

CONJUGADOS POLÍMERO-FÁRMACO Y SU USO COMO NANOTRANSPORTADORES EN LA TERAPIA ANTICANCERÍGENA

Trabajo de fin de Grado en Farmacia

Rocío Serrano Carrascal
Alumna

M^a Violante de Paz
Tutora

Facultad de Farmacia
Universidad de Sevilla





**CONJUGADOS POLÍMERO-FÁRMACO
Y SU USO COMO NANOTRANSPORTADORES
EN LA TERAPIA ANTICANCERÍGENA**

TRABAJO FIN DE GRADO (TFG) de carácter
bibliográfico

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Química Orgánica

Tutora: Dra. M^a Violante de Paz.

Grado en Farmacia, diciembre 2019.

Alumna: Rocío Serrano Carrascal.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
1. CÁNCER	2
2. TERAPIAS ANTICANCERÍGENAS	4
OBJETIVOS	5
METODOLOGÍA	6
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
1. NANOMEDICINA COMO TERAPIA ANTICANCERÍGENA	7
2. NANOSISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS	8
3. CONJUGADOS POLIMÉRICOS	9
3.1 ESTRUCTURA QUÍMICA DE OS CONJUGADOS POLIMÉRICOS	10
4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS CONJUGADOS POLÍMERO-FÁRMACO	12
4.1 LIBERACIÓN DEL FÁRMACO DEL POLÍMERO. IMPORTANCIA DEL PUNTO DE UNIÓN O LINKER	14
5. BIODEGRADACIÓN DEL CONJUGADO POLIMÉRICO	17
6. TERAPIA COMBINADA	17
6.1 TERAPIA COMBINADA EN CÁNCER	18
6.1.1 TERAPIA COMBINADA DE QUIMIOTERÁPICOS	18
6.1.2 TERAPIA COMBINADA BASADA EN TERAPIA ENDOCRINA.	19
6.1.3 TERAPIA COMBINADA BASADA EN ANTICUERPOS MONOCLONALES	19
6.1.4 COMBINACIONES DE DISTINTOS TIPOS DE TERAPIA	20
6.1.5 ESTUDIOS PRECLÍNICOS SOBRE NUEVOS ENFOQUES	21
6.1.6 INCONVENIENTES DE LAS TERAPIAS COMBINADAS CON FÁRMACOS NO UNIDOS A TRANSPORTADOR	22
6.2. CONJUGADOS POLIMÉRICOS PARA LA TERAPIA ANTICANCERÍGENA COMBINADA ...	24
6.2.1. CONJUGADO POLÍMERO-FÁRMACO CON FÁRMACO DE BAJO PESO MOLECULAR U OTRO TIPO DE TERAPIA	25
6.2.2. CONJUGADO POLÍMERO-FÁRMACO CON CONJUGADO POLÍMERO-FÁRMACO .	26

6.2.3. PORTADOR POLIMÉRICO ÚNICO QUE TRANSPORTA UNA COMBINACIÓN DE FÁRMACOS	26
6.2.4.TERAPIA CON PROFÁRMACOS ENZIMAS DIRIGIDAS POR POLÍMEROS (PDEPT) Y TERAPIA CON POLÍMEROS LIPOSOMÁTICOS (PELT)	28
6.3. CAPACIDAD DE CARGA DE LOS NANOPOLÍMEROS CONJUGADOS	30
6.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ADECUADOS PARA LA TERAPIA COMBINADA DE POLÍMEROS TRANSPORTADORES	31
6.5. DESARROLLO CLÍNICO DE LOS CONJUGADOS POLIMÉRICOS COMO TERAPIA COMBINADA.	31
7. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS NANOPOLÍMEROS	32
8. TOXICOLOGÍA DE LAS NANOMEDICINAS	32
CONCLUSIÓN.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34-39

RESUMEN

Los nanoconjugados poliméricos surgen en la interfaz de la química de los polímeros, la biología celular y las ciencias biomédicas. Las investigaciones llevadas a cabo en este campo condujeron al desarrollo de las primeras nanomedicinas basadas en polímeros. Estos conjugados poliméricos, en concreto los conjugados polímero-fármaco son solubles en agua, están diseñados para la administración parenteral y son considerados como "nuevas entidades químicas" ya que el agente bioactivo (fármaco) está unido covalentemente al portador polimérico, en lugar de estar atrapado dentro de un complejo.

La terapia de polímeros se sitúa como una opción de terapia dirigida que pretende aumentar la especificidad de los tratamientos farmacológicos, es por ello que durante las últimas décadas se han desarrollado numerosos estudios que proponen el uso de estos conjugados polímero-fármaco como nanotransportadores para terapias anticancerígenas. Además del aumento de la especificidad, que disminuye los efectos secundarios de estas terapias, mejora la solubilidad de fármacos hidrófobos como el paclitaxel y el docetaxel, permitiendo su entrada en la célula tumoral. Estas nanoconstrucciones son tan interesantes porque aprovechan la fisiopatología tumoral para entrar a la célula por endocitosis, y allí las enzimas lisosómicas se encargan de romper el enlace covalente, dejando libre el fármaco en el interior celular donde ejercerá su acción.

En los últimos 40 años se han estado desarrollando estudios de esta novedosa terapéutica de polímeros que ha crecido exponencialmente dando lugar a más de 25 productos con licencia para uso humano como fármacos poliméricos, conjugados y como agentes de imagen.

PALABRAS CLAVE:

- Terapéutica de polímeros
- Conjugados poliméricos
- Conjugado polímero-fármaco
- Terapia combinada
- Cáncer

INTRODUCCIÓN

1. CÁNCER.

El cáncer sigue constituyendo una de las principales causas de morbi-mortalidad en el mundo. De acuerdo con los últimos datos disponibles estimados dentro del proyecto GLOBOCAN, el número de tumores continúa creciendo, habiendo aumentado desde los 14 millones de casos en el mundo estimados en el año 2012 a los 18,1 millones en 2018. Las estimaciones poblacionales indican que el número de casos nuevos aumentará en las dos próximas décadas, alcanzando los 29,5 millones en 2040 (Médica, 2019).

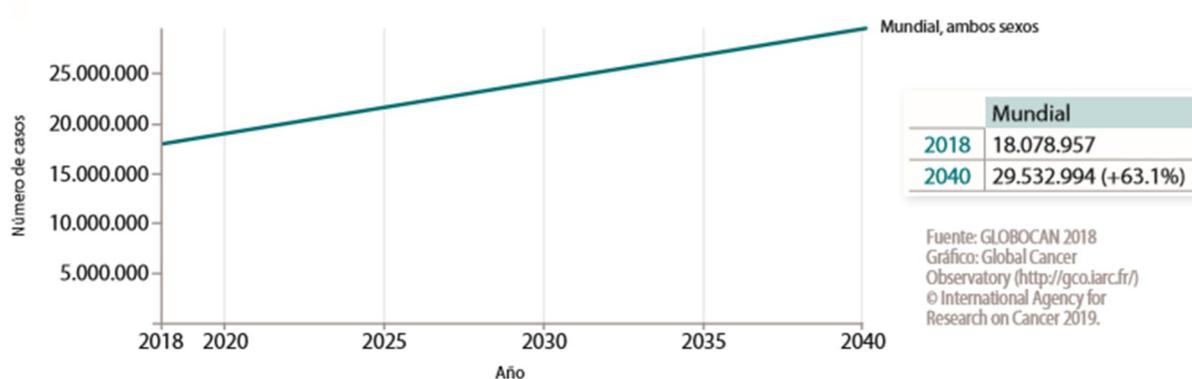


Figura 1. Incidencia estimada de tumores en la población mundial, para el periodo 2018-2040, ambos sexos.

El cáncer es, también en España, una de las principales causas de morbilidad. El número de tumores diagnosticados en España en el año 2019 alcanzará los 277.234, según las estimaciones de REDECAN, en comparación con los 247.771 casos diagnosticados en el año 2015: 148.827 en varones y 98.944 en mujeres (Médica, 2019).

	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
< 65 años	54.148	54.223	108.371
> = 65 años	106.916	61.947	168.863
Todas las edades	161.064	116.170	277.234

Fuente: Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN).

Tabla 1. Estimación del número de nuevos casos de cáncer en España para el año 2019 (excluidos los tumores cutáneos no melanomas).

Como podemos comprobar en la Tabla 1, el envejecimiento es un factor fundamental en la aparición del cáncer: la incidencia de esta enfermedad aumenta considerablemente con la edad, debido a la acumulación de factores de riesgo junto con la pérdida de eficacia de los mecanismos de reparación celular. Actualmente, esta enfermedad es la segunda causa de muerte en el mundo. En 2018, ocasionó 9,5 millones de defunciones, de modo que una de cada seis defunciones en el mundo se debe al cáncer. Se prevé que esta cifra aumente el 71.1% para el año 2040 (Figura 2) (Médica, 2019). En la Figura 3 se reflejan los fallecimientos mundiales según el tipo de tumor. El impacto económico del cáncer es sustancial y va en aumento. Según las estimaciones, el costo total atribuible a la enfermedad en 2010 ascendió a US\$ 1,16 billones (World Health Organization, 2018).

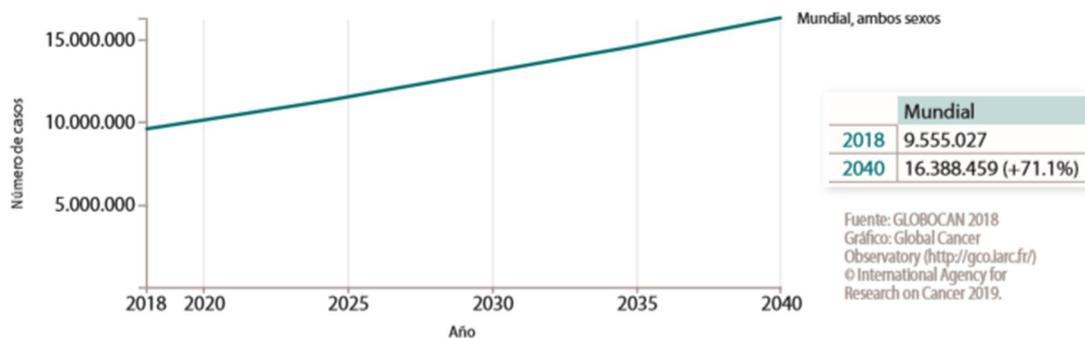


Figura 2. Número de fallecimientos por tumores en la población mundial para el periodo 2018- 2040, ambos sexos.

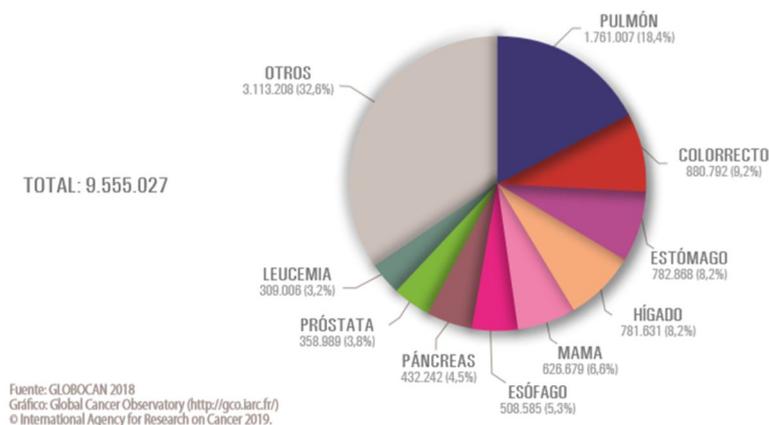


Figura 3. Estimación del número de fallecimientos mundial según el tumor en el año 2018, ambos sexos.

2. TERAPIAS ANTICANCERÍGENAS.

La palabra Cáncer designa un amplio grupo de enfermedades que tienen en común la multiplicación rápida y anormal de células pudiendo desencadenar metástasis. Las células normales se convierten en células tumorales en un proceso que consiste en la progresión de una lesión precancerosa a un tumor maligno. Estas alteraciones son el resultado de la interacción entre los factores genéticos del paciente y agentes externos (World Health Organization, 2018).

