

Avances nanotecnológicos en Bioquímica Clínica

Una amplia variedad de sustancias puras o combinadas sufren alteraciones en sus propiedades fisico-químicas y presentan comportamientos insólitos en el nanospacio (1-100 nanómetros) conocido como mesoespacio.

Es evidente que su manipulación y el conocimiento de las propiedades en dicho ámbito son cada día más ampliamente investigadas y desarrolladas.

El empleo de nanotecnologías en el ámbito del laboratorio aplicado a la medicina y en biotecnología (en agronomía, biología molecular en vegetales) constituye un gran avance del conocimiento por sus connotaciones económicas y la relación costo-beneficio.

Las nuevas herramientas del nanodiagnóstico incluyen los puntos cuánticos (QDs, del inglés *quantum dots*), las nanopartículas de oro y los soportes (*"cantilevers"* en inglés).

Puntos cuánticos - *Quantum dots*

Son las nanoestructuras más promisorias para las aplicaciones diagnósticas. Están constituidos por un nanocristal semiconductor, caracterizado por una fuerte absorbanza, que puede emplearse como una etiqueta fluorescente.

La siguiente tabla puede dar una idea de distintos tipos de puntos cuánticos y su correspondiente longitud de onda de emisión.

| <i>Puntos cuánticos</i> | <i>Longitud de onda emitida</i> |
|-------------------------|---------------------------------|
| CdSe/ZnS | 550-630 nm |
| CdSe core | 525-655 nm |
| InP | infrarrojo cercano |
| InAs | infrarrojo cercano |
| PbS core | 850 y 950 nm |
| PbSe core | 1.100, 1.310, 1.550 y 1.900 nm |

FABRICACIÓN DE PUNTOS CUÁNTICOS

Existen diversas estrategias para sintetizar nanocristales con diferentes propiedades que dependen de las aplicaciones. Los QDs se pueden conjugar a anticuerpos, oligonucleótidos o aptámeros, o pueden cubrirse con estreptavidina y el QD puede ser usado como una etiqueta fluorescente no específica.

| <i>Puntos cuánticos (QDs)</i> | <i>Soportes o "Cantilevers"</i> | <i>Oro en partículas</i> |
|--|--|--|
| Nanocristales con un diámetro de 2-8 nm, de estructura típica, constituidos por un semiconductor incluido en una cáscara de otro semiconductor con un amplio ancho de banda y una tercera cáscara que puede tener solubilidad en agua. | Soportes de Silicio micro-construido, parecidos a los empleados en el microscopio de fuerza atómica. | Partículas de oro nanométricas constituidas por esferas concéntricas de orden nanométrico con un cuerpo dieléctrico, sulfuro de oro o silicio, rodeado con una fina lámina de oro. |

APLICACIONES

| | | |
|---|---|--|
| Pruebas inmunohistoquímicas Detección de neurotransmisores. Imágenes celulares. | Detección y cuantificación de proteínas y de ADN. | Determinación de agentes infecciosos por hibridación de ADN. |
|---|---|--|

TOXICIDAD

| | | |
|--|-------------------------------|--------------------------------------|
| Riesgo de ruptura del corazón semiconductor tóxico en el sistema del huésped. El cuerpo tiene acción tóxica pues se incorpora como metal al sistema. | No tienen toxicidad conocida. | No se han descrito acciones tóxicas. |
|--|-------------------------------|--------------------------------------|

Muchos QDs requieren encapsulación con micelas de copolímeros, micelas de fosfolípidos, nano o micro esferas o bien cáscaras de polisacáridos anfífilicos.

La conjugación con avidina puede ser modificada empleando ácido dihidroxilipoico.

Por otra parte, la técnica de nanoencapsulación de nanocristales con sustancias poliméricas anfífilicas ha sido usada para preparar CdSe/ZnS que es el más empleado y el ácido mercaptoetanoico se ha empleado para solubilizar el complejo CdSe/ZnS.

Nanotecnología aplicada al diagnóstico químico clínico

INMUNOANÁLISIS CON NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Las partículas nanomagnéticas son marcadas con un analito que está adherido a un anticuerpo específico que reacciona con el antígeno y la medición se efectúa con un magnetómetro.

VENTAJAS

Elevada sensibilidad relacionada con modificaciones sutiles en el carácter magnético y habilitado para

detectar células cancerosas en circulación y microorganismos.

NANO CÓDIGO DE BARRAS

Obtenidos por deposición electroquímica secuencial, iones metálicos dan sub-micrométricamente códigos de barras que tienen reflectividad diferencial, lo que permite la identificación de una muestra por la luz del microscopio.

