

ARTICULO REVISIÓN

Revisión del estado actual y posibilidades de las aproximaciones más importantes al transporte específico de agentes quimioterápicos a las células tumorales.

Review of the “state of the art” and possibilities of the most significant approaches to the specific delivery of chemotherapy agents to tumor cells.

Sáez-Fernández E¹, Ruiz MA¹, López-Ruiz A², Arias JL^{1*}

¹Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, Granada España.

²Grupo de Investigación de Atención Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada, Granada. España.

* e-mail: jlarias@ugr.es

RESUMEN

Los principales problemas de la quimioterapia proceden esencialmente de la relativa falta de especificidad derivada de la extensa biodistribución de los agentes antitumorales y de los efectos secundarios generados por la acción inespecífica de éstos en tejidos y órganos sanos. La necesidad de encontrar tratamientos eficaces contra el cáncer ha hecho que se incrementen las líneas de investigación en esta materia. Una de las aproximaciones más prometedoras en este sentido es el desarrollo de sistemas coloidales biodegradables para el transporte de fármacos antitumorales. Gracias a éstos, se logra acumular específicamente la cantidad de fármaco administrada en el lugar de acción, logrando así un aumento significativo de la eficacia clínica, junto con una minimización de las reacciones adversas asociadas. En este trabajo, pretendemos analizar el estado actual en el diseño de coloides como transportadores de fármacos antitumorales, junto con la aplicación de las novedosas estrategias de transporte pasivo y activo de fármacos.

PALABRAS CLAVE: Cáncer, Coloide Magnético, Fármaco Antitumoral, Nanomedicina, Nanopartícula, Transporte Activo de Fármacos, Transporte Pasivo de Fármacos.

ABSTRACT

The main problems related to chemotherapy mainly come from a relative lack of selectivity, that is associated to the extensive biodistribution of antitumor molecules, and to the severe side effects generated by the unspecific drug action on healthy tissues and organs. The need of finding out efficient treatments against cancer has led to an enhancement in the number of research lines in the field. In this way, one of the most promising approaches is the development of biodegradable colloids for the delivery of antitumor drugs. Thanks to them, it is possible to specifically concentrate the drug into the site of action. Therefore, a significant improvement of the chemotherapy effect is obtained along with a minimization of the related adverse side effects. In this review, we analyze the current “state of the art” in the development of colloidal systems for the efficient delivery of anticancer drugs. The possibilities of novel drug delivery strategies based on passive and active targeting mechanisms are also discussed.

KEYWORDS: Active Drug Targeting, Antitumor Drug, Cancer, Magnetic Colloid, Nanomedicine, Nanoparticle, Passive Drug Targeting.

INTRODUCCION

Desde hace pocos años, el diseño de sistemas coloidales como transportadores de fármacos antitumorales pretende ser la herramienta definitiva para solventar todos los problemas relacionados con la quimioterapia: *a)* el carácter hidrófobo de muchos de estos fármacos; *b)* la amplia biodistribución de los agentes quimioterápicos, junto con su extensa extravasación en tejidos sanos, debida a una muy baja selectividad por las células diana; *c)* la importante biodegradación del fármaco anticanceroso, que implica la necesidad de administrarlo en alta dosis; y, *d)* un perfil farmacocinético desfavorable de este tipo de moléculas¹.

El fracaso del tratamiento antitumoral es muy frecuente incluso en los cánceres que son más sensibles a los agentes quimioterapéuticos. Un claro ejemplo lo encontramos en la utilización de 5-fluorouracilo en el tratamiento del cáncer colorrectal avanzado, el cual sólo induce una respuesta global del 10 %. Además, la combinación de este agente con otros antitumorales sólo logra mejorar la eficacia de la acción anticancerosa entorno al 45 %².

Con el objetivo de solucionar estos problemas se han asociado moléculas antitumorales con sistemas coloidales en el tratamiento del cáncer³. Esta asociación pretende aumentar la acumulación específica del fármaco en la zona tumoral y un incremento en el tiempo de exposición fármaco-célula maligna. De esta manera, se mejora el perfil farmacocinético del agente quimioterápico, consiguiendo la disminución de la toxicidad asociada a éste. Es por ello, que numerosos esfuerzos se están concentrando en el desarrollo de coloides para conseguir el transporte eficaz de cualquier antitumoral a la zona diana⁴. Sin embargo, recientes investigaciones han probado que esta simple asociación no siempre resulta suficiente para lograr dirigir específicamente un fármaco a cualquier zona del organismo, más allá de los órganos pertenecientes al sistema retículo endotelial (SRE, p.ej., hígado, bazo, médula ósea)⁵. La aplicación de estrategias de transporte pasivo [basadas en el efecto de permeabilidad y retención aumentada (“EPR effect”)] y de transporte activo de fármacos [fundamentadas en interacciones específicas ligando-receptor y en el diseño de coloides sensibles a estímulos] pretende mejorar la direccionalidad del fármaco anticanceroso en el organismo³.

En esta revisión nos centraremos en el estudio de estas novedosas estrategias de transporte de fármacos antitumorales. En concreto, analizaremos sus principios básicos, su aplicación práctica y los principales resultados obtenidos hasta la fecha tanto *in vitro*, como *in vivo*.

2. Estrategias de transporte pasivo de fármacos al lugar de acción: Efecto de permeabilidad y retención aumentada (efecto “EPR”)

Nada más administrar un sistema coloidal, se produce una interacción importante con el SER y éste. Por este motivo, las partículas coloidales son retiradas de la circulación sanguínea por los macrófagos que pertenecen a este sistema, dependiendo de su tamaño y de

sus características superficiales. En concreto, se ha demostrado que partículas coloidales con una tamaño por encima de 500 nm, con gran carga eléctrica superficial (independientemente de su signo) y con una naturaleza fuertemente hidrófoba son rápidamente retiradas del plasma y concentradas en los órganos del SRE.