Las terapias más comunes y convencionales contra esta enfermedad mortal incluyen cirugía, radiación y quimioterapia. Estas terapias convencionales tienen varios efectos secundarios, lo que causa mucho estrés físico y psicológico entre los pacientes (Wadhawan *et al.*, 2019). Los fármacos quimioterapéuticos inducen cierta toxicidad en nuestro cuerpo, incluyendo hematotoxicidad, cardiotoxicidad, toxicidad gastrointestinal, neurotoxicidad, nefrotoxicidad, toxicidad de los folículos pilosos, anomalías metabólicas, etc (Remesh, 2012).

Estos fármacos se dirigen a las células que se multiplican rápidamente, lo que lleva a la ineficiencia en la diferenciación entre células cancerosas y células normales; por lo tanto, se restringe la dosis máxima permitida de medicamentos. Por otro lado, estos medicamentos quimioterapéuticos se eliminan rápidamente del cuerpo a través de procesos renales u otros procesos metabólicos. Debido a esto, se requiere la administración de una dosis alta de fármaco para evitar la eliminación rápida y para la distribución generalizada del fármaco en la zona objetivo, lo que no es económico y causa una toxicidad indeseable (Wadhawan *et al.*, 2019).

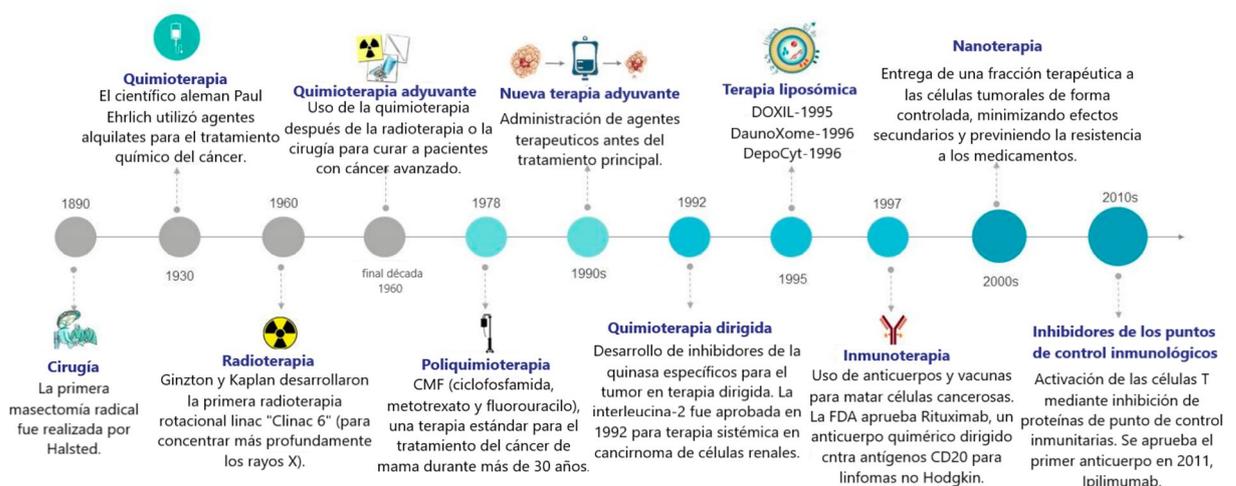


Figura 4. Evolución de las terapias anticancerígenas (Wadhawan *et al.*, 2019).

Los avances han llevado al desarrollo de varias terapias alternativas para superar tales problemas. Estos incluyen terapia liposomal, terapia dirigida, inmunoterapia, terapia hormonal y terapia con células madre. En la terapia liposomal, los medicamentos se encapsulan dentro de las vesículas compuestas de una bicapa de fosfolípidos, conocida como liposomas. Esta terapia surgió en la década de 1990 y minimiza algunos de los efectos secundarios de la quimioterapia. El primer liposoma encapsulado aprobado por la *Food and Drug Administration* (FDA) fue DaunoXome (daunorubicina liposomal) en 1996, después se aprobó Doxil (doxorubicina liposomal) (2004) y DepoCyt (cytarabine liposomal), etc (Wadhawan *et al.*, 2019).

Simultáneamente, con el descubrimiento de anticuerpos en desarrollo u otras moléculas dirigidas artificialmente, surgieron los inhibidores y la terapia dirigida. El rituximab (Rituxan™) (1997) fue el primer anticuerpo quimérico monoclonal aprobado que se dirigió contra el CD20 de los linfomas no Hodgkin, y el sorafenib (2005) fue el primer inhibidor de la cinasa aprobado por la FDA que se desarrolló para el tratamiento del cáncer de células renales (CCR) (Arruebo *et al.*, 2011).

Sin embargo, una de las principales desventajas de la terapia dirigida con anticuerpos es que éstos son proteínas que se someten a digestión enzimática dentro del cuerpo y se convierten en fragmentos de menor peso molecular que generalmente se eliminan a través del sistema renal. Por lo tanto, la conjugación de proteínas con nanocomponentes como el polímero mejora su solubilidad, estabilidad y perfil inmunológico (Wadhawan *et al.*, 2019).

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es estudiar la terapéutica de polímeros, una reciente alternativa de terapia dirigida para el tratamiento del cáncer. Concretamente nos centraremos en el papel de los conjugados polímero-fármaco como nanotransportadores, su mecanismo de acción y las ventajas que aporta su uso en la terapia anticancerígena combinada. Finalmente, se reflexionará sobre si la terapia de conjugados poliméricos es una disciplina en crecimiento con posibilidades de desarrollo y un valor potencial en el campo de la terapéutica

METODOLOGÍA

El presente trabajo se trata de una revisión bibliográfica de artículos que han tratado previamente la terapéutica de polímeros, los conjugados poliméricos o la terapia combinada anticancerígena. Algunos de ellos tratan de investigaciones o experimentos concretos a los que se ha hecho referencia durante el trabajo a modo de ejemplos, y a los que se puede acceder si se desea completar o ampliar la información.

Para la búsqueda de artículos científicos se ha utilizado las bases de datos PUBMED y ScienceDirect principalmente. Las palabras clave utilizadas para realizar la búsqueda han sido: *cancer, combined therapy, drug targeting, polymer therapeutics, polymer conjugated*.

En relación a la bibliografía disponible, Duncan explica en su artículo *“Polymer therapeutics at a crossroads? Finding the path for improved translation in the twenty-first century”* (Duncan, 2017) el descenso de publicaciones en la última década debido al nacimiento de genéricos y a la disminución de éxitos clínicos.

El trabajo se basa en 60 referencias bibliográficas, entre las cuales se incluyen la guía de la FDA (Food and Drug Administration) de 2017 *“Guía para productos farmacológicos industriales, incluyendo productos biológicos, que contienen nanomateriales.”* y la página web de la Organización Mundial de la Salud, que fue consultada para obtener información de las estadísticas mundiales de Cáncer.

La búsqueda bibliográfica se realizó principalmente entre los meses de julio y noviembre de 2018. La información recopilada data desde principios de siglo XXI hasta el año presente. Para poder distinguir rápidamente los años de publicación de la bibliografía consultada, ésta se ha dividido cronológicamente en cuatro, abarcando periodos de 5 años (excepto e último bloque, que abarca cuatro años).



Figura 5. Bibliografía consultada según año de publicación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

1. NANOMEDICINA COMO TERAPIA ANTICANCERÍGENA.

La nanomedicina se vislumbra como la puerta de entrada a una serie de estrategias de diagnóstico y tratamiento que superen muchos de los obstáculos que enfrentan las terapias convencionales. Se considera que la nanomedicina enfocada al diagnóstico y los sistemas de liberación revolucionarán los tratamientos contra el cáncer debido a que los nanosistemas pueden transportar fármacos y dirigirlos selectivamente al tumor gracias al microambiente tumoral (TME) (Burgos-Panadero *et al.*, 2019) o bien pueden ser funcionalizados en su superficie con moléculas que reconozcan selectivamente a la célula cancerígena (péptidos, proteínas, anticuerpos) y que optimicen su farmacocinética (Duncan, 2006). Además, se pueden diseñar para solucionar la falta de solubilidad acuosa que presentan algunos fármacos anticancerígenos importantes como el paclitaxel, el etopósido y el docetaxel; o para aumentar el peso molecular de los fármacos de moléculas pequeñas e impedir su rápida eliminación (Narvekar *et al.*, 2014). Por otro lado, controlando la estructura y las propiedades fisicoquímicas se pueden introducir dos fármacos diferentes en un solo sistema para dar lugar a terapias combinada (Greco and Vicent, 2009; Rojas-Aguirre *et al.*, 2016).

La esperanza es que el uso de estas tecnologías acelere el progreso en la identificación de las diferencias entre las células normales y las tumorales, lo que a su vez conducirá al desarrollo de nuevas terapias que se centrarán específicamente en el cáncer. El objetivo final de estas estrategias es eliminar el tumor con un efecto limitado sobre el tejido normal (Kawasaki and Player, 2005).

La nanomedicina está enfocada en gran medida en el diseño de nanosistemas de liberación de fármacos (DDS, por sus siglas en inglés *Drug Delivery Systems*) y en el desarrollo de nanotransportadores de fármacos, que prometen revolucionar las terapias convencionales, especialmente aquellas dirigidas al tratamiento del cáncer. Uno de los más importantes nanosistemas de transporte de fármacos son los conjugados poliméricos, en los que nos enfocaremos en el presente trabajo.

2. NANOSISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS.

Los sistemas de liberación de fármacos se han desarrollado tradicionalmente para modificar la vía de administración en beneficio del paciente, mejorar la biodisponibilidad, cambiar el perfil de liberación o mejorar una formulación para una nueva presentación y venta. En contraste, la nanomedicina propone que los sistemas de liberación se deben desarrollar para identificar el lugar diana, el cual puede ser un órgano, una célula, un compartimento celular (núcleo, citoplasma) o incluso, un orgánulo, dirigirse a él y entregar selectivamente su carga terapéutica. Además, la entrega del fármaco deberá ser de manera controlada en respuesta a un estímulo interno (pH, presencia de enzimas o un cambio del potencial redox) o externo (luz, temperatura, campo magnético) (Mura *et al.*, 2013) y se podrán transportar simultáneamente varios fármacos y/o biomacromoléculas (péptidos, proteínas y ácidos nucleicos) (Greco and Vicent, 2009). Los sistemas más sofisticados, llamados también plataformas multifuncionales de liberación de fármacos, incluirán componentes que permitirán rastrearlo por técnicas de imagen y servirán también para diagnosticar e identificar el estadio de una determinada patología (Mura *et al.*, 2013).

Las nanoestructuras sintetizadas con el objetivo de transportar el fármaco para después liberarlo en la diana precisa son muy diversos, pero se pueden clasificar de manera muy general en 2 grandes grupos como aparece en la Figura 6 (Rojas-Aguirre *et al.*, 2016):

a. Nanoestructuras orgánicas. En este grupo se encuentran los materiales poliméricos con los que se construyen nanoesferas, nanocápsulas, micelas, liposomas, dendrímeros y conjugados polímero-fármaco.

b. Nanoestructuras inorgánicas. Bajo esta clasificación están las nanopartículas de óxidos metálicos, nanopartículas de sílica mesoporosa y nanotubos de carbono.

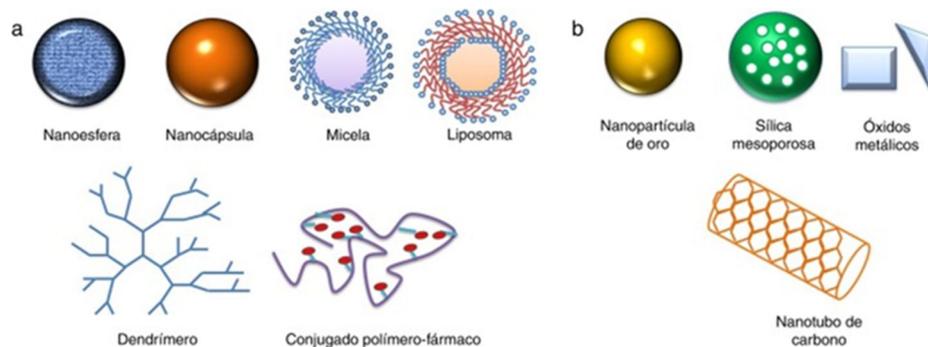


Figura 6. Esquema de los diferentes tipos de nanosistemas (Rojas-Aguirre *et al.*, 2016).

