Borm, P. J. A., & Unfried, K. (2004). Signal transduction pathways relevant for neoplastic effects of fibrous and non-fibrous particles. *Mutation Research – Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 553(1–2), 23–35. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.06.015>
- Alharbi, K. K., & Al-sheikh, Y. A. (2014). Role and implications of nanodiagnostics in the changing trends of clinical diagnosis. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(2), 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.11.001>
- Bañobre-López, M., Teijeiro, A., & Rivas, J. (2013). Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy*, 18(6), 397–400. <https://doi.org/10.1016/j.rpor.2013.09.011>
- Bárcena, C., Sra, A. K., & Gao, J. (2009). Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Nanoscale Magnetic Materials and Applications*, 167, 591–626. https://doi.org/10.1007/978-0-387-85600-1_20
- Burtea, C., Laurent, S., Mahieu, I., Larbanoix, L., Roch, A., Port, M., Rousseaux, O., Ballet, S., Murariu, O., Toubeau, G., Corot, C., Vander Elst, L., & Muller, R. N. (2011). In vitro biomedical applications of functionalized iron oxide nanoparticles, including those not related to magnetic properties. *Contrast Media and Molecular Imaging*, 6(4), 236–250. <https://doi.org/10.1002/cmml.423>
- Calero, M. C. (2015). Caracterización De Nanopartículas Magnéticas En Cultivos Celulares Para Sus Aplicaciones Biomédicas Cellular Studies of Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications Tesis Doctoral.
- Calero, M., Gutiérrez, L., Salas, G., Luengo, Y., Lázaro, A., Acedo, P., Morales, M. P., Miranda, R., & Villanueva, A. (2014). Efficient and safe internalization of magnetic iron oxide nanoparticles: Two fundamental requirements for biomedical applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 10(4), 733–743. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2013.11.010>
- Chamé, K. F. (2013). Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas. Tesis de Maestría, 87.
- Conde, J., Dias, J. T., Grazú, V., Moros, M., Baptista, P. V., & de la Fuente, J. M. (2014). Revisiting 30 years of biofunctionalization and surface chemistry of inorganic nanoparticles for nanomedicine. *Frontiers in Chemistry*, 2(JUL), 1–27. <https://doi.org/10.3389/fchem.2014.00048>
- Echevarría-Castillo, F. (2013). Retos de este siglo: Nanotecnología y salud. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 29(1), 3–15.
- Egilea /, Landín, J., Zuzendaria, B., García, I., & Montoya, A. (2016). Nanopartículas como agentes terapéuticos.
- Estelrich, J., Escribano, E., Queralt, J., & Busquets, M. A. (2015). Iron oxide nanoparticles for magnetically-guided and magnetically-responsive drug delivery. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 8070–8101. <https://doi.org/10.3390/ijms16048070>
- García, J. S. (2012). Nanopartículas magnéticas para aplicaciones biomédicas. 125. <http://hdl.handle.net/2445/41856>
- Gojova, A., Guo, B., Kota, R. S., Rutledge, J. C., Kennedy, I. M., & Barakat, A. I. (2007). Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: Effect of particle composition. *Environmental Health Perspectives*, 115(3), 403–409. <https://doi.org/10.1289/ehp.8497>
- Grüttner, C., Müller, K., Teller, J., & Westphal, F. (2013). Synthesis and functionalisation of magnetic nanoparticles for hyperthermia applications. *International Journal of Hyperthermia*, 29(8), 777–789. <https://doi.org/10.3109/02656736.2013.835876>
- I, Yu, C., Chen, R., Li, J. J., Li, J. J., Drahansky, M., Paridah, M., Moradbak, A., Mohamed, A., Owolabi, FolaLi, H., Abdulwahab taiwo, Asniza, M., Abdul Khalid, S. H., Sharma, T., Dohare, N., Kumari, M., Singh, U. K., Khan, A. B., Borse, M. S., Patel, R., ... Reading, F. (2012). We are IntechOpen, the world's leading publisher of Open Access books Built by scientists, for scientists TOP 1%. *Intech, i(tourism)*, 13. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.014>

- Jeng, H. A., & Swanson, J. (2006). Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 41(12), 2699–2711. <https://doi.org/10.1080/10934520600966177>
