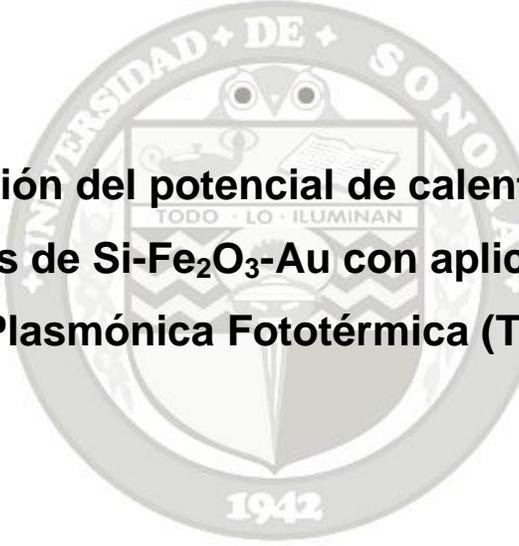


UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

The seal of the University of Sonora is a circular emblem. It features a central shield with a book and a quill pen. Above the shield is an owl, and below it is a banner with the motto "TODO · LO · ILUMINAN". The shield is flanked by two figures. The entire emblem is surrounded by a circular border containing the text "UNIVERSIDAD DE SONORA" and the year "1942" at the bottom.

Evaluación del potencial de calentamiento de
nanoestructuras de Si-Fe₂O₃-Au con aplicación en la Terapia
Plasmónica Fototérmica (TPFT)

TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA

Que para obtener el Título de

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presenta:

Marlen Gema Licerio Ramírez

Hermosillo, Sonora,

Abril del 2018

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

Los miembros del jurado designados para revisar la Tesis Profesional de Marlen Gema Licerio Ramírez, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Químico Biólogo Clínico.

Dra. Karla Josefina Santacruz Gómez

Directora de Tesis

Dra. Rocío Sugich Miranda

Secretaria

Dra. Cinthia Jhovana Pérez Martínez

Vocal

Dra. Aracely Angulo Molina

Suplente

AGRADECIMIENTOS

El primer agradecimiento es para Dios, que me ha dado vida hasta para continuar y cumplir con cada una de mis metas personales y profesionales. Porque me ha llenado de bendiciones y le agradezco por cada éxito obtenido.

A mi madre y mi padre, que me han apoyado siempre de distintas maneras, motivándome para culminar mis estudios universitarios como sinónimo de su mayor herencia para mí. Gracias por llenarme de su cariño y forjarme de los valores necesarios para ser una mujer de bien para la sociedad, pero sobre todo por cada uno de los sacrificios que realizaron con la finalidad de que pudiera ser mejor día con día.

A Fernando, que me acompañó la mayor parte de la carrera, y que con su cariño incondicional me animó y ayudó a no darme por vencida. Gracias por estar ahí en cada momento de dificultad, como un pilar importante en mi vida.

A todos mis compañeros universitarios con los que tuve la oportunidad de coincidir, ya que las experiencias vividas con ellos me ayudaron a crecer de manera personal y profesional. Sin embargo, agradezco en mayor medida a mis amigos Cassandra, Noraly, Ramón y Jorge, que además de ser cómplices de mis aventuras universitarias, estuvieron siempre dispuestos a ayudarme e incluso salvarme de situaciones complicadas. Gracias infinitas por su amistad.

A mi amiga Lizeth, porque a pesar de no estar juntas físicamente es un apoyo importante en cada momento de mi vida, cuya amistad ha perdurado a la distancia y el tiempo.

A la Dra. Karla Santacruz, que sin ella tampoco hubiera podido llegar hasta este momento. Gracias por enseñarme lo valioso que es crecer intelectualmente pero también como humano con su ejemplo; por ser mi guía todo este tiempo y apoyarme hasta donde le fue posible. No hay palabras que describan la admiración y la gratitud que siempre le tendré.

A la Dra. Rocío Sugich, la Dra. Aracely Angulo y la Dra. Jhovana Pérez por asesorarme amablemente en mi trabajo de tesis.

Gracias a cada uno de los maestros de los que pude aprender en la carrera, porque me transmitieron su conocimiento y muchas veces, sus experiencias profesionales y personales. Gracias por sus consejos académicos pero también de vida, los llevaré siempre en mi corazón.

A la Universidad de Sonora, por prestar sus instalaciones y brindarme los recursos académicos para prepararme como profesionista. Por ser una como una segunda cuando me alejé de mi lugar de origen para superarme, pero sobre todo, porque representa una de las mejores etapas de mi vida.

DEDICATORIA

Les dedico este trabajo a mi madre y a mi padre, por darme todo apoyo y los medios siempre que lo necesito seguir adelante.

A Fernando que ha sido mi amigo, mi cómplice y mi compañero de vida estos últimos años.

CONTENIDO

FORMA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIA	5
LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
Nanomateriales	11
Nanopartículas Metálicas	12
Importancia de las Nanopartículas Metálicas en la Biomedicina.....	13
OBJETIVOS	15
ANTECEDENTES	16
Nanopartículas Metálicas	16
Clasificación de las Nanopartículas Metálicas	17
Síntesis de Nanopartículas de Metales Nobles.....	18
Propiedades de las Nanopartículas Metálicas: Plasmón de Resonancia Superficial Localizado (PRSL).....	19
Aplicaciones de las AuNPs Basadas en el PRSL	21
Liberación de fármacos.....	22
Amplificación de la señal raman (SERS).....	22
Terapia Plasmónica Fototérmica	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	28
CONCLUSIONES	45
BIBLIOGRAFÍA.....	47

ANEXO	50
Abreviaturas.....	50

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Principales métodos de síntesis químicos para la obtención de nanopartículas metálicas	18

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Representación esquemática de la diversidad de las Nanopartículas metálicas	17
2.	Diferencia de las propiedades ópticas según la forma de las nanopartículas	21
3.	Caracterización morfológica de las nanopartículas de Si-Fe ₂ O ₃ -Au	29
4.	Histograma de distribución de las nanopartículas de Si-Fe ₂ O ₃ -Au	30
5.	Composición química de nanopartículas por Espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDX)	32
6.	Localización del PRS de las nanopartículas de Si-Fe ₂ O ₃ -Au a temperatura ambiente	35
7.	Espectros de absorción de las Si-Fe ₂ O ₃ -Au esféricas a diferentes temperaturas	37
8.	Intensidad de la absorción de la luz de las NPs a diferentes temperaturas	38
9.	Localización del PRS a diferentes temperaturas	39
10.	Eficiencia térmica de las Si-Fe ₂ O ₃ -Au	41
11.	Set up de calentamiento	43
12.	Curva de calentamiento/enfriamiento <i>in vitro</i> de las NPs de Si-Fe ₂ O ₃ -Au	44

RESUMEN

Las terapia plasmónica fototérmica (TPFT) mediada por nanopartículas teranósticas ofrecen aplicaciones potenciales para el tratamiento de tumores tales como la reducción de efectos secundarios, minimización de daño en tejido circundante e incremento de especificidad. Esto debido a que los nanopartículas (agentes nanocalentadores) se dirigen específicamente a la zona tumoral, donde el calentamiento se activa remotamente con un láser; controlando así la temperatura en el rango de hipertermia moderada (40-45 °C). Dicha hipertermia *in situ* provoca la aniquilación de las células cancerosas y/o la hipersensibilidad para otros tratamientos.

En este trabajo de tesis se realizó la caracterización físico-química y potencial de calentamiento de una nanoestructura de Sílice hueca con óxido de hierro y oro embebido en la superficie, en solución coloidal. La caracterización físico-química se llevaron a cabo utilizando un microscopio electrónico de barrido (TEM); mientras que la confirmación química de la superficie de la nanoestructura se realizó por medio de la espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDX). A su vez, se evaluó la estabilidad térmica de esta nanoestructura en solución acuosa obteniendo espectros de emisión a diferentes temperaturas (20 a 70 °C), analizando la posición e intensidad de emisión del plasmón de superficie. Finalmente, se establecieron curvas de calentamiento y enfriamiento controlando los parámetros de potencia, tiempo de exposición y concentración de las nanopartículas.

En la sección de resultados se detalla la caracterización física y química de estas nanopartículas esférica huecas con tamaño promedio de 155 ± 5 nm, confirmando nanopartículas de oro y óxido de hierro en la superficie, de acuerdo a las micrografías TEM y EDX respectivamente. Los estudios realizados de estabilidad térmica, demostraron que las nanopartículas de Si-Fe₂O₃-Au aquí estudiadas, presentan buena estabilidad térmica en el rango de hipertermia. También se encontró que estos nanocalentadores requieren una exposición de aproximadamente 7.3 minutos. Estos resultados sugieren el potencial de las nanopartículas de Si-Fe₂O₃-Au en la terapia plasmónica fototérmica.

INTRODUCCIÓN

Nanomateriales

La nanotecnología es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, y su explotación de fenómenos y propiedades (Díaz del Castillo, 2012). Pese a que la palabra nanotecnología es relativamente nueva, la existencia de dispositivos y estructuras funcionales de escala nanométrica no lo es; además tales estructuras han existido en la Tierra desde el origen de la vida (Pool y Owens, 2007). Sin embargo, el empleo de nanomateriales ha despertado gran interés debido a las características físico-químicas sobresalientes que exhiben estos materiales cuando se comparan con sus análogos en la microescala. Estas propiedades amplificadas han sido especialmente aprovechadas en el área de la biomedicina.

En la actualidad se han sintetizado una gran variedad de nanomateriales inorgánicos de diferentes tamaños, formas y naturaleza, tales como magnéticas, semiconductores, derivadas de carbono (grafeno, nanodiamante), metálicas, entre otras. Particularmente, las nanopartículas metálicas son muy utilizadas en el campo de la medicina debido a que no reaccionan o reaccionan muy poco con otras sustancias; es decir, son químicamente inertes, por lo tanto, tienen poca susceptibilidad a oxidarse o corroerse; características las hacen un material compatible con la vida (Fernández et al., 2014). Por esta razón, las aplicaciones de nanopartículas metálicas en la investigación médica y biológica son extremadamente amplias. En particular está la genómica, biosensores; inmunoensayos; química clínica; detección y termólisis de microorganismos y células cancerígenas; la administración dirigida de fármacos, péptidos, ADN, y antígenos; y bioimágenes ópticas y monitoreo de células y tejidos con uso de sistemas de grabación nanofotónicos.