Los conjugados poliméricos, nanoestructuras orgánicas, se utilizan como transportadores de fármacos anticancerígenos, pero no son considerados sistemas liberadores de fármacos (ver sección 3.1) Las ventajas que presenta su uso en relación a la administración del fármaco libre son (I) lograr una mejor orientación de la droga hacia el tumor, (II) reducir la toxicidad de los medicamentos (III) superar los mecanismos de la resistencia a los medicamentos, y (IV) mejorar la solubilidad de fármacos hidrofóbicos como doxorubicina y paclitaxel, lo que facilita la administración al paciente (Duncan *et al.*, 2005).

3. CONJUGADOS POLIMÉRICOS.

Los conjugados poliméricos se han explorado como agentes terapéuticos desde la década de 1940; en la década de 1970 emergieron como terapias anticancerígenas pudiéndose usar eficientemente como vectores de fármacos para la liberación controlada (Wadhawan *et al.*, 2019). En la década de 1980 se desarrollaron preclínicamente y en los años 90 comenzaron a entrar en el proceso clínico (Duncan and Vicent, 2013) . El Centro de Terapéutica de Polímeros se estableció en la Escuela de Farmacia de Londres, y se creó el primer Laboratorio de Terapéutica de Polímeros en España en marzo de 2005: el Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF) con sede en Valencia, que se dedica a la investigación sobre diseño de conjugados de polímeros avanzados, nuevas herramientas terapéuticas y/o diagnósticas con aplicaciones en cáncer metastásico, neurodegeneración y regeneración de tejidos, entre otras (Polimers Therapeutics Laboratory, 2019).

Los conjugados poliméricos son una de las nanomedicinas con más éxito en el siglo XXI. Esta afirmación se puede comprobar en la Figura 7, donde se muestra que el número de publicaciones de artículos en 2011 se elevó de forma muy interesante a 9.000, 10 veces más que la publicación de artículos sobre “nanomedicinas”, siendo una disciplina más amplia que también está en crecimiento exponencial (Duncan and Vicent, 2013).

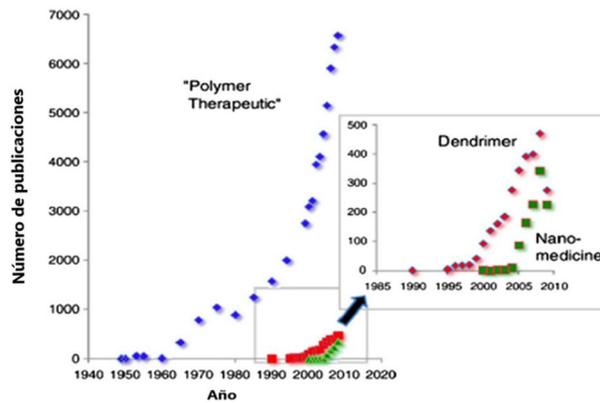


Figura 7. Terapéutica de polímeros. En la gráfica se compara el impacto en la literatura científica de los tipos de terapéutica de polímeros con las palabras claves "polymer therapeutic" y las palabras "dendrimer" y "nanomedicine".

3.1 ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS CONJUGADOS POLIMÉRICOS.

Los conjugados poliméricos son nuevas entidades químicas, distinguibles de los sistemas de liberación de fármacos convencionales (*Drug Delivery Systems*, DDS) o de formulaciones que simplemente atrapan, solubilizan o controlan la liberación de fármacos sin recurrir a la conjugación química. La distinción está entre un sistema biológicamente activo unido covalentemente y otro que no está unido de forma covalente, el cual se puede considerar excipiente (Duncan, 2017).

Como conjugados poliméricos podemos distinguir conjugados polímero-proteína y conjugados polímero-fármaco (Figura 8). Aunque los conjugados polímero-proteína y polímero-fármaco poseen una gran similitud, el objetivo o razón biológica perseguida en cada caso es diferente y por tanto también lo son los parámetros a tener en cuenta para su fabricación. Mientras que en el conjugado polímero-proteína se busca el favorecer una mayor estabilidad en plasma y una disminución en inmunogenicidad, en el conjugado polímero-fármaco se quiere incidir en la farmacocinética mejorando la especificidad del fármaco de bajo peso molecular, su mecanismo de internalización celular y liberación óptima al alcanzar la diana (Porras *et al.*, 2008).

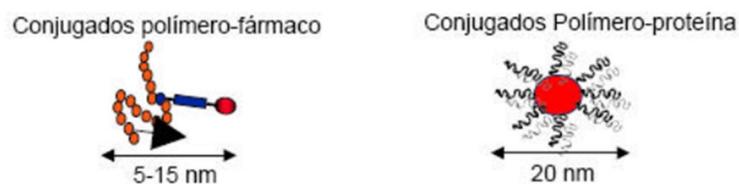


Figura 8. Representación de conjugados poliméricos.

Este trabajo se enfoca en los conjugados polímero-fármaco. Éstos poseen una estructura lineal en la que el fármaco se une covalentemente a un portador polimérico, normalmente a través de un punto de unión (*linker* en inglés) biodegradable (Greco and Vicent, 2009). Un ejemplo de conjugado polimérico es el que se muestra en la Figura 9, en el que se une el fármaco doxorubicina a una cadena polimérica de N-(2-hidroxipropil) metacrilamida (HPMA) mediante el punto de unión peptídico formado por glicina-fenilalanina-leucina-glicina (GPLG) con el objetivo de aumentar su solubilidad en agua.

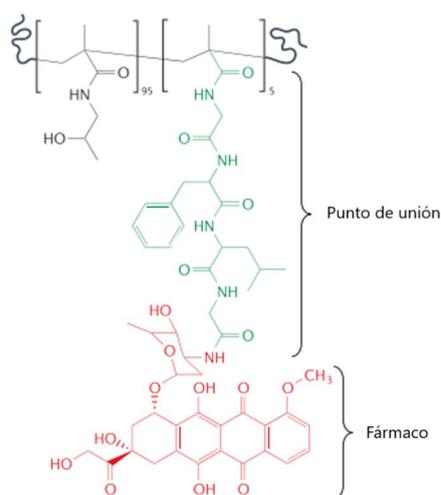


Figura 9. Conjugado polímero- fármaco HPMA-GPLG-Dox (Duncan, 2006).

Además, en esta estructura se pueden incluir ligandos de reconocimiento para focalizar el transporte del fármaco o agentes de imagen para rastrear la biodistribución del mismo (Figura 10). El hecho de focalizar la terapia permite ahorrar dosis, lo que es importante para los fármacos altamente tóxicos, y aumenta la captación celular del nanotransportador y su fármaco cargado provocando una mejora la eficacia anticancerosa (Byrne *et al.*, 2008). El objetivo es un receptor sobreexpresado en la superficie de las células cancerosas en relación a tejidos no cancerosos. Por ejemplo, el factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) está sobreexpresado en el cáncer de mama y ovario; de modo que se administró paclitaxel en nanopartículas poliméricas para mejorar la solubilidad del mismo, y además se añadió en su superficie un ligando de reconocimiento anti-HER2, lo que dio lugar a una mejora significativa de la actividad anticancerosa (Cirstoiu-Hapca *et al.*, 2010).

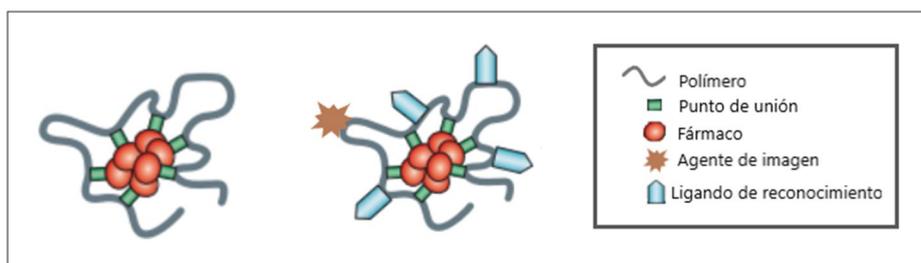


Figura 10. Representación de conjugado polimérico (izquierda) y conjugado polimérico con ligando de reconocimiento y agente de imagen (derecha).

4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS CONJUGADOS POLÍMERO-FÁRMACO

La revolución de los sistemas polímero-fármaco reside en su especificidad o capacidad de dirigirse hacia la masa tumoral para liberar allí el fármaco. Esta especificidad viene dada principalmente por su tamaño nanométrico que le permite la extravasación desde el torrente circulatorio hacia las células tumorales aprovechando la fisiopatología tumoral (Rojas-Aguirre *et al.*, 2016). La administración de nanoconjugados polímero-fármaco se focaliza gracias a estos dos mecanismos:

-Vectorización pasiva. Una de las características más importantes que distingue al tejido tumoral es que, para que las células crezcan rápida y descontroladamente, debe haber una estimulación de la angiogénesis, lo cual da lugar a una arquitectura defectuosa con fenestras que van de los 10 a los 800 nm. Esta fisiopatología única, en combinación con un pobre drenaje linfático, se conoce como efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR por sus siglas en inglés: *enhanced permeability and retention effect*). Así, los sistemas de tamaño nanométrico llegan al tejido tumoral por difusión pasiva, se internan a través de las fenestras y permanecen allí por un tiempo prolongado debido al escaso drenaje linfático. De esta manera, se pueden alcanzar concentraciones del nanosistema hasta 10 veces más altas en el tumor en comparación con el tejido sano (Misra *et al.*, 2010).

- Vectorización activa. Como se ha discutido anteriormente, las células tumorales suelen sobreexpresar algunos tipos de receptores de membrana que promueven su crecimiento descontrolado. Si al nanotransportador se le añade un ligando (péptido, proteína o anticuerpo) que reconozca al receptor, se dirigirá y acumulará preferentemente en el tejido tumoral, donde deberá liberar su carga terapéutica (Rojas-Aguirre *et al.*, 2016).

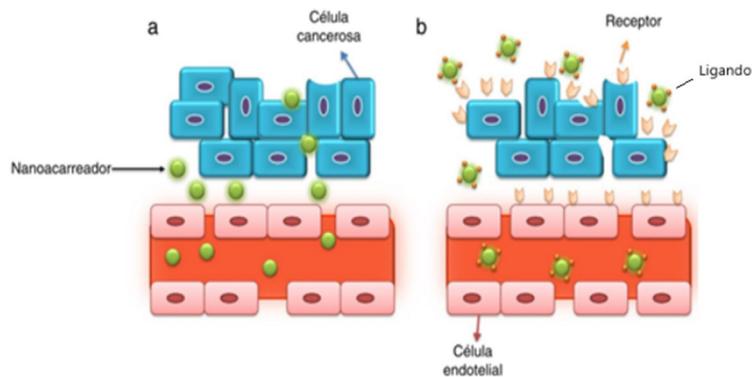


Figura 11. Esquema de vectorización pasiva(a) y activa (b) (Rojas-Aguirre et al., 2016).

Una vez expuesto el proceso por el cual los nanoconjugados polímero-fármaco llegan a la masa tumoral, se explica detalladamente el mecanismo de acción de los mismos (Duncan, 2006):

Los conjugados de polímeros hidrofílicos administrados por vía intravenosa pueden ser diseñados para permanecer en la circulación (su tasa de eliminación depende del peso molecular del conjugado, que puede dar lugar a eliminación renal). Un fármaco unido covalentemente por un punto de enlace estable (conjugado polímero-fármaco) en la circulación previene en gran medida el acceso a los tejidos normales (incluidos los sitios de toxicidad potencial), y su biodistribución se limita inicialmente a la circulación sanguínea (Figura 12, A).