Las estrategias de transporte pasivo de fármacos están basadas en la microarquitectura irregular de las masas tumorales. En concreto, un sistema de drenaje linfático no funcional (lo que origina una mayor retención de líquidos en el espacio intersticial del tumor) y la mayor permeabilidad vascular de estos tejidos en comparación con los tejidos sanos⁶. El destino biológico de los sistemas coloidales administrados se puede controlar ajustando su tamaño y sus características superficiales, a fin de lograr una acumulación específica y masiva en el tumor⁷. El tamaño debe ser lo suficientemente grande como para que no haya extravasación a través de capilares sanos, pero lo suficientemente pequeño como para escapar del SRE. Se recomienda que se encuentre entre 10 y 100 nm.

En cuanto a las características superficiales, cualquier vehículo transportador de principios activos debe tener una superficie lo más hidrófila posible para retardar su identificación por el SRE, mediante procesos de opsonización [adsorción superficial de opsoninas (un tipo de proteínas plasmáticas)] y captura por los macrófagos. Esto puede lograrse principalmente de dos maneras: *i*) recubriendo la superficie del coloide hidrófobo con un polímero hidrófilo (p.ej., polietilén glicol, PEG); o, alternativamente, *ii*) el sistema transportador puede estar constituido por copolímeros con dominios hidrófilos e hidrófobos⁴. Esto posibilita un notable aumento en el tiempo de residencia del coloide en el organismo (mayor semivida plasmática) y, así, dirigir el fármaco directamente a los tumores localizados fuera de las regiones del SRE. Este fenómeno se conoce con el nombre de efecto de permeabilidad y retención aumentada ("EPR effect") y está basado en la mayor permeabilidad de los capilares sanguíneos que irrigan el tumor por defectos asociados con una formación defectuosa⁸. La cadena hidrófila se dispone en la superficie de las nanopartículas, principalmente mediante adsorción física o conjugación química, y será capaz de repeler las opsoninas, retrasando así el proceso de opsonización⁸. Como ejemplo, la incorporación de fosfolípidos sintéticos (conjugados con gangliósidos) en la superficie de nanopartículas sólidas lipídicas cargadas con doxorubicina permite incrementar la semivida plasmática del antitumoral en comparación con este fármaco administrado en forma de solución intravenosa⁹.

La metodología que permite modificar la superficie de los coloidales no es nada complicada. Por ejemplo, se han diseñado copolímeros de poli(D,L-lactida) (PLA) y PEG mediante una técnica especialmente sencilla basada en la formulación de emulsiones de aceite en agua (o/a). El PLA se localiza así en la fase orgánica y el PEG en la fase acuosa. La etapa final de esta técnica es la eliminación del disolvente orgánico, formándose así las nanopartículas de polímero con PEG en la superficie¹⁰.

3. Estrategias de transporte activo de fármacos al lugar de acción

Si bien las estrategias de transporte pasivo contribuyen al logro de una mayor localización de los fármacos en el lugar de acción, la especificidad por la masa tumoral todavía no se encuentra suficientemente asegurada. En la actualidad, se ha propuesto un nuevo tipo de estrategias para lograr que sistemas transportadores “convencionales” se concentren selectivamente en la región cancerosa. Las llamadas estrategias de transporte activo persiguen que coloides de diferente origen (p.ej., polimérico o lipídico) incorporen en su superficie ligandos específicos de receptores típicamente “sobre-expresados” por las células tumorales. De forma alternativa, este tipo de estrategias también están basadas en el diseño de nanopartículas con capacidad para responder a estímulos externos. En ambos casos, el sistema transportador se acumulará totalmente en la región deseada y solo allí liberará el fármaco antitumoral¹¹.

3.1. Transporte activo de fármacos mediante interacciones ligando-receptor

Estas estrategias permiten la liberación selectiva del fármaco en la región diana, minimizando las reacciones adversas asociadas. La unión específica del sistema coloidal a la célula diana se logra eficientemente mediante mecanismos de reconocimiento molecular (principalmente, uniones ligando-receptor o interacciones antígeno-anticuerpo), lo que generalmente conduce a la internalización de la nanopartícula en la célula tumoral⁸.

3.1.1. Transporte mediado por anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales son moléculas diseñadas para su interacción específica y unión con antígenos y receptores de las células cancerosas¹³. Se ha propuesto recientemente el diseño de liposomas modificados superficialmente con el factor de crecimiento epidérmico-2 (HER-2), el cuál es “sobreexpresado” por muchas líneas de células tumorales. Diversas investigaciones han puesto de manifiesto que la utilización de liposomas con cadenas de PEG localizadas a nivel superficial, mejora claramente la eficacia terapéutica del fármaco antitumoral en diversos tipos de células cancerosas, en comparación con el tratamiento de referencia. Nanopartículas de poli(D,L-lactida-co-glicolida) (PLGA) modificadas superficialmente con el anticuerpo monoclonal citoqueratina para el transporte activo de cistina (un potente inhibidor de las proteasas extracelulares) han permitido mejorar el tratamiento del cáncer de mama invasivo metastásico¹⁴.

3.1.2. Transporte mediado por péptidos

La existencia de la secuencia RGD (arginina-glicina-ácido aspártico) en determinados péptidos y macromoléculas peptidomiméticas, permite que estas biomoléculas tengan una alta afinidad por las integrinas que se encuentran “sobreexpresadas” en la neovasculatura tumoral¹⁵. El tipo de macromolécula peptídica a utilizar en esta estrategia de transporte dependerá de la clase de integrina que se encuentre en la superficie de la célula tumoral.

Por ejemplo, la modificación superficial de nanopartículas de albúmina con los

péptidos CREKA y Lyp-1 ha permitido obtener una mejora muy prometedora de la actividad anticancerosa de paclitaxel en ratones con tumores subcutáneos (línea celular MDA-MB-435)¹⁶.