Nanopartículas Metálicas

Entre las nanopartículas metálicas, aquellas compuestas por oro coloidal o nanopartículas de oro (AuNPs) son una de las más utilizadas en el área biomédica. La enorme aplicación de las AuNPs se basa en sus propiedades físicas y químicas, propias de su naturaleza plasmónica, específicamente el llamado plasmón de resonancia localizado (PRL) (Dykman y Khlebtsov, 2012). El fenómeno del PRL se puede describir de la siguiente manera: cuando se incide una luz con longitud de onda mayor al tamaño de la nanopartícula se genera un efecto resonante, es decir, induce una excitación colectiva de estos electrones libres, como consecuencia de la fuerte interacción con la luz incidente; se produce una oscilación coherente deslocalizada de los electrones confinados en la superficie de las nanopartículas metálicas, en la interfase metal-dieléctrico o metal-semiconductor; la excitación electromagnética se llama polarización del plasmón de superficie. La resonancia se determina a partir de espectroscopía de absorción y dispersión y depende de la forma, tamaño, y las constantes dieléctricas de tanto el metal y el material circundante (Eustis y El-sayed, 2006).

El PRL de las nanopartículas metálicas es responsable de las propiedades amplificadas que presentan dichas estructuras, cuando este se excita apropiadamente. Una de estas propiedades de naturaleza plasmónica consiste en amplificar la señal Raman (también llamado SERS) y la generación de calor o calentamiento. En resonancia del plasmón de superficie, la relajación no radiante se produce a través de electrones-fonones y acoplamiento fonón-fonón, que son cuasipartículas que dan cuenta de las vibraciones de los átomos dentro de los materiales a la velocidad del sonido, mismas interacciones que producen la generación eficiente de calor localizado, y a su vez puede transferirse al medio ambiente circundante (Martínez, 2013; Mackey et. al., 2014). La conversión de la energía del fonón en calor puede ser empleada en la para provocar muerte celular en tejido tumoral (El-sayed et al., 2006). A la sensibilización y/o aniquilación de células malignas por incrementos de temperatura mediadas por nanopartículas metálicas en resonancia se le conoce como Terapia Plasmónica Fototérmica (TPFT) (Li Y. et al., 2014; Mackey et. al., 2014).

Las nanopartículas más utilizadas para la TPFT (nanocalentadores) son nanoesferas o nanobarras compuestas por oro, ya que absorben energía en el rango del infrarrojo y por lo tanto tienen una eficiencia térmica mayor. Su tamaño óptimo se encuentra alrededor de los 40 nm y un plasmón de resonancia cercano a los 800 nm. (Mackey et al., 2014). La absorción del plasmón de la nanopartícula se ve incrementada mientras más pequeño sea el tamaño de la misma (Jain et al., 2006; Al-Qadi y López, 2009).

Otra característica plasmónica relacionada con la conversión de calor fototérmico es el campo eléctrico alrededor de las NPs. Se ha demostrado que si se genera excitación del plasmón con una longitud de onda adecuada se forman grandes campos electromagnéticos (Hao E. y Schatz, 2004); como consecuencia se evita la dispersión o extinción de la energía (Near et al., 2012).

Importancia de las Nanopartículas Metálicas en la Biomedicina

Debido los efectos adversos descritos de la quimioterapia y radioterapia en el tratamiento del cáncer, surge la necesidad de desarrollar métodos alternativos para el diagnóstico y tratamiento de dicha enfermedad (Chirico et al., 2014). La terapia plasmónica fototérmica (TPFT) ofrece ventajas significativas con respecto a las terapias existentes para el tratamiento del cáncer. En contraste con la quimioterapia y radioterapia, la TPFT es mínimamente invasiva, ya que su sitio de acción es localizado, reduciendo el daño ejercido a células sanas (Huang X. et al., 2008). Esto no indica que sea utilizado como único método terapéutico, si no que puede emplearse de manera complementaria a las técnicas ya mencionadas, lo que puede mejorar notablemente los resultados de las mismas y reducir la cantidad de fármacos o radiación necesarios. De este modo se pueden reducir los efectos secundarios experimentados por el paciente (Hernández y Moros, 2015).

Los vectores utilizados para la TPFT son principalmente nanopartículas metálicas, siendo las nanopartículas de oro las más populares debido a su gran capacidad de absorber la energía fotónica y convertirla en calor eficientemente. Sin embargo, existen otros factores a considerar cuando se realizan terapias de calentamiento en tejido vivo, tales como la citotoxicidad inherente, biodistribución y especialmente el monitoreo de la temperatura en tiempo real.

Por estos motivos surge la necesidad de sintetizar y caracterizar nuevos materiales con múltiples funciones, tales que permitan vectorizar (dirigir/remover) la nanoestructura, activarla remotamente, detectar cambios en temperatura, entre muchas otras. Por lo tanto, en esta tesis se evaluó el potencial de calentamiento de las nanopartículas multifuncionales de Si-Fe₂O₃-Au para su posible aplicación en la TPFT.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el potencial de una nanoestructura basada en Silica-Fe₂O₃-Oro como agente calentador para aplicación en la Terapia Plasmónica Fototérmica.

Objetivos Particulares

1. Realizar la caracterización física y química de nanopartículas de Si-Fe₂O₃-Au mediante Microscopía Electrónica de Barrido (TEM), Espectroscopía de Dispersión de Rayos X (EDX) y Espectroscopía UV-Visible para la identificación del Plasmón de Resonancia Superficial.
2. Identificar el Plasmón de Resonancia Superficial y evaluar la estabilidad térmica de las nanoestructuras de Si-Fe₂O₃-Au a través Espectroscopía de UV-Visible
3. Conocer la eficiencia de calentamiento *in vitro* de las nanopartículas Si-Fe₂O₃-Au con empleo de un set-up que permitan establecer las condiciones óptimas para la hipertermia controlada.

ANTECEDENTES

Nanopartículas Metálicas

Las nanopartículas de metales nobles presentan propiedades físicas (ópticas, electrónicas, cuánticas, etc.) totalmente distintas, en comparación con sus análogos a macroescala. Dichas propiedades, únicas y novedosas, obedecen directamente a su arquitectura nanométrica (tamaño, forma, carga superficial), la cual puede ser controladas con precisión durante el proceso de síntesis.

De manera general, los metales nobles son resistentes a la corrosión y oxidación en aire húmedo. Entre ellos está el rutenio, rodio, paladio, plata, osmio, iridio, platino y oro, en orden de número atómico, de los cuales algunos de ellos son valiosos por su poca abundancia en la corteza terrestre. En la actualidad, los metales nobles más sintetizados y estudiadas a nanoescala, por su campo de aplicación biomédica, son las NPs de oro (AuNPs) y plata (AgNPs) (Sreepasad y Pradeep, 2013).

Estas NPsM, en especial las de oro, presentan una excelente biocompatibilidad, atribuida a las propiedades químicas del oro coloidal. El oro es un metal que difícilmente forma óxidos, es decir, es sumamente estable e inerte, al igual que el resto de los metales nobles a nanoescala. Además, biológicamente tampoco son reconocidas como antígenos o cuerpos extraños por el organismo, por lo que no es considerado inmunogénico al no producir liberación de citoquinas proinflamatorias como el TNF- α (Shukla et al. 2005).

Las nanopartículas de oro también suelen presentar una buena distribución corporal *in vivo* sobre modelos murinos, ya que las células endocitan a la mayoría de ellas de forma natural y no son capaces de atravesar la placenta ni la barrera craneoencefálica. La mayoría son eliminadas por macrocitos fagocítica y filtración glomerular en el riñón. Dentro de los factores que influyen en la citotoxicidad se encuentra la carga superficial. Las AuNPs catiónicas tienen mayor grado de toxicidad en comparación a las aniónicas con núcleos de 2 nm, por lo son capaces de provocar lisis celular dependiendo de la concentración de las mismas. Para evitar esta dificultad, las NPs pueden ser recubiertas durante el proceso de síntesis con polímeros amigables, tales como el polietilenglicol (PEG).

Clasificación de Nanopartículas Metálicas

Como se describió anteriormente, las propiedades plasmónicas de las NPsM dependen de múltiples factores, como el tamaño (dentro de la escala nanométrica) y la forma. Los nanosistemas de oro son interesantes porque exhiben una gran diversidad de formas, y por lo tanto de propiedades sintonizables a cada arquitectura. Según su forma, las NPsM pueden clasificarse como: esféricas, nanohilos nanocables, triángulos, placas y hojas, cintas o hélices, estrellas, flores, nanojaulas, nanocintas, nanocajas, nanocubos, nanoshell (concha), nanorods, etc. (Figura 1). Partiendo de este punto, uno de los pasos más relevantes para la determinación de la forma y geometría de las nanoestructuras es la síntesis, en donde la modificación en la concentración de reactivos, compuestos químicos, utilización de calor u otras variables son fácilmente controlables.

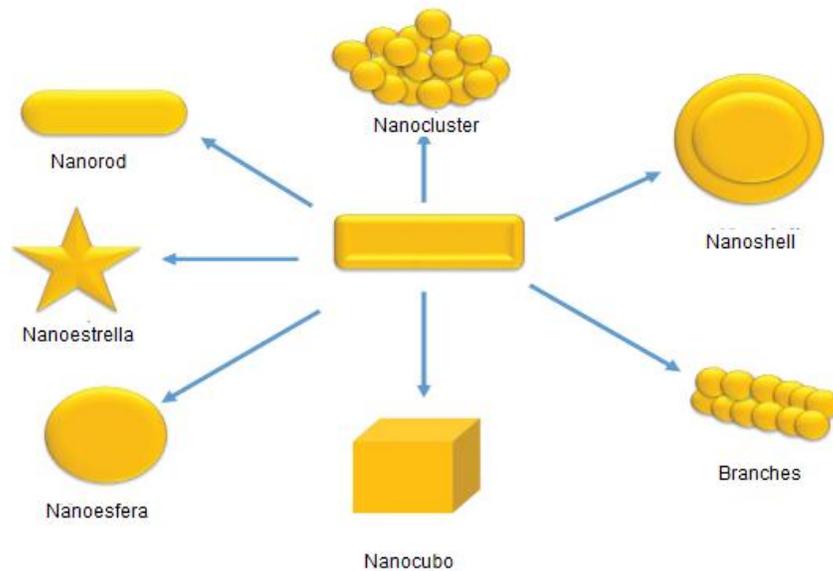


Figura 1. Representación Esquemática de la Diversidad de Nanopartículas Metálicas. (Alaqad y Saleh, 2016).

Síntesis de Nanopartículas de Metales Nobles

Los métodos de síntesis de NPsM son muy diversos, pero de manera general se pueden clasificar como métodos físicos y químicos. En el proceso físico se toma el material a granel del cual se obtendrá la nanoestructura, e incluyen la molienda del material para la obtención de polvo a nanoescala. Este utiliza mecanismos de molienda físicos como choques eléctricos, condensación de gases inertes, en donde se da el crecimiento de partículas por evaporación de átomos a partir de una matriz; o ablación con láser, principalmente. Las NPs obtenidas por este tipo de síntesis regularmente tienden a ser de tamaño y forma heterogénea.