Una vez en el intesticio del tumor, el conjugado polímero-fármaco es internalizado por las células tumorales a través de la pinocitosis en fase líquida (en solución) (Figura 12, B). La pinocitosis se da mediada por receptor tras unión no específica a membrana debido a interacciones hidrofóbicas o de carga (si se trata de vectorización pasiva) o mediante el acoplamiento entre ligando-receptor (vectorización activa). Dependiendo de los enlaces utilizados, el fármaco generalmente se liberará intracelularmente con la exposición a las enzimas lisosómicas, (por ejemplo, la enzima catepsina B separa el punto de unión GPLG (Gly-Phe-Leu-Gly) del polímero PGA (ácido poliglutámico)); o con la exposición a un pH inferior (por ejemplo, un enlace de hidrazona se degrada en los endosomas y los lisosomas (pH 6,5-<4,0)) (Mura et al., 2013).

El transporte activo o pasivo de fármacos como doxorrubicina y paclitaxel fuera de estos compartimentos vesiculares garantiza la exposición a sus dianas farmacológicas. La ventaja del uso de estos conjugados polímero-fármacos reside en que la administración intracelular puede evitar los mecanismos de resistencia asociados con las bombas de reflujos de membrana, como la p-glicoproteína o facilitar la entrada celular de fármacos hidrofóbicos como los nombrados

anteriormente (Meerum Terwogt *et al.*, 2001). Si la concentración del fármaco es 10 veces mayor en el espacio intersticial con respecto al interior celular, la focalización mediada por EPR también permitirá eludir otros mecanismos de resistencia a los medicamentos. Las plataformas poliméricas no biodegradables deben ser eliminadas de la célula por exocitosis (Figura 12, B). La rápida eliminación exocítica del medicamento conjugado antes de su liberación sería perjudicial e impediría el acceso a la diana terapéutica. En general, los portadores poliméricos no tienen acceso al citosol (Duncan, 2006).

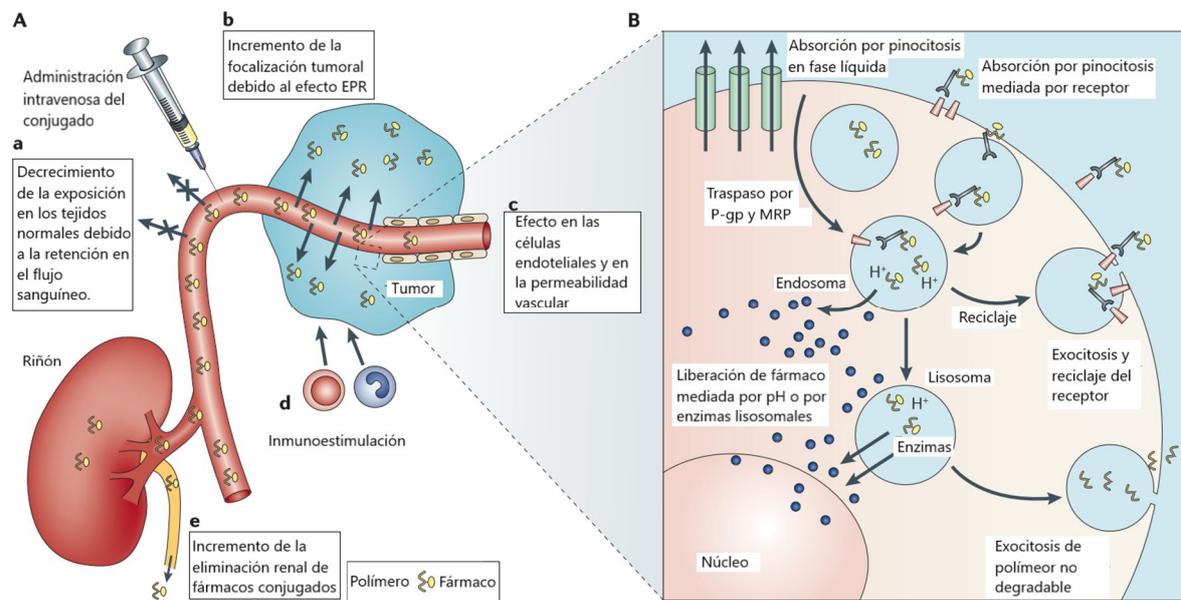


Figura 12. Mecanismo de acción de los conjugados polímero-fármaco (Duncan, 2006).

4.1 LIBERACIÓN DEL FÁRMACO DEL POLÍMERO. IMPORTANCIA DEL PUNTO DE UNIÓN O LINKER.

En general, se acepta que la liberación del fármaco por parte del portador es un requisito esencial para que los conjugados poliméricos ejerzan su actividad anticancerosa. Por lo tanto, el punto de unión ideal entre el polímero y el fármaco debe ser estable en la sangre y degradarse enzimáticamente o químicamente en el sitio del tumor (Duncan, 2006).

Si el enlace polimérico es estable en el torrente sanguíneo, los niveles de fármaco libre en el plasma son bajos (>100-1.000 veces menos que para el fármaco no conjugado) (Duncan, 2006). Esto, junto con la eliminación renal relativamente rápida del conjugado, explica la reducción de la toxicidad clínica del copolímero de N-(2-hidroxipropil) metacrilamida (HPMA)-doxorubicina

(Vasey *et al.*, 1999). Por el contrario, si el punto de enlace se hidroliza fácilmente en la circulación, se observan las toxicidades típicas que limitan la dosis del medicamento en cuestión (por ejemplo, copolímero de HPMA-paclitaxel) (Meerum Terwogt *et al.*, 2001) y ningún aumento en los resultados del índice terapéutico. El conjugado también podría hidrolizarse y liberar el fármaco durante la eliminación renal dando lugar a toxicidad inesperada, como la cistitis limitante de la dosis. Esto se ha visto en los copolímeros de HPMA-campotecina (Duncan, 2006).

Para los conjugados de polímeros que contienen más de un agente (terapia combinada, ver sección 6), la liberación del medicamento se puede ver afectada por la presencia de un segundo agente. Por ejemplo, Vicent *et al.* compararon la tasa de liberación del fármaco del copolímero HPMA-Gly-Phe-Leu-Gly-doxorrubicina-aminoglutamida (HPMA-GFLG-Dox-AGM) con la de la combinación del copolímero HPMA-GFLG-Dox y el copolímero HPMA-GFLG-AGM (Vicent *et al.*, 2005).

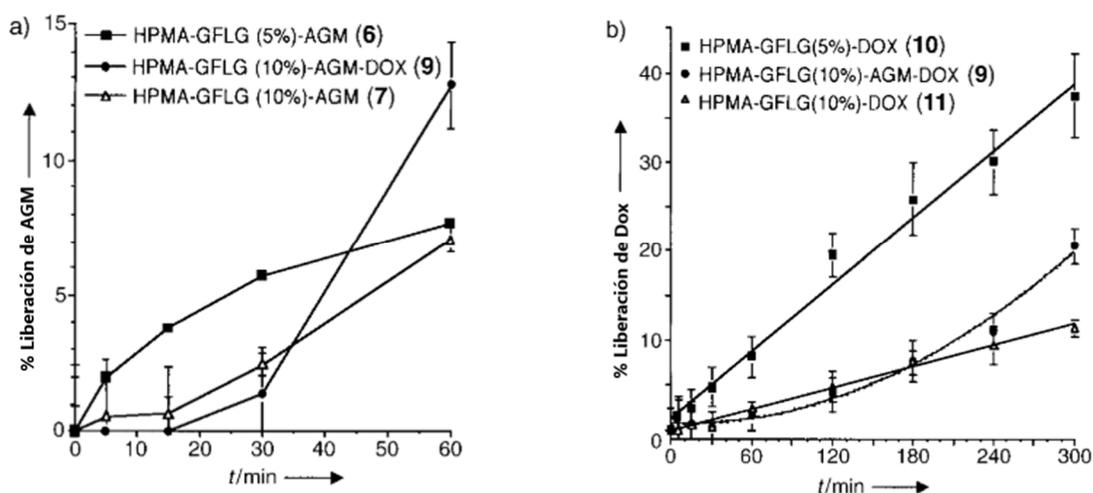


Figura 13. a) Gráfica de velocidad de liberación de AGM (aminoglutamida, inhibidor de la aromatasas) en monoterapia y combinada con doxorubicina. B) Gráfica de velocidad de liberación de doxorubicina en monoterapia y en combinación con AGM (Vicent *et al.*, 2005).

Los puntos de unión más utilizados son los sensibles al pH o los puntos de unión peptídicos. Por ejemplo el usado en el polímero HPMA-GFLG-Dox consiste en una cadena peptídica formada por Gly-Phe-Leu- Gly (Vicent *et al.*, 2005). Actualmente se están desarrollando nuevos mecanismos de acción de los puntos de enlace: Blencowe *et al.* estudiaron puntos de unión autoinmolativos, los cuales ante una activación simple pueden dar lugar a una cascada reacciones que finaliza en

la liberación del principio activo (Figura 14) (Blencowe *et al.*, 2011), por otro lado, se estudian péptidos en espiral biodegradables (Figura 15) (Apostolovic *et al.*, 2010).

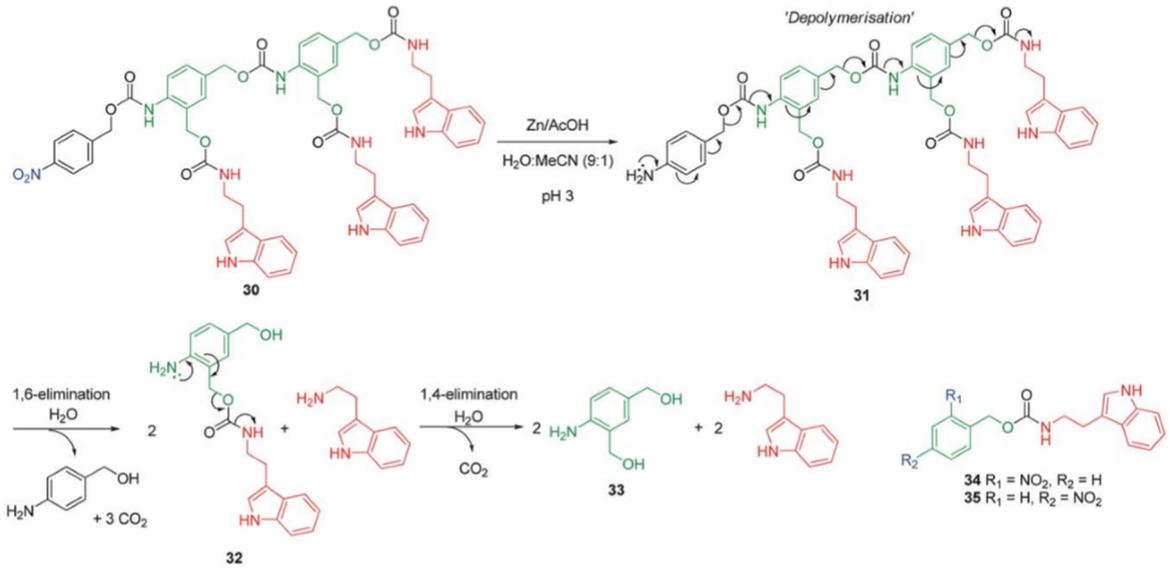


Figura 14. Desamblaje autoinmolativo de polímero 30 (2,4-bis(hidroxiometil)anilina) para dar lugar a los monómeros activos 34 y 35 (Blencowe *et al.*, 2011).

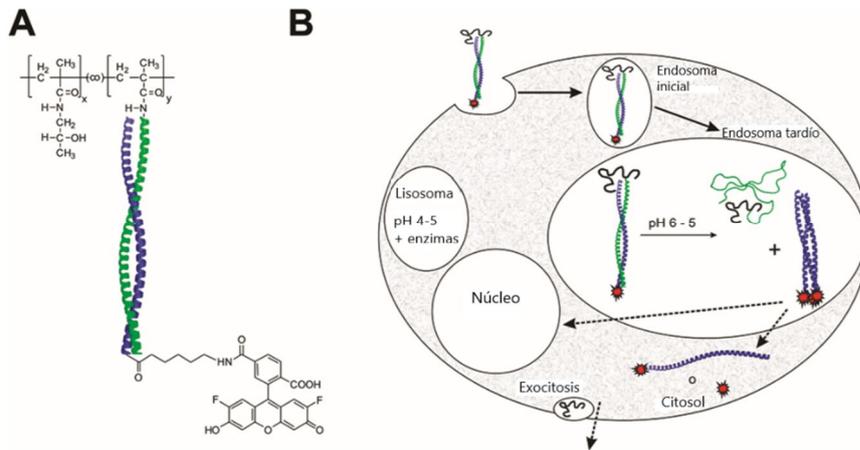


Figura 15. A) Punto de unión peptídico en espiral biodegradable. B) Mecanismo de degradación (Apostolovic *et al.*, 2010).