Se ha propuesto el transporte activo de 5-fluorouracilo mediante el diseño de liposomas con cadenas de PEG y la secuencia peptídica PR_b, la cuál imita el dominio de adhesión de la fibronectina, permitiendo así una acumulación selectiva en las células de cáncer de colon que expresan superficialmente la integrina $\alpha_5\beta_1$. Esta interacción coloide-célula tumoral se traduce en un proceso de endocitosis del sistema transportador y, así, una mayor acción citotóxica por parte del principio activo¹⁷. Otro ejemplo muy interesante es la formulación de liposomas modificados superficialmente con el péptido PH1, el cuál presenta una gran especificidad de unión por las integrinas Tie2¹⁸. La vehiculización del antitumoral cisplatino en estas estructuras liposómicas incrementa la acción citotóxica de este principio activo en la células tumorales que presentan en su superficie la biomacromolécula Tie2.

Se ha demostrado que el diseño de nanopartículas de ácido poliglutámico modificadas superficialmente con el péptido H2009.1 (biomolécula que presenta una gran afinidad por los receptores de integrinas $\alpha_v\beta_6$) permite el transporte específico del agente antitumoral doxorubicina a las células cancerosas que “sobreexpresan” este receptor en su superficie¹⁹.

Numerosos estudios han demostrado que la utilización de sistemas coloidales modificados superficialmente con macromoléculas de tipo peptídico permite aumentar la eficiencia del proceso de transfección de genes (o secuencias de oligonucleótidos, porciones de ARN y ADN) en células cancerosas²⁰. Por lo tanto, esta estrategia ofrece posibilidades muy interesantes para lograr la introducción definitiva de la terapia génica en el tratamiento del cáncer. Por ejemplo, una reciente investigación ha demostrado una mayor eficacia de la transfección del gen mutante RAF a células cancerosas, si éste es incorporado en liposomas poliméricos catiónicos modificados superficialmente con péptidos específicos de las integrinas $\alpha_v\beta_6$. Como resultado de esto, se ha descrito la inhibición de los procesos de angiogénesis que posibilitan el aporte de nutrientes a la masa tumoral¹¹.

3.1.3. Transporte mediado por aptámeros

Los aptámeros son secuencias de ácidos nucleico, capaces de unirse selectivamente a determinados antígenos que se localizan en la superficie de las células tumorales. En el tratamiento del cáncer, pueden acoplarse a sistemas de transporte de fármacos para aumentar su especificidad por las células cancerosas²¹.

Por ejemplo, el docetaxel ha visto mejorada su actividad anticancerosa cuando es vehiculizado en nanopartículas de PLGA modificadas a nivel superficial con cadenas de PEG y con el aptámero A10 2'-fluoropiridina (específico del antígeno PSMA que sobreexpresan las células de cáncer de próstata)²². En este estudio, se observó un incremento muy significativo en la citotoxicidad inducida en células LNCaP de cáncer de próstata, en comparación con la acción ejercida por las nanopartículas que carecían de este aptámero en

su superficie ($p < 0,0004$).

3.1.4. Transporte mediado por ácido fólico y derivados

Los receptores de folato se encuentran de forma muy abundante en las células cancerosas, ya que éstas tienen unos requerimientos muy importantes de ácido fólico para la síntesis de ADN. La interacción de las moléculas de ácido fólico con el receptor de folato en las células tumorales conduce generalmente a un proceso de endocitosis que desemboca en una acumulación citosólica de estas moléculas. Esta estrategia ha sido propuesta incluso para mejorar la eficiencia de las formulaciones que se preparan como herramientas para el diagnóstico del cáncer y para aumentar la eficacia de la fototerapia en el tratamiento del cáncer²³. Diversos estudios demuestran que los liposomas con restos de folato localizados a nivel superficial logran aumentar la acumulación del fármaco antitumoral vehiculizado en el interior de las células tumorales y, así, su citotoxicidad²⁴.

Esta estrategia se ha utilizado en el diseño de nanopartículas de poli(etilenimina) para la terapia génica de gliomas²⁵. Se ha formulado paclitaxel en el interior de nanopartículas de PLA que presentan en su superficie cadenas de PEG y ácido fólico. Esta modificación superficial ha permitido una mayor acumulación del sistema transportador *in vivo* en tumores subcutáneos inducidos con células MCF-7 en comparación con las nanopartículas control, y así una mayor eficacia antitumoral de paclitaxel¹⁰.

3.1.5. Transporte mediado por transferrina

Los receptores de transferrina se localizan en gran cantidad en la superficie de una amplia gama de células cancerosas. Debido a la posibilidad de saturación de estos receptores como consecuencia de la existencia de transferrina endógena en plasma, se ha sugerido la administración directa del sistema transportador de fármaco en el interior de la región diana o la utilización de anticuerpos mononucleares específicos de estos receptores (p.ej., OX26 y TfRscFv) para alcanzar de manera efectiva la zona tumoral²⁶.

Un reciente estudio *in vitro* ha demostrado que la conjugación de transferrina con nanopartículas de PLGA cargadas con paclitaxel, origina una captación tres veces mayor por células de cáncer de próstata humano (PC3), y una mayor acción antitumoral del paclitaxel en células de cáncer de mama MCF-7 debido a su gran retención intracelular²⁷. Esta estrategia para el transporte activo de fármacos permite también mejorar los tratamientos fototerápicos de tumores y las herramientas de diagnóstico del cáncer mediante resonancia magnética de imagen²⁸.

3.2. Transporte activo de fármacos basado en sistemas coloidales sensibles a estímulos

Los sistemas transportadores sensibles a estímulos son fundamentalmente de origen polimérico [poli(alquilocianoacrilato), PLA, PLGA, poli(ϵ -caprolactona), quitosan, principalmente]. Su diseño pretende hacerlos sensibles a pequeñas modificaciones de entorno

biológico, lo que provoca cambios muy rápidos en su estructura y propiedades físicas. Esto conduce generalmente a su destrucción y, así, a la liberación específica del fármaco en la región del organismo donde se encuentre ese estímulo. La idea es hacer que el estímulo responsable de la destrucción del sistema transportador coloidal se localice específicamente en la región diana. Los estímulos a los que son sensibles los coloides se pueden producir en el interior del organismo (p.ej., cambios de pH, temperatura, etc.), o bien pueden tener un origen externo (p.ej., campos magnéticos). Esta estrategia permite modular la duración e intensidad del efecto farmacológico²⁹.