Los métodos químicos permiten tener un mayor control de la forma y tamaño de las nanoestructuras, y en ese sentido suelen ser los más empleados. Todos comienzan con átomos que generan iones metálicos en solución (precursores) y se unen para dar forma a la estructura (plataforma de polen). Se conocen como rutas de enfoque ascendente (bottom-up) y esta categoría comprende los métodos descritos en la tabla 1. Una gran ventaja de estos métodos de síntesis es la obtención de sistemas coloidales de uno a 150 nm con técnicas rápidas y sencillas, así como también en una gran diversidad de formas. Por ejemplo, en el caso de las nanobarras se usan técnicas de síntesis electroquímica o deposición electroquímica de oro en el interior de los poros de plantillas de policarbonato o alúmina, entre otras. (Al-Qadi y López, 2009).

Tabla 1. Principales métodos de síntesis químicos para la obtención de nanopartículas metálicas (Sreeprasad y Pradeep, 2013).

MÉTODOS DE SINTESIS PARA NPsM		
Reducción química	Sonoquímica	Por micelas y microemulsiones
Síntesis electroquímica	Solvotérmica	Métodos biológicos
Síntesis fotoquímica	Interfacial	Híbridos

Propiedades de las NPsM: Plasmón de Resonancia Superficial Localizado (PRSL).

Las propiedades ópticas y electromagnéticas de una NPsM dependen de diversos factores entre los que destaca: la naturaleza del metal (Au, Ag, Pt, etc.), el tamaño (10nm, 20 nm, 200 nm, etc.) y la forma (esfera, estrella, bastón, etc.). De esta manera se dice que, alterando estos factores durante la síntesis, es posible alterar las propiedades (color, emisión, absorción, etc.) de dicha materia. Esto se debe a que los factores descritos anteriormente determinan la localización y eficiencia del llamado plasmón de resonancia superficial localizado (PRSL) o plasmón de superficie localizado (PSL).

El PSL corresponde a la longitud de onda en la cual se localizan la nube electrónica sobre la superficie de la NPM. Cuando se incide sobre la NPM, considerando una luz de una longitud de onda de mayor tamaño al de la partícula, los electrones comienzan a oscilar colectivamente y a medida que pasan frente a la onda de luz, la densidad de electrones en la partícula se polariza a una superficie por su excitación en conjunto. La amplitud de la oscilación alcanza un pico máximo en una frecuencia específica, que representa la ubicación del PRSL (Eustis y El-Sayed, 2006). EL PRSL provoca una fuerte absorción de la luz incidente y por lo tanto se puede medir o sintonizar empleando la espectroscopía de UV-Vis, y este mucho mayor para nanoestructuras de metales nobles que otros (Eustis y El-Sayed, 2006; El-Sayed et al., 2006).

La intensidad de la banda PRSL y la longitud de onda dependen sobre los factores que afectan la densidad de carga de electrones en la superficie de la partícula, los cuales fueron descritos anteriormente como el tipo de metal, tamaño de partícula, forma, estructura, composición y la constante dieléctrica del medio, como lo explica la teoría de Mie. La teoría Mie luego se reduce a la siguiente relación (aproximación cuasi estática o dipolo:

$$\sigma_{ext} = \frac{9V\epsilon_m \frac{3}{2} \omega \epsilon_2(\omega)}{c [\epsilon_1(\omega) + 2\epsilon_m]^2 + \epsilon_2(\omega)^2}$$

Donde la V es el volumen de la partícula, c la velocidad de la luz, ϵ_m la constante dieléctrica del medio; así como ϵ_1 y ϵ_2 las constantes dieléctrica del material. Experimentalmente entre más pequeño sea el radio de la partícula el plasmón se desplaza del azul al infrarrojo en el espectro electromagnético y a su vez la dependencia del tamaño de la

constante dieléctrica se introduce a medida que el diámetro de la partícula se vuelve más pequeño que la trayectoria libre de los electrones de conducción (El-Sayed, et. al., 1999)

El PRS puede ser distinto para cada nanopartícula; en las NPs esféricas la excitación del plasmón sucede por causa de un solo dipolo, porque geoméricamente las dimensiones (radio) de la partícula son igual en cualquier ángulo en el que se incida la longitud de onda, por lo que se observa un solo pico en el espectro. En el caso de otras estructuras, el plasmón se comporta de manera distinta dependiendo de su geometría y se da lugar de múltiples polarizaciones. Por ejemplo, en los nanohilos y las nanobarras se presentan dos bandas de absorción sintonizable al plasmón, una de excitación longitudinal y otra transversal.

En la figura 2 se muestra la relación entre la intensidad del PRS contra el tamaño y forma, respectivamente. Debido a la excitación fotónica del PRSL es posible amplificar dos fenómenos de luminiscencia: 1) la dispersión Raman de la luz, por lo cual puede utilizarse para la detección amplificada de la espectroscopía Raman (SERS, por sus siglas en inglés); y 2) se incrementa la absorción de la luz y la manera en que posteriormente es convertida y liberada en forma de calor, efecto que se utiliza para las terapias hipertérmicas (Eustis y El-Sayed, 2006; El-Sayed et al., 2006)

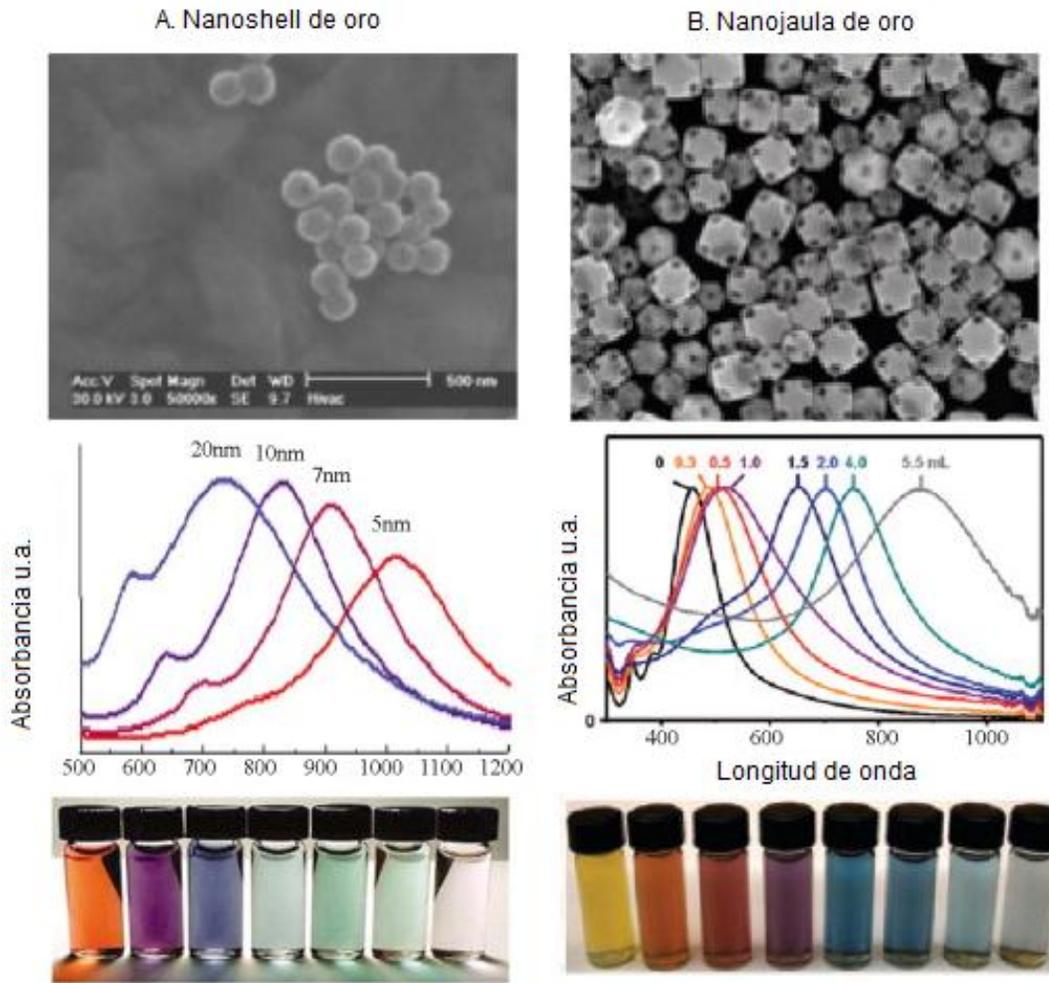


Figura 2. Diferencia de las propiedades ópticas según la forma de las nanopartículas. (El-Sayed et al., 2006)

Aplicaciones de las AuNPs Basadas en el PRSL

En el caso específico del oro, este es un metal cuyas aplicaciones terapéuticas se remontan a China en el año 2500 AC. Los antiguos egipcios llegaron a utilizarlo en la odontología y a pesar de que existieron muchas más civilizaciones que emplearon este metal con fines medicinales, el descubrimiento por Robert Koch del efecto bacteriostático del cianuro de oro frente al bacilo de la tuberculosis, marca el comienzo su utilización en medicina moderna siendo introducido en la terapia de la tuberculosis en 1920. En 1969, se descubrió la actividad antitumoral del cis platino, lo que promovió la investigación de otros metales con el mismo fin. (Al-Qadi y López, 2009). Actualmente se continúa con aplicaciones de las NPsM mucho

más novedosas como lo es la liberación de fármacos (drug delivery por su nombre en inglés), Amplificación de la señal Raman (Surface Enhanced Raman Scattering), microscopia de fluorescencia, terapia génica y Terapia Plasmónica Fototérmica (TPFT), que han apoyado de manera significativa al diagnóstico, tratamiento y monitoreo del cáncer, todo gracias sus propiedades ópticas y electromagnéticas asociadas al plasmón de superficie.

Liberación controlada de fármacos. Debido a la necesidad que existe de minimizar los efectos secundarios en la administración de fármacos, surge el desarrollo de nuevos sistemas de liberación que permitan además monitorear y controlar dicha administración, sean mucho más específicos donde las NPsM son ampliamente estudiadas. A nanoescala hay mayor facilidad de penetrar a la célula y varios compartimentos celulares, incluido el núcleo, por lo que vuelve al tratamiento más puntual y con mucha mayor distribución corporal. (De Jong y Borm, 2008). Las nanopartículas fluyen por endocitosis fácilmente y se difunden a través de la bicapa lipídica de la membrana celular. Por ejemplo, se ha demostrado que las AuNPs estabilizadas con ftalocianina son un posible vehículo de administración para la terapia fotodinámica, y que si son funcionalizadas con péptidos pueden ingresar fácilmente al núcleo celular. En el caso de las partículas que son conjugadas con anticuerpos contra los receptores exclusivos de la superficie de las células cancerosas se utilizan para unirse específicamente a las células cancerosas (Alaqad y Saleh, 2016). Las AuNPs pueden funcionar como “sistemas inteligentes” de liberación de moléculas terapéuticas en respuesta a un estímulo (puede ser un cambio en el pH o uno externo como la luz de un láser (Al-Qadi y López, 2009).