5. BIODEGRADACIÓN DEL CONJUGADO POLIMÉRICO

Las implicaciones toxicológicas generales de la entrada celular de construcciones poliméricas por endocitosis se discuten ampliamente en Duncan y Richardson (Duncan and Richardson, 2012). Una cuestión importante es el hecho de que la absorción celular de cualquier polímero no biodegradable conducirá a la acumulación debido a la retención dentro del sistema endo/lisosómico hasta la exocitosis o la muerte celular.

La mayoría de los conjugados de fármacos contra el cáncer han involucrado polímeros de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HPMA), polietilenglicol (PEG) o ácido poliglutámico (PGA) como el componente polimérico (Duncan, 2006). Aunque son bien tolerados clínicamente, tanto la PEG como los copolímeros de HPMA poseen la cadena principal no biodegradable, y se utilizan puntos de unión separados para controlar la tasa y el lugar de liberación del fármaco. Una línea principal de polímeros biopersistentes es una desventaja significativa, especialmente si se requiere la administración parenteral crónica y/o el uso de dosis altas de polímeros (Duncan, 2011). Existe riesgo de acumulación lisosómica con la inducción del síndrome de "enfermedad de almacenamiento lisosomal". El aumento de la evidencia preclínica de que ciertos conjugados de proteínas PEG inducen (aunque transitorios) la vacuolación intracelular en modelos animales está aumentando la conciencia de (I) la necesidad de considerar cuidadosamente los efectos potenciales de los polímeros no biodegradables o de lenta degradación sobre la función lisosómica normal, y (II) la ventaja potencial de los polímeros biodegradables con respecto al beneficio potencial de la seguridad y la capacidad de utilizar polimerizadores de peso molecular más alto para la optimización farmacocinética (Duncan, 2011).

6. TERAPIA COMBINADA

Debido a la complejidad molecular de muchas enfermedades, la terapia combinada es cada vez más importante para mejorar la eficacia y la eficiencia del tratamiento, que se traduce en un mejor pronóstico a largo plazo y en la disminución de los efectos secundarios. La terapia combinada para el tratamiento de una enfermedad se refiere a la administración simultánea de dos o más agentes farmacológicamente activos o a la combinación de diferentes tipos de terapia (por ejemplo, quimioterapia y radioterapia). A diferencia del tratamiento con un solo agente, el tratamiento con múltiples agentes puede modular diferentes vías de señalización en las células

enfermas, maximizando el efecto terapéutico y, pudiendo superar los mecanismos de resistencia (Broxterman and Georgopapadaku, 2005).

6.1 TERAPIA COMBINADA EN CÁNCER.

El uso de la terapia combinada para el tratamiento del cáncer está bien establecido (Greco and Vicent, 2009; Zhang *et al.*, 2016; Broxterman and Georgopapadaku, 2005; Tanabe *et al.*, 2009). La administración de una combinación de agentes que afectan a diferentes dianas y presentan diferentes perfiles de toxicidad puede mejorar el índice terapéutico, ya sea en forma de mejor eficacia o en forma de mejor eficacia comparable y toxicidad reducida (Greco and Vicent, 2009).

6.1.1 TERAPIA COMBINADA DE QUIMIOTERÁPICOS

La combinación de terapias se basa en principios bioquímicos, en la cinética de las células tumorales, la toxicidad no superpuesta, el aumento de la muerte fraccionada de las células, o la resistencia de las células tumorales (Greco and Vicent, 2009). Por ejemplo, en la leucemia aguda no linfocítica, el uso de antraciclina daunorubicina (intercalador de ADN) con ara-C (inhibidor de la ADN polimerasa) es un ejemplo exitoso de inhibición complementaria, ya que esta combinación interfiere en la reparación del ADN así como en su síntesis (Groves *et al.*, 2019). Otro buen ejemplo de sinergia bioquímica fue la administración de leucovorina (LV) antes del 5-fluorouracilo (5-FU) en el cáncer colorrectal, ya que la LV mejora notablemente la capacidad del 5-FU para unirse y, en consecuencia, bloquear la acción de la timidilato sintetasa (Greco and Vicent, 2009).

Otras combinaciones de medicamentos tradicionales para el tratamiento del cáncer incluyen combinaciones a base de antraciclina como AC (adriamicina y ciclofosfamida), CAF (ciclofosfamida, adriamicina, 5-FU); combinaciones a base de metotrexato como CMF (ciclofosfamida, metotrexato, 5-FU) y CMFVP (ciclofosfamida, metotrexato, 5-fluorouracilo, vincristina y prednisona) (Tanabe *et al.*, 2009); y paclitaxel que posee varias combinaciones, como paclitaxel y carboplatino para el cáncer de ovario y pulmón, o combinado con vinorelbina para el cáncer de pulmón de células no microcíticas (CPNM) (Muggia, 2009; Berhoun *et al.*, 2008). Actualmente, se están probando nuevas terapias con múltiples agentes o modificaciones de los regímenes establecidos. Además, también se exploran las variaciones de los patrones de administración para mejorar la respuesta, disminuir los efectos secundarios y, en última instancia, maximizar el beneficio terapéutico. Por ejemplo, se realizó un estudio de fase II combinando

paclitaxel, 5-fluorouracilo, ácido folínico y cisplatino en pacientes con cáncer gástrico avanzado. En este estudio, la administración semanal de paclitaxel se comparó con la administración trimestral y los resultados mostraron el mantenimiento de la eficacia terapéutica y la disminución de los efectos secundarios (Honecker *et al.*, 2002; Greco and Vicent, 2009).

La quimioterapia de combinación también puede ser usada como tratamiento paliativo (para reducir los síntomas y prolongar la esperanza de vida en lugar de tratar la enfermedad) o como tratamiento adyuvante antes o después de la cirugía (para reducir la masa tumoral de cánceres avanzados antes de la cirugía), para eliminar metástasis no operables o, después de la cirugía, micrometástasis no detectables (Åkeson *et al.*, 2008).

6.1.2. TERAPIA COMBINADA BASADA EN TERAPIA ENDOCRINA.

Los cánceres (de mama, de ovario, y de próstata) son de particular interés para la terapia endocrina. Como cualquier otro tipo de tumores sólidos, el cáncer de próstata y de mama se puede tratar con cirugía, radioterapia, quimioterapia o una combinación de ambas, pero además se puede tratar con terapia hormonal. Ensayos recientes han sugerido el uso del tratamiento endocrino con bifosfonatos adyuvantes (ácido zoledrónico) para el tratamiento del cáncer de mama. La justificación de esta combinación es doble: primero, se espera que el ácido zoledrónico (ZOL) contrarreste la pérdida ósea asociada con la supresión del estrógeno (Shapiro *et al.*, 2011), y además, otros ensayos clínicos ha confirmado su actividad antitumoral que había surgido en estudios preclínicos y clínicos previos: Gnant y compañeros hicieron un estudio en 1803 mujeres premenopáusicas en el que administraron tratamiento endocrino (goserelina con anastrozol o tamoxifeno) con o sin adición de ZOL; en este estudio se refleja que al administrar ZOL junto con el tratamiento endocrino se redujo en un 36% el riesgo de recaídas. Los autores destacan la importancia de la actividad antitumoral del ácido zoledrónico adyuvante más allá del tratamiento endocrino solo (Gschwantler-Kaulich *et al.*, 2017; Gnant *et al.*, 2011).

6.1.3. TERAPIA COMBINADA BASADA EN ANTICUERPOS MONOCLONALES.

Desde que entraron en el mercado, los anticuerpos monoclonales han ganado un papel importante en el tratamiento del cáncer solo o en combinación con otros agentes terapéuticos. Por ejemplo, el anticuerpo trastuzumab (Herceptin®), un anticuerpo monoclonal humanizado recombinante que tiene una afinidad con el receptor del factor de crecimiento epidérmico

humano-2 (HER-2) sobreexpresado en el cáncer de mama, se combina rutinariamente con quimioterapia para el tratamiento del cáncer de mama HER2- positivo (Waddell *et al.*, 2011).

En 2013, la FDA autorizó el uso de ado-trastuzumab emtansine (KADCYLA, Genentech, Inc.), que también es un conjugado de anticuerpos farmacológicos que dirigido al cáncer de mama metastásico HER-2 positivo. Consiste en trastuzumab, conjugado con el agente inhibidor de microtúbulos DM1, un derivado de la maytansina. En 2019, este conjugado fue aprobado por la FDA para el cáncer de mama precoz positivo HER-2, según se informa en el sitio web de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA). Sólo unos pocos conjugados han pasado por ensayos clínicos y han sido aprobados por la FDA para el tratamiento del cáncer (Wadhawan *et al.*, 2019).

Otros anticuerpos monoclonales como el rituximab (Rituxan®) (Shapiro *et al.*, 2011) o el bevacizumab (Avastin®) (Botrel *et al.*, 2016) se utilizan para el tratamiento de varios cánceres metastásicos, incluido el cáncer colorrectal o el CPNM (Cáncer de pulmón no microcítico), y se han evaluado en combinación con la quimioterapia tradicional para el tratamiento de tumores de mama avanzados (Miller *et al.*, 2007). El bevacizumab es de particular interés, ya que dicha molécula fue el primer fármaco antiangiogénico que recibió la aprobación de la FDA para su comercialización (febrero de 2004). En la actualidad, el bevacizumab se combina con quimioterapia a base de 5-fluorouracilo, carboplatino o paclitaxel para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico, el CPNM y el cáncer de mama metastásico, respectivamente (Rugo, 2004; Miller *et al.*, 2007).

6.1.4. COMBINACIONES DE DISTINTOS TIPOS DE TERAPIA

Además de la combinación de dos o más agentes bioactivos, la combinación de quimioterapia y radioterapia ha producido una mejor respuesta y tasas de supervivencia en pacientes con cáncer. O la combinación de inmunoterapia y radioterapia, que ha revelado resultados prometedores tanto en estudios preclínicos como en ensayos clínicos en curso (Greco and Vicent, 2009). La terapia con radionúclidos dirigidos (TRT) es una rama de la medicina oncológica que se ocupa del uso de radioisótopos, moléculas radiomarcadas, nanopartículas o micropartículas que se acumulan de forma natural en los tumores o están diseñadas para atacarlos. La TRT combina la especificidad del objetivo molecular y a veces físico con la potente citotoxicidad de la radiación ionizante (Gill *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2019)

6.1.5. ESTUDIOS PRECLÍNICOS SOBRE NUEVOS ENFOQUES.

Además de estos estudios clínicos, existen interesantes estudios preclínicos explorando nuevas combinaciones que podrían resultar en nuevos protocolos terapéuticos, y paralelamente se espera que aporten información a los mecanismos celulares que regulan la respuesta del tratamiento. Lowe y sus colaboradores diseñaron una terapia de combinación de dos medicamentos capaz de revertir la resistencia a la quimioterapia en ratones mediante el reestablecimiento de los mecanismos celulares que afectan los patrones de crecimiento y muerte, mal regulados en las células cancerosas. Los animales fueron tratados con rapamicina, doxorubicina o los dos fármacos en combinación. En el caso de la combinación de fármacos, se observó una remisión tumoral completa mientras que los animales tratados con cualquiera de los fármacos solos (rapamicina o doxorubicina (Dox) rara vez experimentaron una remisión completa (Wendel *et al.*, 2004)). Esta combinación se basa en la regulación de las vías moleculares específicas, con la rapamicina que restaura la muerte celular programada en las células cancerosas y el Dox que desencadena dicho proceso. Finalmente, se ha sugerido un enfoque interesante para diseñar racionalmente combinaciones de medicamentos (Lane, 2006). Los autores proponen identificar y luego dirigirse a antígenos cuya expresión se desencadena por la exposición a la quimioterapia. En este estudio, expusieron un modelo de xenoinjerto de cáncer colorrectal al agente quimioterapéutico irinotecán (CPT-11), que llevó a la inducción del antígeno LY6D/E46. Luego, prepararon un anticuerpo monoclonal contra este antígeno y lo conjugaron con monometil auristatin, un potente fármaco antitubulínico, para formar un inmunoconjugado. La administración de la combinación de irinotecán e inmunoconjugado produjo una regresión tumoral completa, pero los agentes individuales no lo hicieron (Lane, 2006). Aunque todavía en desarrollo preclínico, esta técnica abre la vía a combinaciones diseñadas racionalmente y puede ampliar la gama de anticuerpos disponibles para el tratamiento anticanceroso (Greco and Vicent, 2009).