3.2.1. Transporte activo controlado por cambios de pH

Esta es, quizás, una de las estrategias de transporte activo de fármacos más prometedoras en la actualidad. Está basada en la utilización de materiales para la formulación de coloides que sean extremadamente sensibles a pequeños cambios de pH con respecto al natural de la sangre (pH = 7.4). Por ejemplo, a nivel de la región tumoral existen alteraciones en el flujo sanguíneo y peculiaridades metabólicas (p.ej., glicolisis aeróbica y anaeróbica) que determinan un pH \approx 6.6 en el intersticio tumoral. De esta manera, el sistema transportador se enfrentará a un entorno ligeramente ácido al que es muy sensible, por lo que se destruirá, liberando al mismo tiempo el principio activo vehiculizado de forma específica en este lugar.

Los materiales poliméricos que son sensibles a pH ácido contienen grupos carboxilo o sulfónicos, mientras que las partículas de naturaleza polimérica y sensibles a pH básico contienen en su estructura química sales de amonio.

En este sentido, una posibilidad alternativa es la utilización de sistemas transportadores (como liposomas) sensibles a pH entre 4.5 y 5.0. Estos coloides tras su internalización por la célula tumoral mediante endocitosis, se degradarán en el interior de los lisosomas en este entorno ácido y bajo la acción de enzimas hidrolíticas como la catepsina B²⁹.

La utilización de partículas de poli(L-histidina) modificadas con cadenas de PEG y restos de ácido fólico han permitido el transporte específico de doxorubicina a tumores subcutáneos inducidos en ratones. En este trabajo se demostró que las partículas se unen a las células tumorales a través de sus receptores folato, y se produce un proceso de endocitosis y degradación lisosomal con la consiguiente liberación intracelular del fármaco³⁰.

Otro tipo de copolímeros sensibles a cambios en el pH es el constituido por la poli(*N*-isopropilacrilamida) y el quitosan. En concreto, se ha utilizado como sistema de transporte activo de paclitaxel. Este copolímero permite una gran liberación de esta molécula cuando entra en contacto con pHs < 6,9 (típicos de la región tumoral). La utilización de este tipo de nanomedicina en el tratamiento de ratones con tumores inducidos con células S-180-KM generó la regresión completa de la masa tumoral en el 50 % de los animales tratados³¹.

Por último, varias investigaciones han demostrado que los sistemas liposómicos sensibles a cambios de pH permiten un mayor transporte de agentes quimioterápicos a la zona diana, gracias a sus propiedades fusogénicas³². Este tipo de formulaciones (tamaño de partículas \approx 150 nm) presentan además una modificación superficial con anticuerpos monoclonales del factor de crecimiento epidérmico, y han sido utilizados como vehículos del anticanceroso gemcitabina en el tratamiento de ratones con tumores inducidos mediante células A549 BALB/c-nu/un³³. Recientemente, se ha propuesto la formulación de inmunoliposomas sensibles a pequeñas reducciones del pH del entorno fisiológico constituidos por una estructura liposómica conjugada con cadenas de *N*-isopropilacrilamida, que además es modificada a nivel superficial con anticuerpos monoclonales anti-CD33 específicos de líneas celulares de leucemia. Esta nanoplataforma presenta interesantes posibilidades en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda³⁴.

3.2.2. Transporte activo controlado por cambios de temperatura

Los coloides elaborados con materiales termosensibles se caracterizan por sufrir un proceso de desestabilización/destrucción ante ligeros cambios de temperatura (generalmente, incrementos).

El polímero más empleado en el diseño de este tipo de sistemas transportadores es la poli(*N*-isopropilacrilamida). La principal razón que motive su extensa utilización es que la temperatura que provoca su descomposición se encuentra muy próxima a la temperatura fisiológica. Incluso es posible el control de ésta (ajuste a \approx 42 °C) mediante la formación de copolímeros con el monómero hidrófilo *N,N*-dimetilacrilamida. Otros polímeros termosensibles que se encuentran también en investigación son la poli(*N*-(1)-1-hidroximetilpropilmetacrilamida), la poli(2-carboxi-isopropilacrilamida), la poli(*N*-acril-*N'*-alquilpiperacina), y la poli(*N,N'*-dietilacrilamida)²⁹.

Recientemente, se han desarrollado magnetoliposomas (magnetosomas) sensibles a pequeños incrementos de temperatura, con el objetivo de lograr el transporte eficaz del antitumoral metotrexato al lugar de acción. La membrana lipídica de este sistema transportador está constituida por 1,2 dipalmitol-glicero-3-fosfolina y colesterol. Un ligero aumento de la temperatura (de 37 °C a 41 °C) aplicado en el lugar de acción, provocaba la destrucción del magnetosoma y la liberación específica de metotrexato en la masa tumoral (> 80 % del fármaco vehiculizado)³⁵. Una estrategia muy interesante para aumentar la termosensibilidad de los liposomas es la introducción de polímeros termosensibles en su estructura, como la poli(*N*-isopropilacrilamida)³⁶.

Con el mismo fin, se han diseñado nanopartículas magnéticas constituidas por un núcleo de magnetita (Fe₃O₄) y recubiertas por dextrano-g-poli(*N*-isopropilacrilamida-*N,N'*-dimetilacrilamida) para la liberación selectiva del antitumoral doxorubicina en la masa tumoral. Este sistema transportador magnético tiene la capacidad de acumularse específicamente en el lugar de acción controlado por un campo magnético. Además, la utilización de un campo electromagnético alterno de gran frecuencia provoca el

calentamiento específico de los núcleos magnéticos (efecto hipertérmico) y, así, el calentamiento específico y degradación del polímero, liberándose el agente antitumoral³⁷. Con la misma filosofía se han desarrollado geles magnéticos de poli(*N*-isopropilacrilamida)³⁸.