Amplificación de la señal raman (SERS). La oscilación del PSL se puede visualizar simplemente como un fotón confinado al tamaño pequeño de nanopartículas. Este fuerte confinamiento provoca la oscilación del fotón sintonizable con el PRS y conduce a un gran aumento del campo electromagnético. Además de mejorar todas las propiedades de radiación como la absorción y la dispersión, el campo electromagnético mejora la dispersión Raman de moléculas adyacentes, porque la intensidad de Raman es directamente proporcional al cuadrado de la intensidad de campo impuesto a las moléculas que adsorben las partículas. Este fenómeno se denomina Espectroscopía Raman de Superficie Amplificada (SERS).

El campo inducido para la mejorar la señal Raman está determinado por el tamaño de partícula, la forma, la composición y la orientación relativa de la partícula y la distancia. Se ha visto que las NPs pequeñas generan señales moderadas, mientras que los agregados generan una amplificación mayor (Huang y El-Sayed, 2010).

Terapia Plasmónica Fototérmica (TPFT)

Además de las propiedades ya descritas, las NPsM también son capaces de convertir la luz absorbida en calor a través de una serie de procesos no radiactivos. El proceso de transformación de energía comienza con la excitación coherente de los electrones en cuestión de femtosegundos, a partir de que la luz es incidida sobre la superficie del nanomaterial. A la par suceden múltiples colisiones electrónicas con temperaturas tan altas cercanas a 1 000 K. Entonces el electrón pasa la energía al fonón por interacciones electrón-fonón del orden de 0.5-1 pico segundos, lo que resulta en una red caliente con un aumento de temperatura en el orden de decenas de grados. Este proceso de relajación electrón-fonón es dependiente de tamaño y forma, ya que a medida que el tamaño de la nanopartícula disminuye, la absorción de energía es mayor (Mackey et al., 2014).

Dependiendo de la cantidad de energía absorbida, puede suceder que la nanopartícula se enfríe al transferir la energía al medio que lo rodea; otra alternativa es que el calor generado en el sistema sea tal provocando la fusión del nanomaterial, o que la partícula conserve la energía térmica y se comporte como un nanocalentador (capaz de disipar el calor) aprovechado para la ablación de células tumorales mediante el uso de láseres de una sola longitud de onda (Huang y El-Sayed, 2010).

La Terapia Plasmónica Fototérmina (TPFT) consiste en la utilización de NPMS como nanocalentadores para el tratamiento del cáncer. La TPFT necesita una fuente de luz de alta intensidad como lo es el láser (con longitudes de ondas en el Infrarrojo cercano para poder aprovechar una de las ventanas biológicas) para generar calor en un sistema a nanoescala que eleve la temperatura del medio circundante en periodos cortos de tiempo. La selección de la longitud de onda es sintonizable el PRSL, por lo que entre más cercana sea la eficacia de calentamiento será mayor.

Las células son muy sensibles a los cambios de temperatura por encima o debajo de la temperatura corporal; en el caso de la TPFT se inducen incrementos de temperatura en el rango de la hipertermia moderada (41 a 43 °C), condición que promueve la sensibilización y/o muerte celular. Xia et al. demostraron la destrucción de células de cáncer de mama *in vitro* por fototerapia, utilizando nanocajas de oro conjugadas con anti-HER2. En este estudio utilizaron NPsM de 65 nm de diámetro, las cuales fueron irradiadas con un láser de 800 nm. Las condiciones de tratamiento como la exposición al láser, y el tiempo de respuesta después de la irradiación pueden variarse para lograr una destrucción efectiva de células cancerosas.

La TPFT ofrece menos efectos secundarios y mayor especificidad en comparación de la quimioterapia o la radioterapia (Huang et al. 2008; Sreepasad y Pradeep, 2013; Huang y El-Sayed 2010), por lo tanto, ha ganado popularidad como una novedosa y más eficaz técnica terapéutica para la erradicación de pequeños tumores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Equipo Utilizado

- Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) modelo JEOL 1200 EX II.
- Espectrofotómetro UV-visible, modelo Agilent 84153.
- Láser
- Soporte universal
- Objetivo
- Termopar
- Laptop

Materiales

- Soporte Universal con pinza tres dedos
- Termostato
- Termómetro
- Cronómetro
- Láser de 765 nm
- Celdas de cuarzo
- Micropipeta de 1000 μL
- Algodón o gasa
- Puntillas

Metodología

Caracterización Físico-química de la Nanopartículas.

Se determinó el tamaño y forma de las nanopartículas utilizando un Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM) modelo JEOL 1200 EX II. Se realizaron acercamientos entre 25 y 60 X. Posteriormente, se hizo un análisis cualitativo para confirmar la presencia de nanopartículas del oro dentro de la estructura multifuncional a través de Espectroscopía de Dispersión de Rayos X.

Identificación del Plasmón de Superficie de las Nanopartículas de Sílica-Oro por Espectroscopia de Absorción UV-Visible.

Se añadió de 1 a 2 ml de agua destilada en una celda de cuarzo para que fuera el blanco de fondo y se leyó su absorción en el Espectrofotómetro UV-visible modelo Agilent 84153. Posteriormente se agregó la misma cantidad aproximadamente de la suspensión coloidal de Nanopartículas Si-Fe₂O₃-Au en una celda de cuarzo previamente limpia y desengrasada con alcohol etílico y se prosiguió a leer la absorción de la suspensión. La absorción obtenida indicó en qué longitud de onda se encuentra su plasmón de resonancia.

Evaluación de la Estabilidad Térmica.

Se tomó la muestra contenida en la celda para la identificación del plasmón y se calentó por 5 minutos a baño maría de 30°C, para luego dejarse enfriar por 15 minutos más y leer nuevamente la absorción de la muestra. Una vez hecho esto, el procedimiento se repitió para la temperatura de 35, 40, 45, 50, 55, 65 y 75 grados centígrados.

Evaluación la Eficacia de Calentamiento *in vitro*.

Se diseñó un sistema de calentamiento y monitoreo del de temperatura con un soporte universal, pinza para soporte, láser de 765 nm, caja petri dentro de un compartimento hecho de material aislante oscuro, acoplado a un detector de temperatura (termopar tipo k), una laptop, y un objetivo infinitamente corregido.

Se realizaron distintas diluciones de la suspensión coloidal de NPs de Sílica-Oro (concentración final de $0.1\mu\text{g/mL}$). En una caja petri pequeña se colocó 3.5 mL de agua para el blanco de fondo y se hizo incidir sobre ella la luz del láser de 765 nm. Se monitoreó y registró el aumento de temperatura en función del tiempo hasta los 100°C con ayuda de un termopar tipo K y el software PicLog. En otra caja Petri, se agregó el mismo volumen (3.5mL) de la suspensión coloidal y se le aplicó el mismo procedimiento que al blanco de fondo.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Caracterización de las Nanopartículas

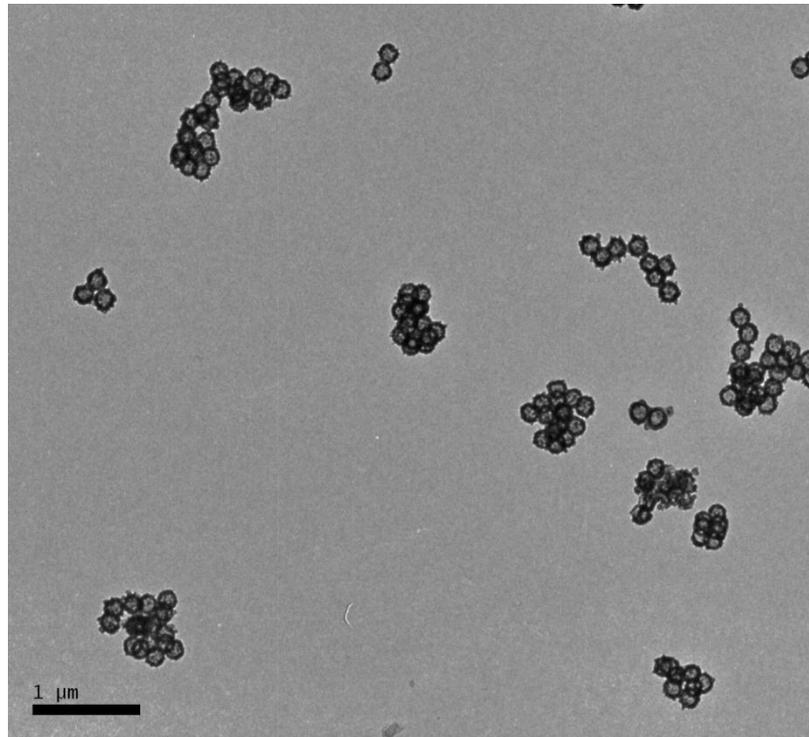
En la síntesis de la nanopartículas un paso fundamental es conocer el tamaño y la forma que tienen, y una de las técnicas utilizadas es la microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés). Esta microscopía se caracteriza por que los electrones de una fuente, entran en la muestra, se dispersan al pasar a través de ella y se enfocan con un lente de objetivo, y a su vez se amplifican mediante un lente amplificador o detector y producen una imagen (Pool y Owens , 2006).

En la figura 3 se muestran las micrografías TEM de las nanoestructura Si-Fe₂O₃-Au suspendidas en agua. En el caso de la figura 3a se observa cómo están distribuidas las NPs en una muestra representativa de la suspensión coloidal en una magnificación de 3000X. Tienen una morfología esférica y un tamaño relativamente homogéneo, así como también ausencia de aglomeraciones de partículas mayores a 1 micra.

También de esta imagen se aprecia que las nanoesferas lucen significativamente parecidas entre sí, lo que indica que la síntesis por este procedimiento es homogénea. En la figura 3b es posible observar con mayor resolución el tamaño y forma del nanocomposito de Si-Fe₂O₃-Au, con un diámetro promedio de 150 nm aproximadamente en escala de la barra. La parte oscura (pequeñas esferas de la superficie), indican la presencia de las nanopartículas de oro embebidos en la superficie de esta esfera, información que fue confirmada con el EDX tal como se describirá más adelante.