VENTAJAS

Usado para la determinación de múltiples proteínas aun cuando difieran en un simple aminoácido.

| TECNOLOGÍA | DESCRIPCIÓN | VENTAJAS |
|--|---|--|
| Nano alambres | Obtenidos por empleo de nanopartículas de oro y puntos cuánticos (PQs) de distintas formas y tamaños. | Se asocian a biomoléculas y se emplean para diagnósticos <i>in vivo</i> . |
| Nano poros | Membranas con nano poros entre dos soluciones que permiten, por acción de la corriente, sólo el pasaje de ácidos nucleicos o biomoléculas cargadas de un tamaño en particular. | Se aplican a sistemas fluidos sensibles para detectar bases simples sustituidas en ADN. |
| Nano capacitores | Electrodos separados en orden nano, la hibridación de ADN produce cambios en la capacitancia del sistema. | Pueden ser empleados para la determinación simultánea de ácidos nucleicos marcados. |
| Nano tubos | Nano tubos de carbono o de nitruro de boro que llevan en su extremo sondas de ADN; pueden también incorporar enzimas para reconocer sustratos. | Se emplean para amplificación o marcado de ADN. |
| Resonancia de luz dispersada | Emplea luz coloreada que es dispersada por nanopartículas metálicas de plata u oro de diámetro uniforme. | Aumenta un millón de veces las señales fluorescentes. |
| Ferrofluidos de nano partículas | Constituidos por una capa de polímero de un sustrato biológico con un <i>core</i> magnético; un tipo de molécula con afinidad por un analito " <i>target</i> " se coloca sobre la capa superior, las partículas del ferrofluido unidas al analito son separadas magnéticamente. | Alta sensibilidad para separar analitos. |
| Nanosensores Pebble (<i>probes encapsulated by biologically localized embedding</i>) | Se emplean moléculas encapsuladas en burbujas de microemulsiones en una matriz inerte por un proceso de polimerización de una microemulsión. | Se emplean en imágenes intracelulares de moléculas o iones. Insensible a interferencias proteicas. |

APLICACIONES

Una de las más sensibles y promisorias aplicaciones del nano código de barras la constituye la detección de un marcador para la enfermedad de Alzheimer, que es el ligando difusible del derivado amiloide (ADDL). Se ha empleado un anticuerpo monoclonal específico para el oligómero específico ADDL. La detección permite identificar 50 moléculas en 10 µL de líquido cefalorraquídeo. El método utiliza la medición de la luz dis-

persada por las partículas nanométricas de oro y plata, medidas con un *scanner*. Este método es un millón de veces más sensible que el método de ELISA y puede emplearse en una valoración de ADDL en sangre para el diagnóstico primario de Alzheimer.

ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO

El método del nano código de barras para la detección de proteínas de cáncer de próstata y pulmón ha

permitido detectar empleando la sensitiva amplificación con plata, concentraciones de 30 amol/L en 10 μ L de muestra.

OTRAS APLICACIONES

La gran sensibilidad, rapidez y bajo costo de estas técnicas hace pensar que rápidamente serán incorporadas al diagnóstico tumoral, imagen tisular, imagen celular, inmunohistoquímica, diagnóstico múltiple y fluoro-inmunoensayo.

Estas tecnologías podrían ser aplicadas en las técnicas de *point-of-care* y particularmente en tecnología de *lab-on-chip* (el laboratorio en un chip).

Bibliografía

- Azzari Hassan ME, Mansour Mai MH, Kazmierczak SC. Nanodiagnosics: a new frontier for clinical laboratory medicine. Clin Chem 2006; 52:7; 1238-46.
- Salata OV. Applications of nanoparticles in biology and medicine. J Nanobiotechnology 2004; 2 (1): 12.
- Bar A, Gonzalez Lascertales I, Márquez M. Microchorros y nanochorros. Investigación y Ciencia 2005; 351: 44-51.
- Choro GM, Gonsalves KE. Nanotechnology. Molecular Designed Materials. Washington DC: ACS; 1996.

DR. JUAN M. CASTAGNINO

Director

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana



- ▶ sobre nosotros
- ▶ cuerpo editorial
- ▶ instrucciones a los autores
- ▶ suscripción



ISSN 0325-2957
versión impresa

Publicación de
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires

Misión

Publicar artículos científicos originales en las áreas de las Ciencias de la Salud.

Título anterior:

Bioquímica clínica ISSN 0 006-3533

© 2007 **Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires**

**Calle 6 - No. 1344
(B1900TFM) La Plata - Prov. de Buenos Aires - República Argentina
Tel./Fax: (54) (221) 483-8821/483-7281/423-0252/423-3597**



actabioq@fbpba.org.ar

SciELO: Scientific Electronic Library Online - SciELO, es una biblioteca electrónica que permite acceder al texto completo de una colección seleccionada de revistas científicas.

Constituye un proyecto de carácter regional que en Argentina es gestionado por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT) dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

A través del portal www.scielo.org, que integra y provee acceso a la red de sitios SciELO, es posible realizar búsquedas en la colección completa de SciELO o a nivel de colecciones particulares.