Sin embargo, las aplicaciones de los óxidos de hierro superparamagnéticos en hipertermia no finalizan aquí ya que por sí mismos pueden provocar la muerte de las células tumorales, si el aumento de temperatura es suficiente (42 a 45 °C)³⁹. Cuando estos materiales entran bajo la acción de un campo magnético alterno de gran frecuencia (≈ 1 MHz), su rápida orientación en la dirección del gradiente magnético determina su calentamiento por producirse una reducción en la histéresis magnética de éstos^{40,41}. Además, el calentamiento provocará la desorganización del material de recubrimiento de los núcleos magnéticos y, de esta forma, la liberación controlada del fármaco en la región tumoral⁴².

3.2.3. Transporte activo controlado por campos magnéticos

Por su capacidad de respuesta a campos magnéticos, los coloides magnéticos son capaces de llevar a los agentes quimioterápicos de manera específica al lugar de acción, siempre y cuando el gradiente magnético aplicado se localice en éste. Incluso se puede lograr mantener el coloide magnético en el interior de la masa tumoral durante el tiempo preciso para que todo el fármaco vehiculizado sea liberado⁴³. Al principio se pensaba que la formulación de un sistema transportador magnético sólo se basaba en la utilización de nanopartículas magnéticas (generalmente óxidos de hierro como la magnetita o la maghemita). Sin embargo, este tipo de materiales se caracteriza por una deficiente capacidad para la vehiculización de principios activos, junto con una liberación excesivamente rápida de éstos¹. Por el contrario, los polímeros biodegradables y los liposomas tienen una notable capacidad para el transporte de fármacos: gran eficiencia de vehiculización, junto con una liberación lenta, sostenida o controlable del agente antitumoral transportado. Por lo tanto, desde la década de 1980 se comenzó el desarrollo de sistemas coloidales mixtos. Estos sistemas transportadores están constituidos por un núcleo magnético que asegura la acumulación del coloide en el lugar diana bajo la influencia de un gradiente magnético, y un material de recubrimiento (polimérico o liposómico, principalmente) que mejora la biodegradabilidad y biocompatibilidad de la nanoplataforma, y la capacidad de transporte de principios activos⁴⁴.

Dado que el gradiente magnético disminuye con la distancia, la principal limitación de esta estrategia de transporte activo de fármacos es la intensidad del campo magnético necesaria para controlar la permanencia del coloide magnético en el lugar diana, o para activar la liberación del fármaco. Para solucionar estos posibles problemas y, por lo tanto, asegurar la acumulación selectiva del coloide magnético en estructuras internas del organismo, se investiga la implantación de pequeños imanes magnéticos en el interior o las proximidades del lugar diana mediante cirugía menor. Es más, se ha descrito que el uso de implantes magnéticos junto con un campo magnético externo puede acrecentar aún más la acumulación de las nanoplataformas magnéticas cargadas de fármaco anticanceroso en la

zona tumoral⁴⁵.

Finalmente, se ha descrito que la combinación de este tipo de estrategia de transporte activo con estrategias de transporte basadas en las interacciones ligando-receptor permite prolongar la permanencia y conseguir una mayor acumulación del coloide magnético en la región diana. Para ello, lo que se realiza es modificar la superficie de estas nanoplataformas magnéticas con moléculas específicas (p. ej., folato y derivados, anticuerpos monoclonales, transferrina, etc.) de los receptores que se sobre expresan en la superficie de las células tumorales o en la superficie de las células endoteliales de los vasos sanguíneos que irrigan el tumor⁴⁶. Así, esta estrategia incluso puede llegar a aumentar la selectividad de las nanopartículas magnéticas por la neovascularización tumoral⁴⁷.

3.2.4. Transporte activo controlado por la luz

El diseño de materiales capaces de responder a estímulos luminosos (luz ultravioleta o visible) quizás sea una de las estrategias de transporte activo de fármacos que menos interés ha suscitado en los últimos años. Sin embargo, los sistemas transportadores de fármacos que son capaces de degradarse ante un estímulo de luz visible (liberando así el fármaco transportado) son realmente interesantes por su seguridad, bajo coste y fácil manipulación. Además, el estímulo luminoso puede ser administrado de forma controlada y precisa²⁹. Sin embargo, son necesarias más investigaciones en este sentido para demostrar la eficacia del transporte y de la liberación de agentes quimioterápicos en el lugar de acción mediante esta estrategia.

3.2.5. Transporte activo controlado por ultrasonidos

Se trata de una estrategia de transporte activo de fármacos no invasiva que permite lograr simultáneamente la localización selectiva del coloide en la región tumoral (expuesta a los ultrasonidos) y su destrucción (con la consiguiente liberación del fármaco en esta zona). En concreto, la aplicación de ultrasonidos en la región tumoral provoca un incremento en la permeabilidad de los capilares sanguíneos que irrigan el tumor, la generación de energía térmica y la alteración de las membranas de las células malignas²⁹. La acción de los ultrasonidos depende principalmente de la frecuencia, la densidad de potencia y el tiempo de aplicación.