A corto plazo, la terapia de combinación es más costosa que las monoterapias, sin embargo, las combinaciones de fármacos apropiadas pueden producir beneficios significativos, incluyendo un menor fracaso del tratamiento, menores tasas de letalidad, un desarrollo más lento de la resistencia a los medicamentos y, a largo plazo, incluso ahorro económico (Logman *et al.*, 2009). La terapia combinada ya desempeña un papel clave en el tratamiento del cáncer y, si se apoya en la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes, se espera que lo haga aún más en el futuro (Greco and Vicent, 2009).

6.1.6. INCONVENIENTES DE LA TERAPIA COMBINADA CON FÁRMACOS NO UNIDOS A TRANSPORTADOR.

Una preocupación clave acerca de la terapia combinada de fármacos es de qué manera los múltiples componentes de la terapia deben ser administrados para lograr la liberación óptima. Como se resume en la Tabla 2, existen varios obstáculos que podrían comprometer la terapia combinada de fármacos libres, lo que conduciría a resultados no deseados. Estos problemas son comunes en el tratamiento clínico del cáncer. Por lo tanto, no todos los medicamentos componentes de una combinación pueden alcanzar los tejidos y las células tumorales en la proporción y duración deseadas, lo que resulta en una eficacia subóptima y un aumento de la toxicidad no específica de la terapia. (Zhang *et al.*, 2016)

PROBLEMA	DESCRIPCIÓN	EJEMPLO
SOLUBILIDAD LIMITADA	Uno de los fármacos es poco soluble y requiere medidas drásticas para disolverse, comprometiendo la terapia.	Paclitaxel tiene una solubilidad limitada y requiere una alta concentración de tensioactivos para solubilizar el fármaco, lo que aumenta el riesgo de efectos adversos del fármaco.
PERMEABILIDAD LIMITADA	Uno de los fármacos tiene una capacidad limitada para penetrar a través de las membranas celulares, por lo que no todos los fármacos de la combinación pueden alcanzar niveles intracelulares suficientemente altos.	En una combinación de fármacos quimioterapéuticos con terapia de ácidos nucleicos, las moléculas de ácidos nucleicos pueden alcanzar eficientemente el citoplasma.
ENTREGA INADECUADA DE FÁRMACO EN EL TUMOR	En una combinación, los fármacos que tienen un alto peso molecular y afinidades de unión a las proteínas tienden a penetrar mal en un tumor sólido.	DOX no penetra en un tumor epitelial muy comprimido, lo que lleva a niveles DOX por debajo de la concentración óptima en diferentes lugares del tumor.
DISTRIBUCIÓN DESIGUAL DE MEDICAMENTOS EN EL TUMOR	Las células del mismo tumor no están expuestas a todos los fármacos de una combinación en sus niveles terapéuticos.	En una combinación de fármacos quimioterapéuticos y quimiosensibilizador, algunas células no están adecuadamente sensibilizadas, por lo que no responden completamente a los componentes de la quimioterapia.
ESTABILIDAD DIFERENTE DE LOS FÁRMACOS	Uno o más de los fármacos de la combinación se degrada mucho más rápido que el resto.	Los agentes de ARN y péptidos tienden a tener una vida media in vivo corta en comparación con muchos fármacos quimioterapéuticos lipofílicos, por lo que puede ser necesario dosificar los diferentes componentes a diferentes frecuencias
DIFERENTES SEMIVIDAS Y CAPACIDAD DE ACUMULACIÓN EN EL TUMOR	Uno o más fármacos de la combinación es eliminado mucho más rápido que el resto.	DOX tiene una vida media de eliminación de 7-10 h, mientras que MMC 15-40 min; MMC acumula más en el tumor a corto plazo, mientras que desaparece a las 24 h
ALTERACIÓN DE LA FARMACOCINÉTICA Y/O DEL METABOLISMO	Los fármacos componentes comparten las mismas enzimas y/o rutas metabólicas de eliminación.	Los inhibidores de la P-gp (p.ej. valsodar, Elacridar) destinados a revertir la resistencia a los medicamentos mediada por la P-gp podrían reducir la eliminación de medicamentos contra el cáncer (rg DOX, paclitaxel, vincristina) a través del hígado o los riñones.

SUPERPOSICIÓN DE MECANISMOS	Dos o más fármacos se dirigen a las mismas vías moleculares, lo que produce un efecto terapéutico subóptimo y desencadena la quimiorresistencia	Uso de dos taxanos (ej. Paclitaxel y docetaxel) o dos antraciclinas (ej. DOX y daunorubicina)
SUPERPOSICIÓN DE TOXICIDADES	Dos o más medicamentos comparten perfiles de toxicidad similares en tejidos y órganos, lo que amplifica los efectos adversos del medicamento y dificulta el uso de dosis casi máximas.	Perfiles de toxicidad superpuestos del bolo 5-FU e irinotecán, que dan lugar a altas tasas de diarrea grave
MALA SINCRONIZACIÓN O SECUENCIACIÓN NO ADECUADA (CINÉTICA DESCONTROLADA)	Algunas combinaciones funcionan mejor con todos los fármacos administrados simultáneamente, mientras que otros funcionan mejor si uno de los medicamentos se administra antes.	El agente apoptótico paclitaxel puede no ayudar a que otros medicamentos penetren en un tumor sólido si se administran juntos o menos de 24 horas antes que otros medicamentos

Tabla 2. Problemas que pueden comprometer la efectividad de la terapia combinada anticancerígena.

Para generar un efecto anticancerígeno sinérgico, se requiere una proporción fija de dos (o más) fármacos administrados a las células cancerosas, pero esto es extremadamente difícil de conseguir si se administra una solución de fármacos libres combinados debido a la disposición de los tejidos, a la captación de los distintos fármacos por parte de las células y a las cuestiones nombradas en la Tabla 2. Además, la proporción inicial de medicamentos no se mantiene en la circulación y en el tejido tumoral después de un corto período de tiempo. Las interacciones farmacológicas como resultado del metabolismo compartido y las vías de excreción podrían dar lugar a una mayor toxicidad tisular y a una relación alterada entre los medicamentos. Por el contrario, cuando estos fármacos se transportan a conciencia en un nanotransportador y son liberados a un ritmo similar, su relación sinérgica (por ejemplo, 2:1 para el fármaco A con respecto al fármaco B) puede mantenerse a una alta concentración en la sangre y en el tumor durante un largo período de tiempo (Zhang *et al.*, 2016).

Por lo tanto, la aplicación de sistemas de liberación de fármacos (DDS) o nanotransportadores poliméricos para la terapia combinada con el fin de garantizar que dichos cócteles de fármacos se administren realmente de forma simultánea en el lugar de destino es de un claro interés (Greco and Vicent, 2009). En la siguiente sección se revisa el uso de conjugados de polímeros como sistemas transportadores de fármacos en terapia combinada.

6.2. CONJUGADOS POLIMÉRICOS PARA LA TERAPIA ANTICANCERÍGENA COMBINADA

El término "conjugados poliméricos para terapia de combinación" es un frase general que abarca al menos cuatro tipos de sistemas (Figura 16) (Greco and Vicent, 2009):

A) Tipo I: conjugado polímero-fármaco con fármaco libre. Se administra un conjugado de polímero que contiene un solo fármaco en combinación con un fármaco de bajo peso molecular o con otro tipo de tratamiento (por ejemplo, radioterapia).

B) Tipo II: conjugado polímero-fármaco con conjugado polímero-fármaco. En el segundo tipo, se administran en combinación dos conjugados de polímeros, cada uno de los cuales contiene un único agente terapéutico.

C) Tipo III: Portador polimérico único que transporta una combinación de fármacos. Dos o más medicamentos se unen a un único portador de polímero.

D) Tipo IV: terapia con profármaco enzimáticos dirigidos por polímeros (PDEPT) y terapia con lisosomas y enzima-polímero (PELT). El cuarto tipo de sistema comprende la combinación de un conjugado de polímeros con un único agente terapéutico con un conjugado de enzimas poliméricas (PDEPT) o la combinación de un sistema liposomal con un conjugado de polímeros y fosfolipasa (PELT). El conjugado de polímero-enzima es responsable de la liberación del fármaco después de la ruptura del enlace fármaco-polímero (en PDEPT) o de la interrupción del sistema liposomal (en PELT).

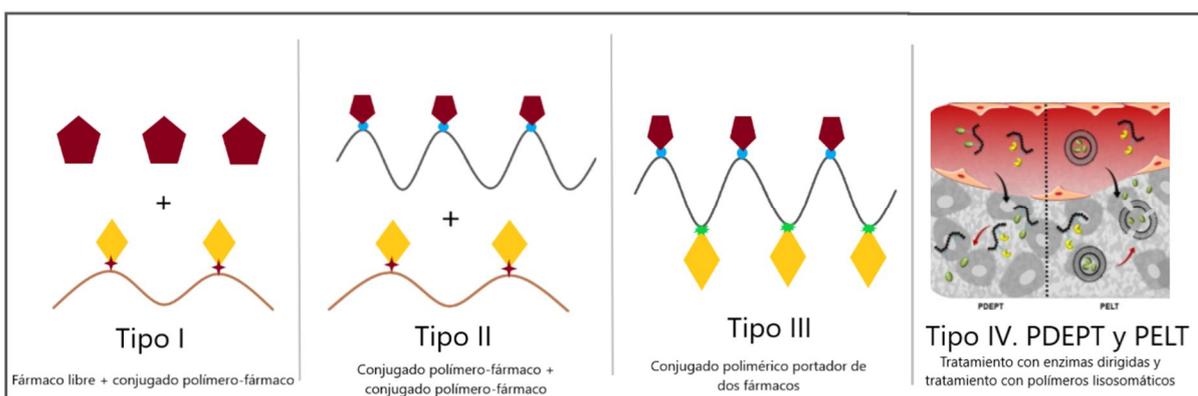


Figura 16. Representación de los diferentes tipos de terapia combinadas con polímeros conjugados.

A continuación se discuten los diversos sistemas:

6.2.1. CONJUGADO POLÍMERO-FÁRMACO CON FÁRMACO DE BAJO PESO MOLECULAR U OTRO TIPO DE TERAPIA.

Visto que la terapia rutinaria contra el cáncer implica la administración de tratamientos combinados de fármacos, la evaluación de los conjugados de polímero-fármaco en combinación con fármacos libres fue un paso lógico a seguir. Los estudios clínicos evaluaron el conjugado de PGA-paclitaxel en combinación con platinatos. Se realizó un estudio de fase I en 43 pacientes con tumores sólidos avanzados que combinaban una dosis fija de cis-platino (75 mg/m²) con dosis crecientes de PGA-paclitaxel. Como es habitual en los estudios de fase I, el objetivo principal era determinar la toxicidad, la dosis máxima tolerada (MTD) y la farmacocinética del PGA-paclitaxel. Sin embargo, se observó que esta combinación mostró una buena actividad en pacientes refractarios (Zhang, 2007).