A partir de las micrografías TEM se realizó un histograma de distribución de tamaño (figura 4). Se tomó una población de 50 partículas a las que se les midió el diámetro calculado a través de la escala de la barra del programa Image J. La figura 4 representa las variaciones de tamaño de las NPs de Si-Fe₂O₃-Au utilizando el programa ImageJ, con diámetros que van entre los 140 y 169nm, con una media calculada de 155± 5 nm. De manera general, más del 60 por ciento de las partículas (34 NPs) distribuyen en diámetros de 150 y 159 nm, por lo cual se puede hablar de una población homogénea monodispersa. Esta información es fundamental, ya que es bien conocido que el tamaño y la forma de la NP impacta directamente en sus propiedades ópticas y electromagnéticas

(a)



(b)

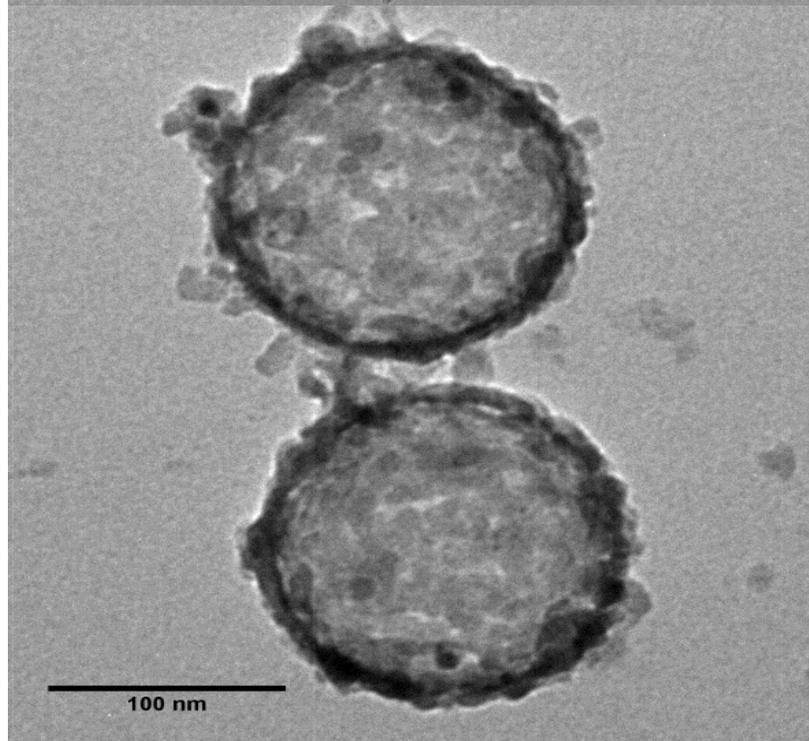


Figura. 3 Caracterización morfológica de las nanopartículas de $\text{Si-Fe}_2\text{O}_3\text{-Au}$ (a) Micrografía TEM con magnificaciones de 3000X y (b) 1200X.

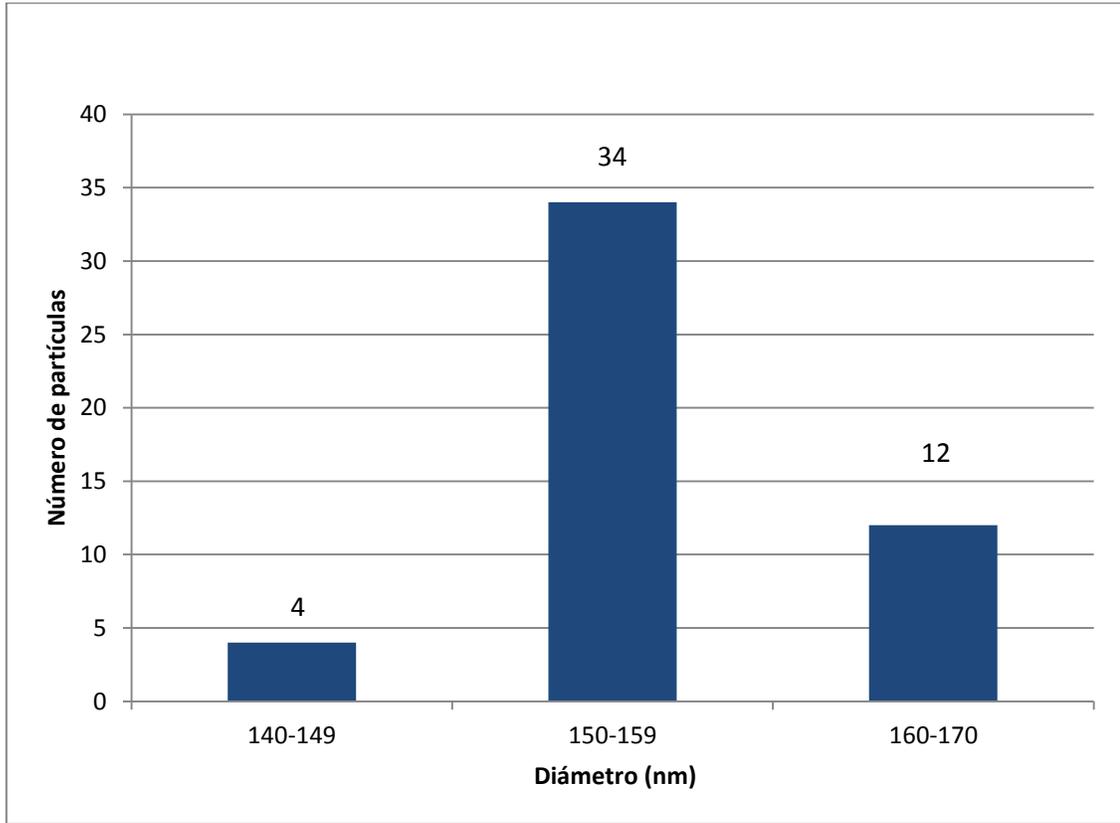


Figura 4. Histograma de distribución de las nanopartículas de Si-Fe₂O₃-Au.

Caracterización Química de las Nanopartículas Si-Fe₂O₃-Au

Para la caracterización química de la nanoestructura se utilizó la Espectroscopía por Difracción de Rayos X (EDX). Esta técnica es una herramienta esencial porque nos permite realizar un análisis cualitativo de la muestra. Para ello se hace incidir un haz de rayos x a la muestra, y ésta energía produce la excitación electrónica de los electrones presentes en las capas más internas del átomo, produciendo su ionización debido a la salida de un electrón de un orbital interno del átomo. Con el fin de restablecer la estabilidad atómica, los electrones de las capas adyacentes llenarán el espacio vacante, al pasar un electrón de otra capa y con una energía diferente al del electrón saliente hay una diferencia de energía, la cual se emite en forma de radiación de rayos X. El fotón de rayos X emitido tendrá una energía específica igual a la diferencia entre las dos energías de enlace de un electrón de las capas interna y adyacente, y esta energía es única para cada elemento (Meléndez y Camacho, 2009).

La figura 5 muestra el difractograma de las nanopartículas de Si-Fe₂O₃-Au por EDX realizado de manera externa en la Universidad de California, San Diego (UCSD) como parte de su colaboración a este trabajo de investigación.

En la imagen se puede observar un pico cercano a 1.5 KeV perteneciente a la energía de ionización del Aluminio como muestra control, y de manera continua una señal en 1.7 KeV y otra de 2.2 KeV correspondientes a la energía de ionización del Silicio y Oro respectivamente. De esta forma se asegura la composición química del nanocomposito, donde la presencia del oro específicamente le proporcionará las propiedades ópticas y plasmónicas a la partícula.

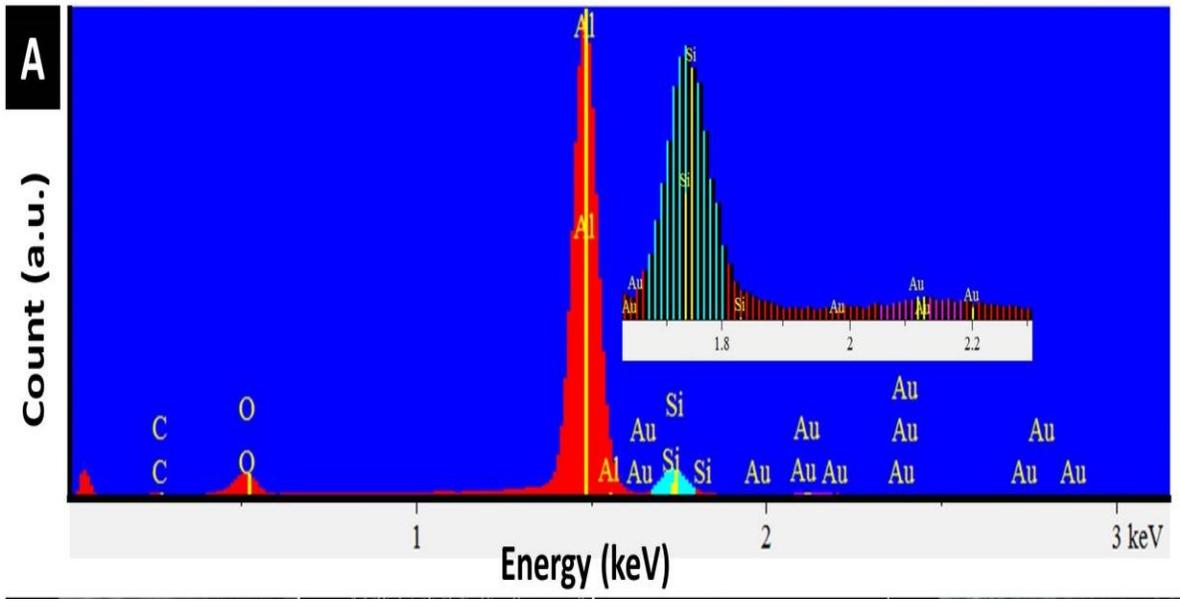


Figura 5. Composición química de nanopartículas por Espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDX).

Localización del Plasmón de Resonancia Superficial (PRS) por Espectroscopía de Absorción UV-Visible

Toda NP metálica presenta una resonancia de plasmón de superficie (PRS) cuya localización en longitud de onda se determina a través de la absorción de luz. La figura 6 muestra la localización del PRS o RPS de las NPs de Si-Fe₂O₃-Au empleando la espectroscopía de absorción UV-Visible. En esta imagen es posible observar un pico de absorción donde el efecto resonante es más intenso y el cual se distribuye en un amplio rango que va desde los 400 a los 850 nm aproximadamente, mostrando un pico de absorción máxima localizado cercano a los 600 nm.

Como es bien conocido, factores como el tamaño y la forma de las nanopartículas metálicas influye significativamente en la ubicación del PRS, lo cual a su vez afecta las propiedades ópticas de dichas nanopartículas. Considerando la naturaleza de nuestras nanopartículas (un nanocomposito que contiene oro coloidal en su superficie), la tendencia indica que entre más amplio es el diámetro del nanocomposito, es decir, que entre más grande sea la partícula final, la absorción tiende a desplazarse hacia el espectro de luz roja y aumenta también el ancho de la banda de absorción. Esto último se ha confirmado con el espectro de absorción, tal como se describe anteriormente en la figura 6, el PRS aparece como un hombro amplio que se distribuye hasta la longitud de la luz roja.