En un reciente estudio se analizó los beneficios de vehiculizar el antitumoral cisplatino en liposomas modificados superficialmente con cadenas de PEG, dirigiéndolos al lugar de acción con la ayuda de ultrasonidos de baja frecuencia (≈ 20 kHz) en la región tumoral. Esta estrategia se utilizó en el tratamiento de ratones con tumores inducidos en la cavidad intraperitoneal con células de linfoma C26. Esta nanomedicina se administraba en el lugar diana y, tras una hora, se sumergía el lugar diana en un recipiente de agua con una sonda de ultrasonidos en su interior. En el caso del tratamiento de los tumores localizados en las extremidades posteriores de los animales, 24 horas después de la administración de la nanomedicina, se sumergía el tumor en un baño termostatizado a 24 °C y se procedía a la

aplicación de los ultrasonidos de baja frecuencia. Así, se observó que $\approx 70\%$ de la cantidad de cisplatino vehiculizada de los liposomas se acumulaba selectivamente en el tumor gracias a la acción de los ultrasonidos. Una cantidad enormemente superior a la correspondiente con la no utilización de ese estímulo ($< 3\%$). Por lo tanto, se concluyó que la utilización esta estrategia de transporte activo de fármacos está especialmente indicada en el tratamiento de tumores superficiales (p. ej., piel, cabeza, cuello y cánceres ginecológicos). Sin embargo, los ultrasonidos de gran frecuencia están indicados en el tratamiento de tumores localizados en estructuras más profundas del organismo⁴⁸.

3.2.6. Transporte activo controlado por sistemas enzimáticos

Esta estrategia de transporte activo de fármacos se basa en la existencia de enzimas naturales de la región tumoral que tienen la capacidad para provocar la liberación del fármaco mediante la destrucción/degradación del sistema transportador. Esta estrategia ha recibido especial interés en el tratamiento del cáncer de colon²⁹.

En un reciente estudio se ha comprobado que nanopartículas de albúmina transportan eficientemente el antitumoral doxorubicina hasta la masa cancerosa. En este lugar diana son degradadas específicamente por la enzima 2-metaloproteasa, liberando el principio activo⁴.

Se ha propuesto también la utilización de liposomas en el desarrollo de esta estrategia, ya que son especialmente susceptibles a la enzima fosfolipasa A2. Esta enzima se encuentra en gran cantidad en el espacio intersticial del tumor, y tiene la enorme capacidad de hidrolizar los lípidos de la membrana de los liposomas⁴⁹. De esta manera, cuando los liposomas que transportan un determinado tipo de molécula antitumoral se extravasan desde la circulación sanguínea al espacio intersticial de la masa cancerosa, son degradados por esta enzima y ocurre la liberación específica del fármaco en la región diana.

4. Conclusiones

Uno de los principales problemas asociados con el desarrollo de la nanomedicina en el tratamiento del cáncer es la dificultad que se encuentra para dar el paso (salto) definitivo hacia la extensa utilización de estos sistemas coloidales en clínica. Todavía existe una gran demanda de nuevos materiales que permitan el diseño de coloides con mejores propiedades para el transporte de fármacos (tengamos en mente que en la actualidad difícilmente se consigue una vehiculización o “drug loading” superior al 10 %). Otro aspecto muy importante que todavía queda por elucidar es la toxicidad (nanotoxicidad) real de estos sistemas en el ser humano.

Si bien en la actualidad se ha logrado poner en marcha una amplia gama de estrategias para el transporte específico del fármaco antitumoral al lugar de acción, la mayoría de los ensayos realizados hasta el momento se refieren a experiencias *in vitro*. Es el momento en que, con el aval que ofrecen los interesantes resultados obtenidos en animales de experimentación, debe apostarse de forma más notable por el siguiente paso: la introducción de estos coloides en

ensayos preclínicos y clínicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Durán JDG, Arias JL, Gallardo V, Delgado AV. Magnetic colloids as drug vehicles. *J. Pharm. Sci.* 2008; 97: 2948-83.
2. Zhang DY, Shen XZ, Wang JY, Dong L, Zheng YL, Wu LL. Preparation of chitosan-polyaspartic acid-5-fluorouracil nanoparticles and its anti-carcinoma effect on tumor growth in nude mice. *World J. Gastroenterol.* 2008; 14: 3554-62.
3. Arias JL. Novel strategies to improve the anticancer action of 5-fluorouracil by using drug delivery systems. *Molecules* 2008; 13: 2340-69.
4. Cho K, Wang X, Nie S, Chen Z, Shin DM. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 1310-16.
5. Couvreur P, Vauthier C. Nanotechnology: Intelligent design to treat complex disease. *Pharm. Res.* 2006; 23: 1417-50.
6. Gu FX, Karnik R, Wang AZ, Alexis F, Levy-Nissenbaum E, Hong S, Langer RS, Farokhzad OC. Targeted nanoparticles for cancer therapy. *Nano Today* 2007; 2: 14-21.
7. Maeda H, Bharate GY, Daruwalla J. Polymeric drugs for efficient tumor-targeted drug delivery based on EPR-effect. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2009; 71: 409-19.
8. Decuzzi P, Pasqualini R, Arap W, Ferrari M. Intravascular delivery of particulate systems: Does geometry really matter. *Pharm. Res.* 2009; 26: 235-43.
9. Huwyler J, Drewe J, Krähenbühl S. Tumor targeting using liposomal antineoplastic drugs. *Int. J. Nanomed.* 2008; 3: 21-9.
10. Patil YB, Toti US, Khadair A, Ma L, Panyam J. Single-step surface functionalization of polymeric nanoparticles for targeted drug delivery. *Biomaterials* 2009a; 30: 859-66.
11. Önyüksel H, Mohantya PS, Rubinsteina I. VIP-grafted sterically stabilized phospholipid nanomicellar 17-allylamino-17-demethoxy geldanamycin: A novel targeted nanomedicine for breast cancer. *Int. J. Pharm.* 2009; 365: 157-61.
12. Imai K, Takaoka A. Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2006; 6: 714-27.
13. Gao J, Zhonga W, Hea J, Li H, Zhanga H, Zhoua G, Li B, Lua Y, Zoua H, Koua G, Zhanga D, Wanga H, Guoa Y, Zhong Y. Tumor-targeted PE38KDEL delivery via PEGylated anti-HER2 immunoliposomes. *Int. J. Pharm.* 2009; 374: 145-52.
14. Kos J, Obermajer N, Doljaka B, Kocbeka P, Kristl J. Inactivation of harmful tumour-associated proteolysis by nanoparticulate system. *Int. J. Pharm.* 2009; 381: 106-12.
15. Sun B, Ranganathan B, Feng SS. Multifunctional poly(D,L-lactide-co-glycolide)/montmorillonite (PLGA/MMT) nanoparticles decorated by Trastuzumab for targeted chemotherapy of breast cancer. *Biomaterials* 2008; 29: 475-486.
16. Karmali PP, Kotamraju VR, Kastantin M, Black M, Missirlis D, Tirrell M, Ruoslahti E. Targeting of albumin-embedded paclitaxel nanoparticles to tumors. *Nanomedicine: NBM* 2009; 5: 73-82.
17. Garg A, Tisdale AW, Haidari E, Kokkoli E. Targeting colon cancer cells using PEGylated liposomes modified with a fibronectin-mimetic peptide. *Int. J. Pharm.* 2009; 366: 201-10.
18. Mai J, Song S, Rui M, Liu D, Ding Q, Peng J, Xu Y. A synthetic peptide mediated active targeting of cisplatin liposomes to Tie2 expressing cells. *J. Control. Release* 2009; 139: 174-81.
19. Guan H, McGuire MJ, Li S, Brown KC. Peptide-targeted polyglutamic acid doxorubicin conjugates for the treatment of alpha(v)beta(6)-positive cancers. *Bioconjug. Chem.* 2008; 19: 1813-21.
20. Veiseh O, Kievit FM, Gunn JW, Ratner BD, Zhang M. A ligand-mediated nanovector for targeted gene delivery and transfection in cancer cells. *Biomaterials* 2009; 30: 649-57.
21. Levy-Nissenbaum E, Radovic-Moreno AF, Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC. Nanotechnology and aptamers: applications in drug delivery. *Trends Biotechnol.* 2008; 26: 442-9.