Como se discutió anteriormente la quimioterapia y la radioterapia a menudo se combinan en la práctica clínica. Dado que la radioterapia puede influir en la vascularización tumoral, ampliando posiblemente el efecto EPR, la combinación de la radioterapia con el conjugado de fármacos poliméricos es muy interesante. De hecho, las observaciones de aumento de la actividad si el tratamiento con conjugados de polímero-fármaco seguidos de radioterapia ya se informaron en los primeros ensayos clínicos. (Ke *et al.*, 2001). Por otra parte, se realizó un estudio de fase I en veintidós pacientes con cáncer esofágico y gástrico para evaluar el PGA-paclitaxel y la radioterapia. El objetivo del estudio fue establecer la seguridad y el MTD de esta combinación, que resultó ser de 80 mg/m². Curiosamente, las observaciones adicionales incluyeron una respuesta clínica completa en el 33% de los pacientes con enfermedad locorregional (Dipetrillo *et al.*, 2006). Recientemente, Lammers *et al.* han llevado a cabo estudios preclínicos sistemáticos que investigan el impacto de la radioterapia en la acumulación de macromoléculas en tumores. En un primer estudio, los autores analizaron el poliHPMA de diferentes pesos moleculares y un conjugado HPMA copolímero-Dox y observaron que la radioterapia promovía la focalización pasiva del tumor en todas estas macromoléculas (Lammers *et al.*, 2007). En un estudio posterior, el mismo grupo evaluó los copolímeros de HPMA con agentes de imagen y conjugados de fármacos copolímeros de HPMA y confirmó que la orientación tumoral aumentaba si los ratones eran tratados previamente con radioterapia. Este aumento de la orientación tumoral resultó finalmente en un mejor índice terapéutico para los dos fármacos evaluados (Dox ligado al polímero y gemcitabina ligada al polímero)(Lammers *et al.*, 2008).

6.2.2 CONJUGADO POLÍMERO-FÁRMACO CON CONJUGADO POLÍMERO-FÁRMACO.

Se ha sugerido la opción de combinar dos conjugados de polímeros, cada uno de los cuales lleva un agente terapéutico simple. Kopeček y sus compañeros probaron la combinación de dos conjugados de polímeros que contenían el agente quimioterapéutico Dox y el agente fotoactivable mesocloro e6 (HPMA copolímero Dox y HPMA copolímero mesocloro e6) y demostraron que la combinación era más activa que cualquiera de los dos conjugados solos. Se observó una actividad aún mejor cuando se añadió el anticuerpo OV-TL16 como ligando de reconocimiento en cáncer de ovario (Shiah *et al.*, 2001).

Otro grupo evaluó el efecto terapéutico de dos conjugados de polietilenglicol (PEG): protoporfirina de PEG-zinc (ZnPP, un inhibidor de la hemo oxigenasa) y PEG-D-aminoácido oxidasa (DAO). El tratamiento con PEG-ZnPP seguido de PEG-DAO y D-prolina inhibió significativamente el crecimiento tumoral en modelos animales, efecto que no se observó para el conjugado solo (Khandare *et al.*, 2006).

Finalmente, Minko y su equipo informaron de un sistema de administración de fármacos proapoptóticos específicos que consistía en camptotecina (CPT), péptido de dominio BH3 y hormona liberadora de hormonas luteinizantes (LHRH). Con el fin de probar la eficacia de la combinación de dicho componente, este grupo de investigación probó los conjugados CPT, CPT-PEG, CPT-PEG-BH3 o CPT-PEG-LHRH libres y la mezcla de conjugados CPT-PEG-BH3 y CPT-PEG-LHRH en células de carcinoma ovárico humano. Se observó un aumento de la actividad proapoptótica cuando se usó la combinación CPT-PEG-BH3 y CPT-PEG-LHRH (Khandare and Minko, 2006).

6.2.3. PORTADOR POLIMÉRICO ÚNICO QUE TRANSPORTA UNA COMBINACIÓN DE FÁRMACOS

Aunque varios estudios han desarrollado conjugados poliméricos, que contenía un residuo diana, así como un fármaco, sólo en los últimos años se han combinado dos o más fármacos dentro de un único portador polimérico (ver Figura 16). Este enfoque es sustancialmente diferente de los conjugados de fármacos poliméricos que contienen un grupo objetivo, ya que se espera que ambos agentes provoquen una respuesta farmacológica, en lugar de que uno sea el ingrediente activo y el otro el aumento de la focalización tumoral. Al conjugar ambos medicamentos a un solo portador, se puede lograr la administración simultánea de ambos medicamentos (Greco and

Vicent, 2009). El primer conjugado de este tipo fue un copolímero de HPMA que transportaba una combinación de tratamiento endocrino (el inhibidor de la aromatasa aminoglutetimida (AGM)) y quimioterapia (Dox), copolímero HPMA-AGM-Dox conjugado. La carga del fármaco en este conjugado fue aproximadamente 5% p/p para AGM y 7% p/p para Dox y los fármacos se unieron a través de un punto de unión péptidico diseñado para ser dividido dentro del compartimiento lisosómico de las células cancerosas. La actividad anticancerosa de este conjugado fue evaluada in vitro contra líneas celulares de cáncer de mama. Curiosamente, el conjugado portador de ambos fármacos era más activo que la combinación de dos conjugados de polímero cada uno portador de un único fármaco (Vicent et al., 2005). Un estudio posterior sugirió que tal aumento de la actividad podría deberse a una variedad de factores, incluyendo la tasa de liberación del fármaco, la conformación del conjugado en solución y, posiblemente, la activación de ciertas vías moleculares (Greco *et al.*, 2007).

Otros han usado PEG para conjugar el agente quimioterapéutico epirubicina (EPI) y el óxido nítrico mensajero difusible (NO). Dado que el PEG no modificado tiene una capacidad de carga máxima de dos moléculas de fármacos por cadena de polímeros, los autores construyeron una estructura dendronizada (ver apartado 6.3, capacidad de carga de polímeros conjugados) en un extremo de la cadena PEG. Esta estrategia no sólo permitió aumentar significativamente la carga de NO (hasta 8 moléculas por cadena) sino también obtener dos términos químicamente distintos (un ácido carboxílico utilizado para la conjugación de NO y un grupo hidroxilo para conjugar el EPI). Esta combinación es de particular interés ya que el EPI y el NO inducen diferentes respuestas farmacológicas que son, en parte, dependientes de los tejidos. En las células cancerosas, el EPI y el NO actúan sinérgicamente, mientras que en los cardiomiocitos el NO contrarresta la cardiotoxicidad inducida por el EPI. La conjugación de ambos agentes en una sola cadena asegura que sufran la misma distribución corporal, maximizando así los beneficios de esta combinación. Los estudios in vivo confirmaron que el conjugado PEG-NO-EPI mostraba actividad anticancerosa pero era menos cardiotóxico (Santucci *et al.*, 2006).

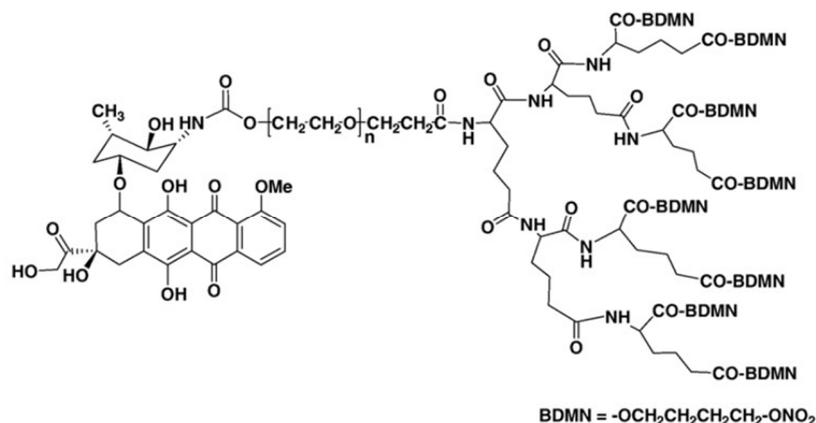


Figura 17. Polímero PEG-NO-EPI(Greco and Vicent, 2009).

6.2.4. TERAPIA CON PROFÁRMACOS ENZIMAS DIRIGIDAS POR POLÍMEROS (PDEPT) Y TERAPIA CON POLÍMEROS LIPOSOMÁTICOS (PELT).

El tratamiento con enzimas dirigidas por polímeros (PDEPT) y el tratamiento con polímeros liposomáticos (PELT) se concibieron como estrategias terapéuticas de dos componentes administrados en dos etapas para permitir el control externo de la tasa de liberación del fármaco. Esto puede superar una situación en la que la liberación del medicamento es demasiado lenta (Duncan, 2017). Esta estrategia se basa en la combinación de un conjugado polímero-fármaco con un conjugado polímero-enzima con el objetivo de lograr la liberación selectiva del fármaco en el sitio del tumor (Figura 18). De hecho, el punto de enlace que une el fármaco al polímero en el primer conjugado está diseñado para ser degradado por la enzima del segundo conjugado.

Los compuestos del modelo inicialmente probados fueron polímero HPMA-Dox, un conjugado que ha mostrado actividad anticancerosa clínicamente en estudios de fase II, y polímero HPMA-catepsina B (Satchi-Fainaro *et al.*, 2003). La activación del polímero de HPMA-Dox depende normalmente de su exposición a la catepsina B (enzima lisosomal) y, por lo tanto, está influenciada por su tasa de captación celular, el tráfico intracelular y, obviamente, por los encuentros de contenido enzimático. La administración de un conjugado de polímero-catepsina B aseguró la liberación apropiada del fármaco en el sitio del tumor, independientemente de los factores mencionados anteriormente. Los estudios preclínicos confirmaron que el conjugado HPMA-catepsina B fue capaz de desencadenar la liberación de Dox en modelos animales con más efectividad que con el copolímero HPMA-Dox solo (Satchi-Fainaro *et al.*, 2003; Scomparin *et al.*, 2017).

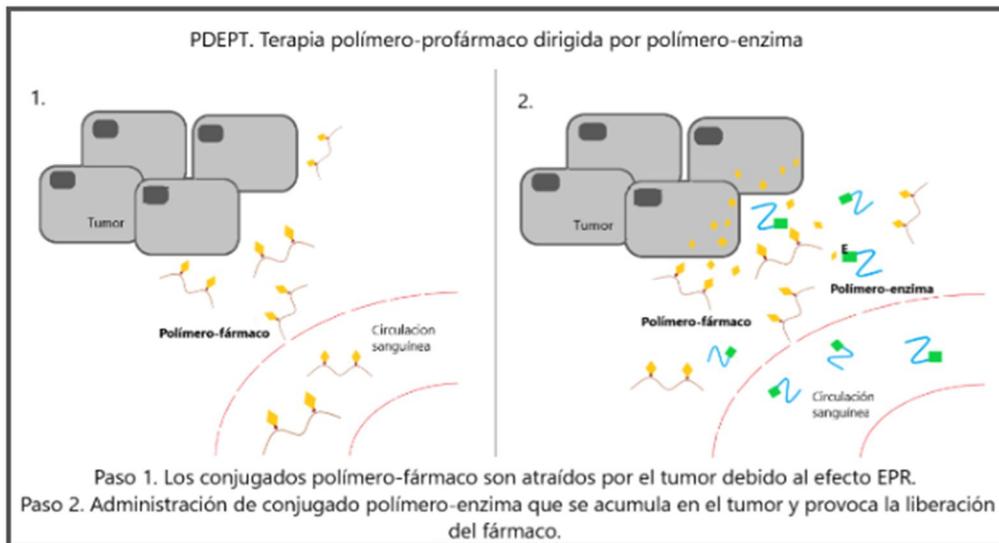


Figura 18. Mecanismo de acción de PDEPT

La terapia de liposoma de polímero enzimático (PELT) es una terapia similar, pero en este caso se administra un conjugado de polímero enzimático para promover la degradación de liposomas y la siguiente liberación del fármaco (Figura 19). Ferguson y su grupo de trabajo han sintetizado dos conjugados de polímeros de fosfolipasa C (PLC) y A2 (PLA2) y han estudiado su capacidad para desencadenar la liberación de antraciclina de los liposomas utilizados clínicamente, Caelyx® y DaunoXome®, obteniendo diversos resultados que sugieren la necesidad de estudios in vivo para evaluar las combinaciones de PELT más a fondo (Ferguson *et al.*, 2017).