La amplitud de la RPS de estas nanopartículas es una ventaja, ya que es posible excitarlo en diferentes longitudes de onda (con diferentes tipos de láseres) de acuerdo al objetivo que queramos darles a estas nanopartículas. Esto se traduce a que con longitudes de onda próximas a los 600 nm la mayoría de los electrones alcanzarán su estado de máxima excitación energética, y a su vez, podrán ser aprovechadas las propiedades plasmónicas de las nanopartículas de Si-Fe₂O₃-Au; sin embargo, es de gran importancia señalar que al excitar el resto de longitudes dentro de los 400 a los 850 nm, los fotones serán absorbidos significativamente, aunque de una manera menos efectiva con respecto al pico máximo en 600 nm.

En este caso en particular, el potencial de las nanopartículas de Si-Fe₂O₃-Au quiere dirigirse hacia las terapias hipertérmicas en tejido biológico. En ese sentido, es factible su empleo para uso terapéutico ya que el PRS está cerca de la primera ventana biológica (750-950nm), rango donde la mayoría de los tejidos o biomoléculas presentan baja, nula o insignificante absorción de la luz, evitando así el indeseado efecto fotoquímico. En nuestro caso utilizamos un láser de 765 nm como fuente de excitación del PRS y los resultados se describirán más adelante.

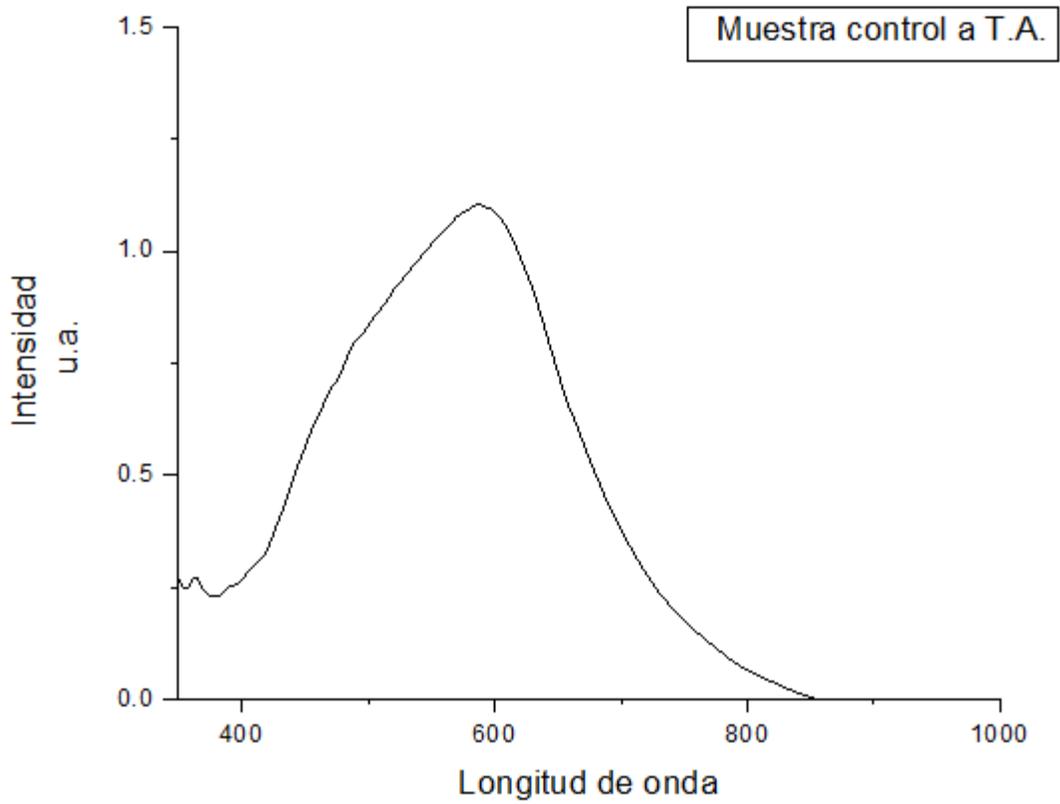


Figura 6. Localización del PRS de las nanopartículas de Si-Fe₂O₃-Au a temperatura ambiente.

Evaluación de la Estabilidad de Calentamiento y Eficacia Térmica

Para utilizar estas NPs como nanocalentadores es necesario que estas puedan absorber la luz láser y convertirla eficientemente en calor, termino mejor conocido como eficacia térmica. La capacidad que tengan estas estructuras de mantener su forma y tamaño –y por ende la misma RPS- se conoce como estabilidad de calentamiento.

En la figura 7 se ven los espectros de absorción de las NPs de Si-Fe₂O₃-Au desde la temperatura ambiente (25 °C) hasta su calentamiento a los 30, 35, 40, 45, 50, 55, 65, 75 °C a los que fue expuesta la suspensión coloidal de nanopartículas en un baño maría. Los espectros se obtuvieron luego de establecer la temperatura deseada y tras dejar estabilizar en TA durante 15 minutos.

De la gráfica se puede notar que intensidad de absorción fue diferente según el rango de temperatura: i) para el rango de 30 a 35 °C la absorción es cercana al 100% con respecto con la T.A; ii) decrece la absorción de la luz para el rango de los 45 a los 55 °C a la mitad aproximadamente; iii) y una quinta parte de absorción para temperaturas de 65 y 70 °C con respecto a T.A. También notamos que la RPS se ve afectada por la temperatura (Figura 8). Para el rango temperatura i (30 a 35 °C) la RPS permanece intacto con un máximo cercano a los 600 nm (tal como su caracterización a TA); para el rango ii (45 a 55 °C) se puede observar un desplazamiento de 50 nm de la RPS hacia la derecha. Este desplazamiento se puede considerar poco significativo, aunque ya es un indicativo de estabilidad térmica. En este caso, se puede decir que los nanocompositos Si-Fe₂O₃-Au son muy estables hasta los 55°C, ya que siguieron mostrando absorción importante, y se siguen considerando funcionales tomando en cuenta que las temperaturas requeridas para la ablación celular en la TPFT oscilan entre los 42 y 45°C respectivamente.

Sin embargo, para el rango de temperatura iii (65 y 70 °C), la localización de la RPS se desplaza 150 nm a la derecha, hasta los 750 nm. Esto, indica que estas NPs no son estables para este rango de temperatura, ya que su plasmón de superficie y eficacia de absorción de la luz se modificó/disminuyó notablemente. Este cambio del PRS se debe a que al calentar esta solución a temperatura mayor a los 60 °C las nanopartículas se aglomeran y, por lo tanto incrementan su tamaño y así su RPS también cambia.

La forma en que la localización de RPS se afecta con la temperatura es graficada en la figura 9, de ahí se puede deducir que no es recomendable utilizar estas nanopartículas para temperaturas mayores de 60 °C.

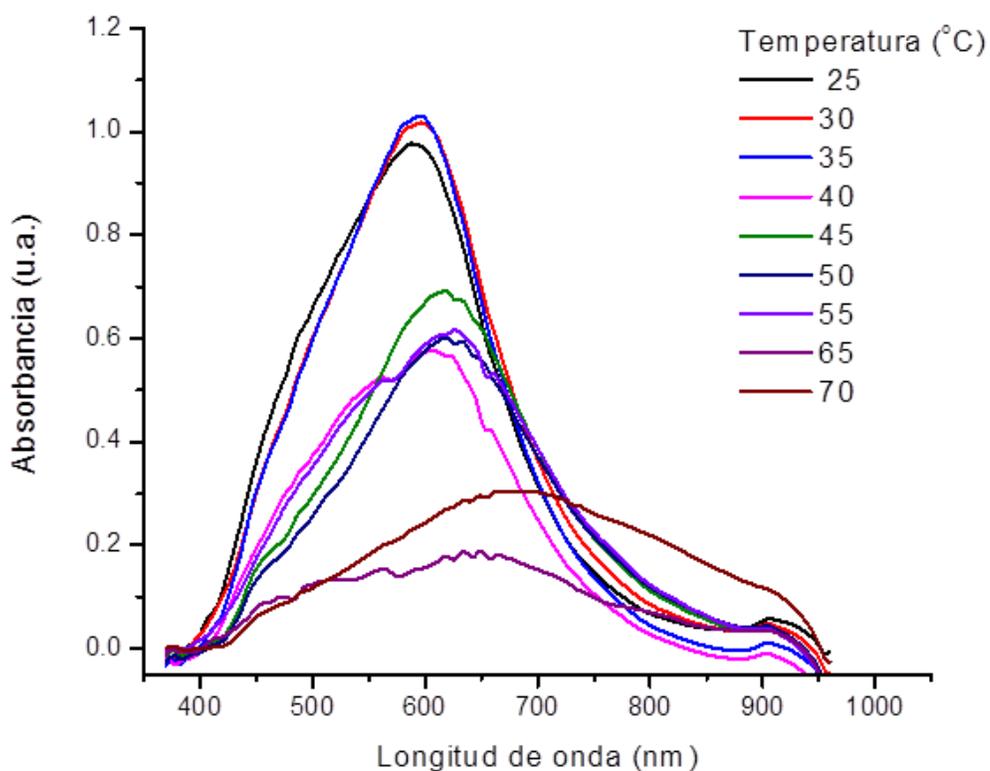


Figura 7. Espectros de absorción de las Si-Fe₂O₃-Au esféricas a diferentes temperaturas.