- Kwon, J. T., Hwang, S. K., Jin, H., Kim, D. S., Minai-Tehrani, A., Yoon, H. J., Choi, M., Yoon, T. J., Han, D. Y., Kang, Y. W., Yoon, B. Il, Lee, J. K., & Cho, M. H. (2008). Body distribution of inhaled fluorescent magnetic nanoparticles in the mice. *Journal of Occupational Health*, 50(1), 1–6. <https://doi.org/10.1539/joh.50.1>
- Lee, D. E., Koo, H., Sun, I. C., Ryu, J. H., Kim, K., & Kwon, I. C. (2012). Multifunctional nanoparticles for multimodal imaging and theragnosis. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2656–2672. <https://doi.org/10.1039/c2cs15261d>
- Li, L., Jiang, W., Luo, K., Song, H., Lan, F., Wu, Y., & Gu, Z. (2013). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as MRI contrast agents for non-invasive stem cell labeling and tracking. *Theranostics*, 3(8), 595–615. <https://doi.org/10.7150/thno.5366>
- Li, Y., Chen, Z. W., & Gu, N. (2012). In vitro biological effects of magnetic nanoparticles. *Chinese Science Bulletin*, 57(31), 3972–3978. <https://doi.org/10.1007/s11434-012-5295-8>
- Majetich, S. A. (2006). *Magnetic Nanoparticles and Their Applications. Nanostructured Materials: Processing, Properties, and Applications: Second Edition*, 1, 439–485. <https://doi.org/10.1016/B978-081551534-0.50012-9>
- Mandal, S. (2016). Engineered magnetic core shell nanoprobes: Synthesis and applications to cancer imaging and therapeutics. *World Journal of Biological Chemistry*, 7(1), 158. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v7.i1.158>
- Motellón, J. L., & Bueren Roncero, J. (2010). 9a. edición del curso de biotecnología aplicada a la salud humana programa preliminar : 3 al 5 de noviembre de 2010, CIEMAT, Madrid. <http://digital.csic.es/handle/10261/44635>
- Nanbiolog Í a Y. (n.d.).
- Naqvi, S., Samim, M., Abdin, M. Z., Ahmed, F. J., Maitra, A. N., Prashant, C. K., & Dinda, A. K. (2010). Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *International Journal of Nanomedicine*, 5(1), 983–989. <https://doi.org/10.2147/IJN.S13244>
- Nel, A., Xia, T., Mädler, L., & Li, N. (2006). Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761), 622–627. <https://doi.org/10.1126/science.1114397>
- Oberdörster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro-Riviere, N., Warheit, D., & Yang, H. (2005). Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: Elements of a screening strategy. *Particle and Fibre Toxicology*, 2, 1–35. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-2-8>
- Oberdörster, G., Stone, V., & Donaldson, K. (2007). Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. *Nanotoxicology*, 1(1), 2–25. <https://doi.org/10.1080/17435390701314761>
- Panariti, A., Miserocchi, G., & Rivolta, I. (2012). The effect of nanoparticle uptake on cellular behavior: Disrupting or enabling functions? *Nanotechnology, Science and Applications*, 5(1), 87–100. <https://doi.org/10.2147/NSA.S25515>
- Rovaris, M., Miller, D. H., Petry, K. G., & Brochet, B. (2012). assessment of Disease activity in Multiple sclerosis Phenotypes with combined gadolinium- and. 264(1), 225–233. <https://doi.org/10.1148/radiol.12111416/-DC1>
- Ruiz, A., Salas, G., Calero, M., Hernández, Y., Villanueva, A., Herranz, F., Veintemillas-Verdaguer, S., Martínez, E., Barber, D. F., & Morales, M. P. (2013). Short-chain PEG molecules strongly bound to magnetic nanoparticle for MRI long circulating agents. *Acta Biomaterialia*, 9(5), 6421–6430. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.12.032>
- Thakor, A. S., & Gambhir, S. S. (2013). *Nanooncology: The future of cancer diagnosis and therapy*. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 63(6), 395–418. <https://doi.org/10.3322/caac.21199>
- Villanueva, A., Cãete, M., Roca, A. G., Calero, M., Veintemillas-Verdaguer, S., Serna, C. J., Del Puerto Morales, M., & Miranda, R. (2009). The influence of surface functionalization on the enhanced internalization of magnetic nanoparticles in cancer cells. *Nanotechnology*, 20(11). <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/11/115103>