22. Farokhzad OC, Cheng J, Teply BA, Sherifi I, Jon S, Kantoff PW, Richie JP, Langer R. Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103: 6315-20.
23. Pan J, Feng SS. Targeting and imaging cancer cells by Folate-decorated, quantum dots (QDs)- loaded nanoparticles of biodegradable polymers. *Biomaterials* 2009; 30: 1176-83.
24. Esmaeili F, Grahremani MH, Ostad SN, Atyabi F, Seyedabadi M, Malekshahi MR, Amini M, Dinarvand R. Folate-receptor-targeting delivery of docetaxel nanoparticles prepared by PLGA-PEG-folate conjugate. *J. Drug Target.* 2008; 16: 415-23.
25. Liang B, He ML, Chan CY, Chen YC, Li XP, Li Y, Zheng D, Lin MC, Kung HF, Shuai XT, Peng Y. The use of folate-PEG-grafted-hybranched-PEI nonviral vector for the inhibition of glioma growth in the rat. *Biomaterials* 2009; 30: 4014-20.
26. Hwang SH, Rait A, Pirollo KF, Zhou Q, Yenugonda VM, Chinigo GM, Brown ML, Chang EH. Tumor-targeting nanodelivery enhances the anticancer activity of a novel quinazolinone analogue. *Mol. Cancer. Ther.* 2008; 7: 559-68.
27. Sahoo SK, Labhassetwar V. Enhanced antiproliferative activity of transferrin conjugated paclitaxel-loaded nanoparticles is mediated via sustained intracellular drug retention. *Mol. Pharm.* 2005; 2: 373-83.
28. Li JL, Wang L, Liu XY, Zhang ZP, Guo HC, Liu WM, Tang SH. In vitro cancer cell imaging and therapy using transferrin-conjugated gold nanoparticles. *Cancer Lett.* 2009a; 274: 319-26.
29. Bawa P, Pillay V, Choonara YE, Toif LC. Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. *Biomed. Mater.* 2009; 4: 15.
30. Kim D, Lee ES, Park K, Kwon IC, Bae YH. Doxorubicin loaded pH-sensitive micelle: antitumoral efficacy against ovarian A2780/DOXR tumor. *Pharm. Res.* 2008a; 25: 2074-82.
31. Li F, Wu H, Zhang H, Li F, Gu CH, Yang Q. Antitumor drug Paclitaxel-loaded pH-sensitive nanoparticles targeting tumor extracellular pH. *Carbohydr. Polym.* 2009b; 77: 773-8.
32. Kim MJ, Lee HJ, Lee IA, Kim IY, Lim SK, Cho HA, Kim JS. Preparation, of pH-sensitive, long-circulating and EGFR-targeted immunoliposomes. *Arch. Pharm. Res.* 2008b; 31: 539-46.
33. Kim IY, Kang YS, Lee DS, Park HJ, Choi EK, Oh YK, Son HJ, Kim JS. Antitumor activity of EGFR targeted pH-sensitive immunoliposomes encapsulating gemcitabine in A549 xenograft nude mice. *J. Control. Release* 2009; 140: 55-60.
34. Simard P, Leroux JC. pH-sensitive immunoliposomes specific to the CD33 cell surface antigen of leukemic cells. *Int. J. Pharm.* 2009; 381: 86-96.
35. Zhu L, Huo Z, Wang L, Tong X, Xiao Y, Ni K. Targeted delivery of methotrexate to skeletal muscular tissue by thermosensitive magnetoliposomes. *Int. J. Pharm.* 2009; 370: 136-43.
36. Purushotham S, Ramanujan RV. Thermoresponsive magnetic composite nanomaterials for multimodal cancer therapy. *Acta Biomater.* 2009; 6 (2): 502-510.
37. Zhang, J.; Misra, R.D.K. Magnetic drug-targeting carrier encapsulated with thermosensitive smart polymer: Core-shell nanoparticle carrier and drug release response. *Acta Biomater.* 2007; 3: 838-50.
38. Ang KL, Venkatraman S, Ramanujan RV. Magnetic PNIPA hydrogels for hyperthermia applications in cancer therapy. *Mater. Sci. Eng. C.* 2007; 27: 347-51.
39. Kallumadil M, Tada M, Nakagawa T, Abe M, Southern P, Pankhurst QA. Suitability of commercial colloids for magnetic hyperthermia. *J. Magn. Magn. Mater.* 2009; 321: 1509-13.
40. Laurent S, Forge D, Port M, Roch A, Robic C, Elst LV, Muller RN. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chem. Rev.* 2008; 108: 2064-110.
41. Glöckl G, Hergt R, Zeisberger M, Dutz S, Nagel S, Weitschies W. The effect of field parameters, nanoparticles properties and immobilization on the specific heating power in magnetic particle hyperthermia. *J. Phys. Cond. Matter.* 2006; 18: S2935-50.
42. Steinke F, Andräa W, Heidec R, Wernera C, Bellemann ME. Rotating magnetic macrospheres as heating mechanism for remote controlled drug release. *J. Magn. Magn. Mater.* 2007; 311: 216-8.
43. Ciofani G, Riggio C, Raffa V, Mencias A, Cuschieri A. A bi-modal approach against