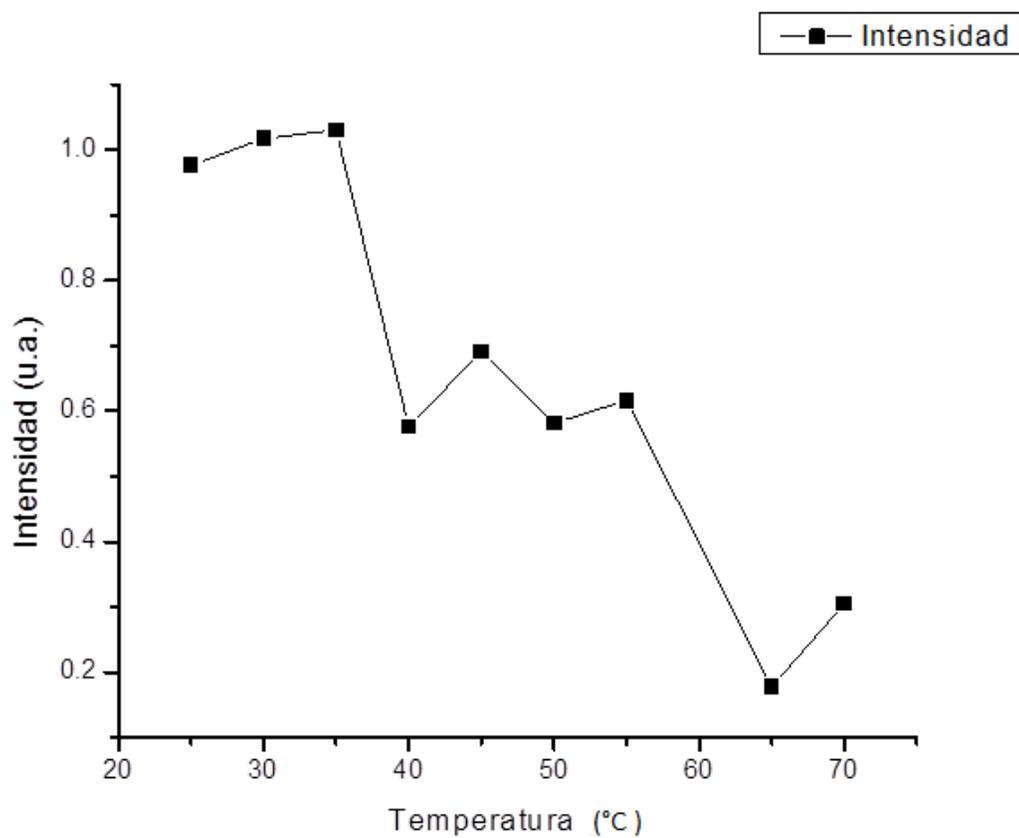


Figura 8. Intensidad de la absorción de la luz de las NPs a diferentes temperaturas.

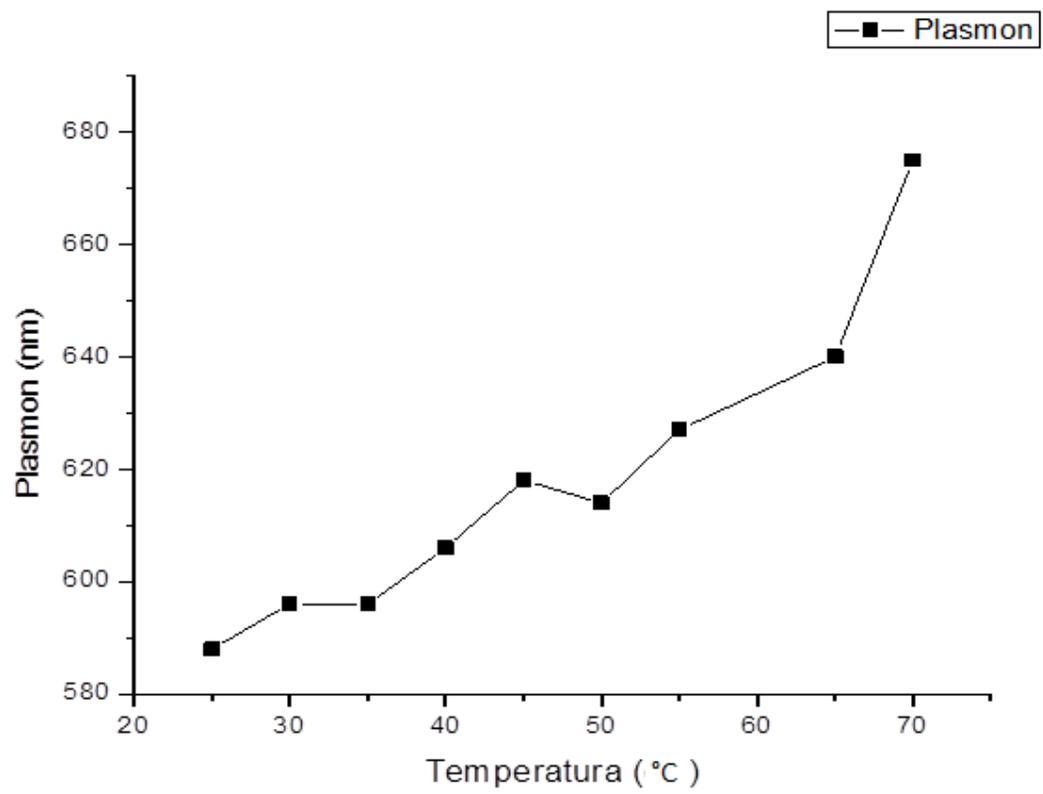


Figura 9. Localización del PRS a diferentes temperaturas. En ella se observa como a medida que aumenta la temperatura de la solución coloidal de NPs la ubicación del plasmón se desplaza al infrarrojo cercano.

De manera general se puede decir que la intensidad con la que se excitan los electrones en la superficie de las NPs se ve afectada por temperaturas elevadas, sin embargo, así como en la figura 6, la intensidad del plasmón permanece estable entre 40 y 55°C. En el caso de las temperaturas 65 y 70°C, se puede inferir que las NPs comenzaron a aglomerarse, lo que redujo el área superficial de las partículas y por consecuencia la disminución en la energía de absorción, la intensidad del plasmón de resonancia superficial y la eficacia térmica. Esta aglomeración no se pudo apreciar macroscópicamente, debido a que no se detectó precipitación en la suspensión pero si en la intensidad del plasmón como ya se mencionó.

La estabilidad térmica se cuantificó considerando que la intensidad de absorción del plasmón de superficie de las NPs a temperatura ambiente corresponde al 100%. En la figura 10 se observa una gráfica mostrando la estabilidad térmica en porcentaje. En ella se ve como la estabilidad térmica de la nanoestructura decrece con respecto a la temperatura, mostrando un incremento dramático después de los 55 °C. Sin embargo, para fines de aplicación estas NPs como potenciales nanocalentadores para la TPFT (temperaturas de 41 a 45 °C), estas NPs presentaron una estabilidad del 80%.

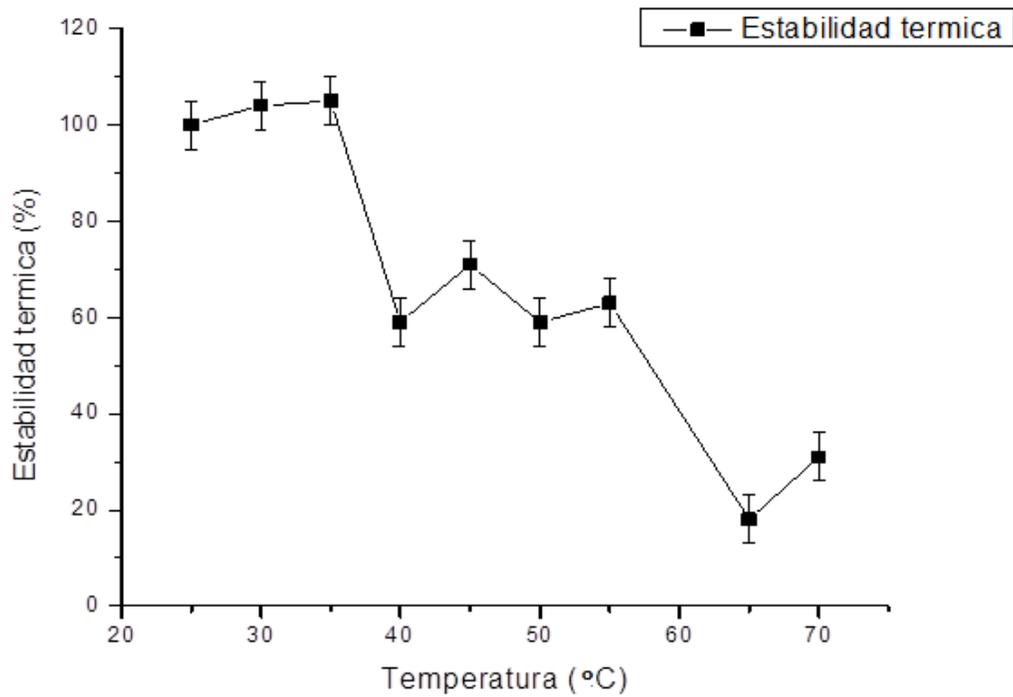


Figura 10. Eficiencia térmica de las Si-Fe₂O₃-Au. El porcentaje de la eficacia se tomó considerando la intensidad de absorción a TA como el 100%. En ella se muestra que estas NPs presentan baja estabilidad para temperaturas mayores de 50 °C.

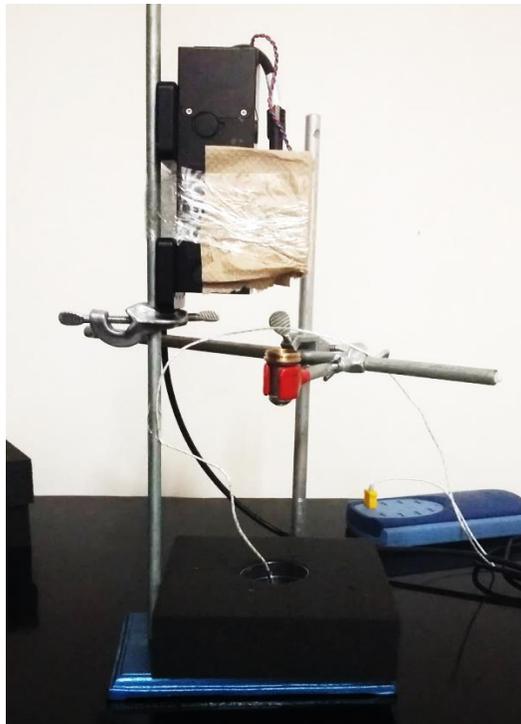
Elaboración de un Sistema de Calentamiento

Una vez que se logró determinar la estabilidad térmica, se procedió a establecer una configuración técnica para suministrar la excitación laser a las nanopartículas. El sistema de calentamiento elaborado permite recrear las condiciones necesarias para la hipertermia *in vitro* controlada.

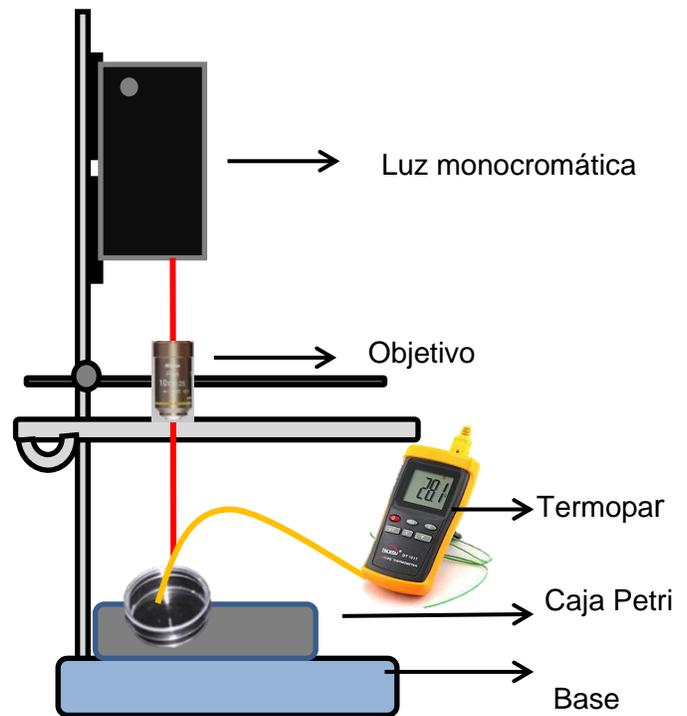
Este sistema está constituido por diversas partes fundamentales, entre ellas un láser o un haz de luz monocromática de 765 nm, cuya función es lograr la excitación de los electrones localizados en la RPS; objetivo indefinidamente corregido, que permite que la luz generada por el láser sea dirigida totalmente hacia la muestra; un termopar, para registrar y monitorear la temperatura de calentamiento y enfriamiento durante todo el proceso; un soporte universal, que le da firmeza al sistema; una base de material aislante con caja petri que minimice los cambios bruscos de temperatura e intercambios de energía entre la solución coloidal y medio ambiente; y un ordenador para la recepción y análisis de los datos. La figura 11 corresponde a una fotografía donde se ve el sistema de calentamiento en su conjunto (11a), y cada una de sus partes (figura 11b).

En la figura 12 se presenta una curva de calentamiento activado remotamente con el encendido del láser, y cuyo enfriamiento es notable al apagar el láser. Este esquema representa la comprobación experimental de la eficacia térmica. Es notable cómo se produce un incremento de la temperatura en función del tiempo cuando la luz del láser se incide sobre la suspensión coloidal de NPs.

Con los datos obtenidos se pudieron establecer las condiciones para la hipertermia controlada con las partículas de Si-Fe₂O₃-Au: tiempo de exposición de aproximadamente 7.3 minutos bajo una longitud de onda de 765nm, con 3.5 mL de suspensión coloidal de NPs en concentración de 0.1 µg/mL. De lo anterior se deduce que las nanoestructuras son capaces de funcionar como un nanocalentador, y a su vez ser empleado en la TPFT.



(a)



(b)

Figura 11. Set up de calentamiento. Sistema adaptado para comprobar la eficiencia de calentamiento utilizando una luz monocromática.

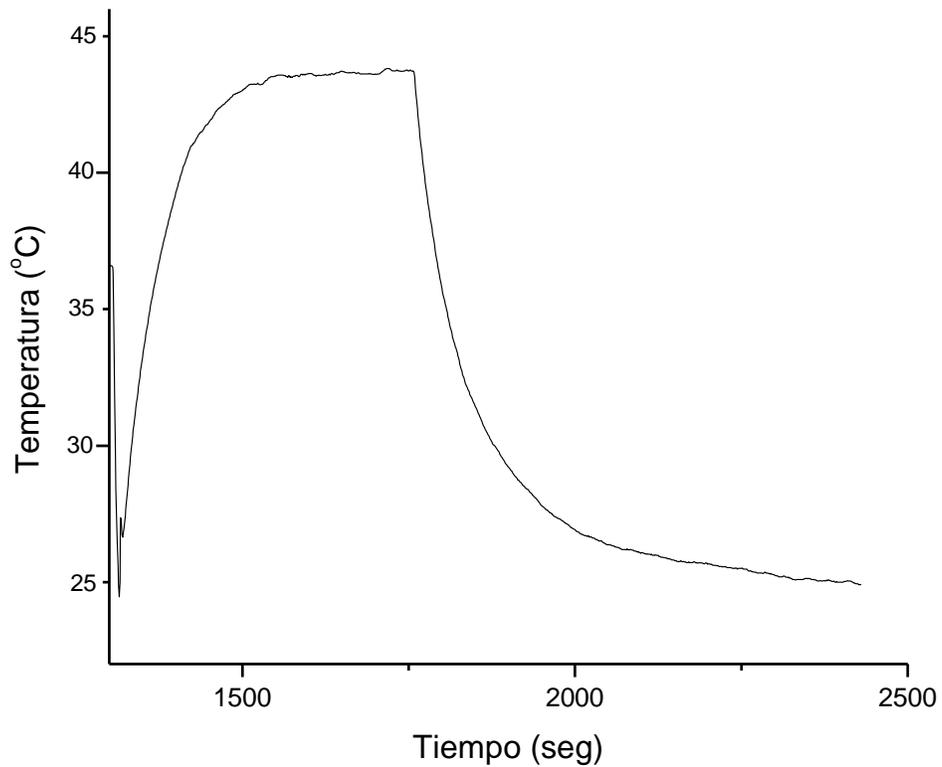


Figura 12. Curva de calentamiento/enfriamiento in vitro de las NPs de Si-Fe₂O₃-Au. El calentamiento se activó remotamente usando un láser de 765 nm con las condiciones establecidas para la hipertermia moderada: tiempo de exposición de aproximadamente 7.3 minutos, a una solución de 3.5 mL de una concentración final de 0.1 µg/mL.

CONCLUSIONES

Las nanocompositos sintetizadas con metales nobles tienen características ópticas distintivas de otras asociadas al fenómeno de PRSL, incluyendo a aquellas que están constituidas por nanopartículas de oro, óxidos de hierro sobre una superficie de silica (óxido de silicio), como en el caso de las NPs estudiadas, en donde su tamaño aproximado de 155 nm y forma esférica desempeñan un papel fundamental.

Se demostró que las nanopartículas de oro embebidas en su superficie de estas NPsM Si-Fe₂O₃-Au le otorgan las propiedades ópticas y electromagnéticas asociadas a la presencia del plasmón de resonancia localizado superficial. Esto complementado con el tamaño, composición química y forma de estas nanoestructuras sugieren diversas aplicaciones biomédicas posibles, particularmente como agente nanocalentador para la TPFT.

Las NPs esféricas de Si-Fe₂O₃-Au presentan estabilidad térmica en temperaturas cercanas a la hipertermia controlada (41 a 45 °C), característica necesaria para su aplicación con fines terapéuticos en la TPFT. Sin embargo, se demostró que pierden la estabilidad térmica en temperaturas por encima de los 55°C.

La absorción de energía máxima de las partículas se encuentra en longitudes de onda próximas al infrarrojo cercano (600 nm), dato que permite seleccionar el tipo de luz monocromática para lograr la excitación colectiva de sus electrones, así como también se disminuirían los efectos dañinos para la célula al mínimo al aprovechar una de las ventanas biológicas. Es posible establecer un sistema de calentamiento que permita evaluar el potencial de las partículas como nanocalentadores, al exponerse a una luz monocromática y el monitoreando la temperatura a través de un software adaptado a una computadora.

Se establecieron los parámetros de calentamiento hipertérmico de estas NPs de la nanoestructura Si-Fe₂O₃-Au, lo cuales son: una concentración de 0.1 µg/mL, laser 765 nm, tiempo de exposición de aproximadamente 7.3 minutos.

Para asegurar su eficacia previamente a su utilización en la TPFT en tejido vivo o tumores, es necesario seguir realizando estudios para comprobar la capacidad de las Nanopartículas para continuar funcionando como un nanocalentador en tejidos, ya sea cultivos celulares o modelos murinos en primera instancia.

BIBLIOGRAFÍA

- Al-Qadi, S. & C. R. López (2009). Nanopartículas metálicas: oro. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 7, 223-248.
- Alaqad, K. & T. Saleh (2016) . Gold and Silver Nanoparticles: Synthesis Methods, Characterization Routes and Applications towards Drugs. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology*, 6, 384.
- Chirico, G., Pallavicini, P., & Collini, M. (2014). Gold nanostars for superficial diseases: a promising tool for localized hyperthermia? *Nanomedicine*, 9(1), 1-3.
- De Jong, W. H. & P. J. A. Borm (2008) Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *International Journal of Nanomedicine*, 3, 133-149.
- Dykman, L., & Khlebtsov, N. (2012). Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives. *Chemical Society Reviews*, 41(6), 2256-2282.
- Díaz del Castillo Rodríguez, F. (2012). Introducción a los nanomateriales. *Lecturas de ingeniería*, 20, 2-9.
- El-Sayed, I. H., Huang, X., & El-Sayed, M. A. (2006). Selective laser photo-thermal therapy of epithelial carcinoma using anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles. *Cancer letters*, 239(1), 129-135.
- Eustis, S., & El-Sayed, M. A. (2006). Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical society reviews*, 35(3), 209-217.

- Fernández T. M., M.C. Carrillo V. J. (2014). Nanopartículas de oro, su aplicación en la medicina. *Rev. Ciencia y Desarrollo*. Artículos en línea conacyt. Edición enero-febrero. Disponible en <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/269/articulos/nanoparticulas-de-oro-aplicacion-medicina.html>
- Hao, E., & Schatz, G. C. (2004). Electromagnetic fields around silver nanoparticles and dimers. *The Journal of chemical physics*, 120(1), 357-366.
- Huang, X. & M. A. El-Sayed (2010) Gold nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *Journal of Advanced Research*, 1, 13-28.
- Huang, X., Jain, P. K., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2008). Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles. *Lasers in medical science*, 23(3), 217-228.
- Jain, P. K., Lee, K. S., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2006). Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(14), 7238-7248.
- Li, Y., Verbiest, T., Strobbe, R., & Vankelecom, I. F. J. (2014). Silver nanoparticles as localized “nano-heaters” under LED light irradiation to improve membrane performance. *Journal of Materials Chemistry A*, 2(9), 3182-3189.
- Mackey, M. A., Ali, M. R. K., Austin, L. A., Near, R. D., & El-Sayed, M. A. (2014). The most effective gold nanorod size for plasmonic photothermal therapy: theory and in vitro experiments. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(5), 1319-1326.

Near, R., Hayden, S., & El-Sayed, M. (2012). Extinction vs absorption: which is the indicator of plasmonic field strength for silver nanocubes? *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(43), 23019-23026.

Poole, C. and Owens, F. (2007). *Introducción a la nanotecnología*. Barcelona, España: Editorial Reverté. 374p.

ANEXO

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
Ag	Plata
AgNPs	Nanopartículas de plata
Au	Oro
AuNPs	Nanopartículas de oro
EDX	Espectroscopia de Dispersión de Rayos X
NPs	Nanopartículas
NPsM	Nanopartículas Metálicas
PRL	
PRS	Plasmón de Resonancia Superficial
PRSL	Localizado
Pt	Platino
SERS	Surface Enhanced Raman Scattering
TNF	Factor de necrosis tumoral
TPFT	Terapia Plasmónica Fototérmica