- cancer: Magnetic alginate nanoparticles for combined chemotherapy and hyperthermia. *Med. Hypotheses* 2009; 73: 80-2.
44. Závišová V, Koneracká M, Múčková M, Kopčanský P, Tomašovičová N, Lancz G, Timko M, Pätoprstá B, Bartoš P, Fabián M. Synthesis and characterization of polymeric nanospheres with the anticancer drug paclitaxel and magnetic particles. *J. Magn. Magn. Mater.* 2009; 321: 1613-6.
 45. Fernández-Pacheco R, Marquina C, Valdivia JG, Gutiérrez M, Romero MS, Cornudella R, Laborda A, Vilorio A, Higuera T, García A, García de Jalón JA, Ibarra MR. Magnetic nanoparticles for local drug delivery using magnetic implants. *J. Magn. Magn. Mater* 2007; 311: 318-22.
 46. Lin JJ, Chen JS, Huang SJ, Ko JH, Wang YM, Chen TL, Wang LF. Folic acid-Pluronic F127 magnetic nanoparticle clusters for combined targeting, diagnosis, and therapy applications. *Biomaterials* 2009; 30: 5114-24.
 47. Tietze R, Jurgons R, Lyer S, Schreiber E, Wiekhorst F, Eberbeck D, Richter H, Steinhoff U, Trahms L, Alexiou C. Quantification of drug-loaded magnetic nanoparticles in rabbit liver and tumor after in vivo administration. *J. Magn. Magn. Mater.* 2009; 321: 1465-8.
 48. Schroeder A, Honen R, Turjeman K, Gabizon A, Kost J, Barenholz Y. Ultrasound triggered release of cisplatin from liposomes in murine tumors. *J. Control. Release* 2009; 137: 63-8.
 49. Andresen TL, Jensen SS, Kaasgaard T, Jørgensen K. Triggered activation and release of liposomal prodrugs and drugs in cancer tissue by secretory phospholipase A2. *Curr. Drug Deliv.* 2005; 2: 353-62.
 50. Jabr-Milane LS, van Vlerken LE, Yadav S, Amiji MM. Multi-functional nanocarriers to overcome tumor drug resistance. *Cancer Treat. Rev.* 2008; 34: 592-602.
 51. Batrakova EV, Kabanov AV. Pluronic block copolymers: Evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. *J. Control. Release* 2008; 130: 98-106.
 52. Sharma AK, Zhang L, Li S, Kelly DL, Alakhov VY, Batrakova EV, Kabanov AV. Prevention of MDR development in leukemia cells by micelle-forming polymeric surfactant. *J. Control. Release* 2008; 131: 220-7.
 53. Wu J, Lu Y, Lee A, Pan X, Yang X, Zhao X, Lee R.J. Reversal of multidrug resistance by transferrin-conjugated liposomes coencapsulating doxorubicin and verapamil. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2007; 10: 350-7.
 54. Patil Y, Sadhukha T, Ma L, Panyam J. Nanoparticle-mediated simultaneous and targeted delivery of paclitaxel and tariquidar overcomes tumor drug resistance. *J. Control. Release* 2009b; 136: 21-9.
 55. Pakunlu RI, Wang Y, Saad M, Khandare JJ, Starovoytov V, Minko T. In vitro and in vivo intracellular liposomal delivery of antisense oligonucleotides and anticancer drug. *J. Control. Release* 2006; 114: 153-62.
 56. Pulkkinen M, Pikkarainen J, Wirth T, Tarvainen T, Haapa-aho V, Korhonen H, Seppälä J, Järvinen K. Three-step tumor targeting of paclitaxel using biotinylated PLA-PEG nanoparticles and avidin-biotin technology: formulation development and in vitro anticancer activity. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008; 70: 66-74.
 57. Van Verklen LE, Duan Z, Seiden MV, Amiji MM. Modulation of intracellular ceramide using polymeric nanoparticles to overcome multidrug resistance in cancer. *Cancer Res.* 2007; 67: 4843-50.
 58. Lee ES, Na K, Bae YH. Doxorubicin loaded pH-sensitive polymeric micelles for reversal of resistant MCF-7 tumor. *J. Control. Release* 2005; 103: 405-18.
 59. Lynch I, Dawson KA. Protein-nanoparticle interactions. *Nano Today* 2008; 3: 40-7.
 60. Grainger DW. Nanotoxicity assessment: All small talk. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2009; 61: 419-21.
 61. Karlsson HL, Gustafsson J, Cronholm P, Möller L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles – A comparison between nano- and micrometer size. *Toxicol. Lett.* 2009; 188: 112-8.
 62. Sunderland CJ, Steiert M, Talmadge JE, Derfus AM, Barry SE. Targeted nanoparticles for

detecting and treating cancer. Drug Develop. Res. 2006; 67: 70-93.