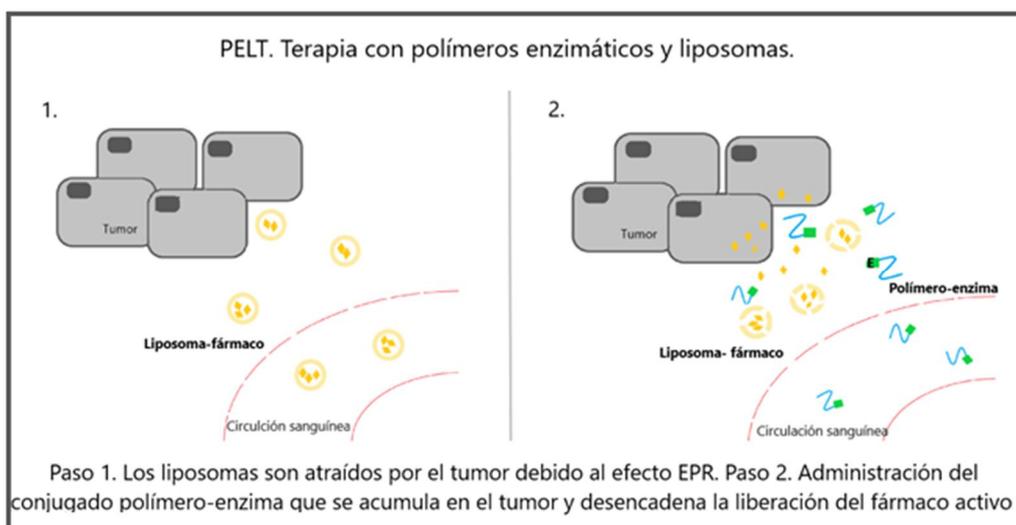


Figura 19. Mecanismo de acción PELT.

6.3. CAPACIDAD DE CARGA DE LOS NANOPOLÍMEROS CONJUGADOS.

Un requisito importante de estos conjugados poliméricos es que dispongan de la capacidad de carga adecuada para garantizar la administración de una cantidad suficiente de fármacos al tumor. Está claro entonces la importancia del desarrollo de nanopolímeros transportadores con una gran capacidad de carga para que puedan llevar múltiples agentes. Algunos de los polímeros lineales explorados inicialmente como portadores de medicamentos tenían una capacidad limitada. El PEG no modificado puede transportar un máximo de dos moléculas de fármacos por cadena, y los copolímeros de HPMA explorados hasta ahora tienen una cantidad relativamente limitada de monómeros con grupos funcionales apropiados para la conjugación de fármacos (normalmente, $\leq 10\%$ proporción molar)(Duncan *et al.*, 2005). Más recientemente, se han explorado otros polímeros lineales que muestran una mejor capacidad de carga. Por ejemplo, el ácido poliglicólico (PGA) puede teóricamente transportar una molécula de fármaco por monómero y, de hecho, los conjugados basados en el PGA tienen una alta carga de fármaco (37% en peso de PGA – Paclitaxel (Singer, 2005) y 33-35 % en peso de PGA – Camptotecina (Bhatt *et al.*, 2003). Además de los polímeros lineales, se están explorando nuevas arquitecturas poliméricas como los dendrímeros (Figura 20, a) (Jain and Asthana, 2007), o los polímeros hiperbranqueados (Figura 20, b)(Kainthan and Brooks, 2007).

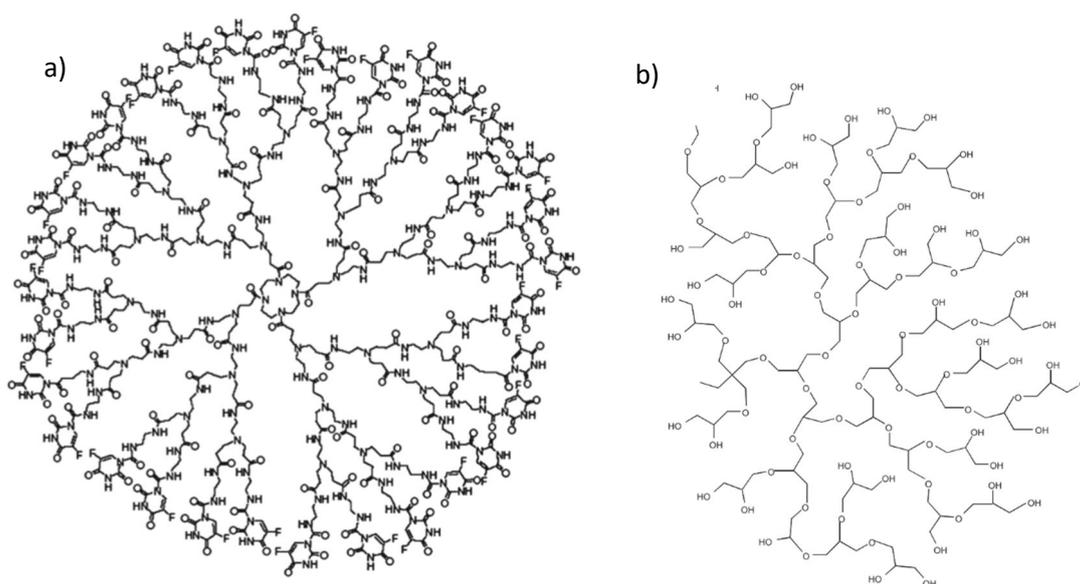


Figura 20. (a) Dendrímtero PAMAM (poli-amidoamina) cargando 5-FU en los extremos (Jain and Asthana, 2007) y (b) Estructura de polímero de poliglicerol hiperbranqueado (Kainthan and Brooks, 2007)

Los polímeros hiperbranqueados son alternativas potenciales a los dendrímeros en aplicaciones en las que no es necesaria una estructura precisa. Estas aplicaciones incluyen la modificación de

la viscosidad y el enlace cruzado donde se explotan las características del polímero como la estructura globular, la baja viscosidad y el gran número de grupos funcionales (Kainthan and Brooks, 2007).

6.4. IDENTIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ADECUADOS PARA LA TERAPIA COMBINADA DE POLÍMEROS TRANSPORTADORES.

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de las combinaciones de fármacos se basan en la suposición de que, al dirigirse a diferentes vías celulares, el beneficio terapéutico se puede maximizar y reducir la toxicidad. Varias combinaciones han tenido éxito y confirman la validez de esta afirmación como hemos podido ver a lo largo de este apartado, pero otros estudios no han cumplido las expectativas iniciales (Jones, 2009), por lo que la identificación de los fármacos que mejor se administran juntos es un aspecto clave. Es necesaria una evaluación biológica exhaustiva, apoyada por un profundo conocimiento de los mecanismos moleculares implicados. Otro aspecto complejo de los sistemas multiagente es la determinación de la dosis óptima, ya que las relaciones relativas entre cada componente pueden afectar a la actividad (Greco and Vicent, 2009).

6.5. DESARROLLO CLÍNICO DE LOS CONJUGADOS POLIMÉRICOS COMO TERAPIA COMBINADA.

El paso de estos productos combinados a la clínica es extremadamente difícil debido a que requiere medidas adicionales para probar inequívocamente su beneficio clínico. En particular, es necesario demostrar que los beneficios clínicos se deben a la estrategia avanzada de administración de fármacos y no simplemente a los efectos aditivos/sinérgicos de los compuestos principales administrados como entidades terapéuticas separadas. En otras palabras, es necesario demostrar que la combinación de dos o más agentes dentro de un mismo sistema de administración proporciona ventajas sobre la simple administración de los fármacos libres combinados. Debido a la complejidad del diseño de estos ensayos clínicos y a las consiguientes cuestiones éticas, se prevé que los costes de desarrollo de estos productos combinados puedan ser significativamente superiores a los del desarrollo de las actuales preparaciones farmacéuticas. Por otro lado, dado que es probable que estas terapias combinadas se autoricen como nuevos agentes terapéuticos, las compañías farmacéuticas podrían percibir las como oportunidades para prolongar la vida de las patentes de los medicamentos de gran éxito (Greco and Vicent, 2009).

7. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LOS POLÍMEROS

La caracterización físico-química de estas nanoconstrucciones es un requisito reglamentario muy estricto que debe cumplirse. En comparación con las moléculas pequeñas, los conjugados poliméricos son sistemas relativamente complejos para caracterizarlos completamente. Estos sistemas son intrínsecamente heterogéneos por varias razones. Primero, la mayoría de los portadores poliméricos son polidispersos. En segundo lugar, la conjugación covalente de un fármaco con el portador es a menudo un proceso aleatorio y, aunque la optimización de las condiciones de reacción garantiza un buen grado de reproducibilidad lote a lote, el punto de unión del fármaco dentro de la cadena sigue siendo en muchos casos no controlable y no direccionable. En la terapia combinada, la unión de un segundo medicamento al mismo portador complica aún más el asunto. Como resultado, una caracterización físico-química adecuada es algo difícil de lograr. Por el contrario, para que estos compuestos se conviertan en medicamentos y finalmente lleguen al mercado, es necesario caracterizarlos a fondo (Food and Drug Administration, 2017). Además, una caracterización químico-física exhaustiva de estos compuestos puede ayudar a comprender su comportamiento biológico y contribuir al desarrollo de generaciones posteriores diseñadas racionalmente (Greco and Vicent, 2009).

8. TOXICOLOGÍA DE LAS NANOMEDICINAS

Ha habido un gran debate público sobre los peligros potenciales de los nanomateriales de ingeniería emergentes debido a la percepción potencial de que pueden causar daños relacionados con la exposición ambiental y humana. A la pregunta de si son peligrosos los nanomateriales sólo se puede dar una respuesta específica a cada material, pues depende de las características específicas del mismo (composición química, biodegradabilidad, si están encapsulados o no, etc). En el caso de un medicamento, antes de su comercialización se conoce la dosis, la frecuencia de dosificación y la vía de administración; además de haber sido sometido a estudios físico-químicos para caracterizarlo como se indica en la sección 7. En resumen, el riesgo-beneficio de cualquier medicamento se valora en una evaluación clínica exhaustiva (Duncan, 2017).

CONCLUSIÓN

El campo de la terapéutica de los polímeros y el diseño racional de los conjugados poliméricos ha experimentado un gran progreso en las últimas décadas, con un número creciente de candidatos actualmente bajo investigación clínica. Se están desarrollando una serie de arquitecturas de polímeros y productos químicos diferentes, y se están realizando nuevas aplicaciones. El desarrollo continuo y el éxito de este campo depende de un enfoque multidisciplinario, donde la colaboración entre profesionales de la química, bioquímica, farmacia, y especialistas en la clínica es fundamental para el diseño, desarrollo y traducción clínica de los conjugados poliméricos.

Sin embargo, después de cuatro décadas de evolución, este campo está llegando a una importante encrucijada. Durante la última década, el paisaje ha cambiado rápidamente. Hay un número creciente de ensayos clínicos fallidos, el número de productos "copiados" y "genéricos" va en aumento (peligro de ignorar la lógica biológica para el diseño y la supresión de la innovación), los posibles inconvenientes de la PEG son cada vez más evidentes (ver apartado 5: biodegradación), y el auge de la "nanomedicina" ha traído consigo el peligro de la pérdida de concentración sobre la terapéutica de polímeros por parte de los investigadores. Por otra parte, los avances en la comprensión de la fisiopatología y la base molecular de las enfermedades, los nuevos métodos sintéticos y analíticos de polímeros/conjugados, así como la gran base de datos de experiencia clínica, aseguran sin duda un futuro de éxito para las terapias innovadoras con polímeros. Todo esto está empezando a preparar el escenario para la selección de los pacientes que tienen más probabilidades de responder a la terapia con polímeros, es decir, para una mejor individualización del tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

Åkeson M, Zetterqvist BM, Dahllöf K, Brännström M, Horvath G. Effect of adjuvant paclitaxel and carboplatin for advanced stage epithelial ovarian cancer: A population-based cohort study of all patients in western Sweden with long-term follow-up. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008;87:1343–52. doi:10.1080/00016340802495491.

Apostolovic B, Deacon SPE, Duncan R, Klok HA. Hybrid polymer therapeutics incorporating bioresponsive, coiled coil peptide linkers. *Biomacromolecules* 2010;11:1187–95. doi:10.1021/bm901313c.

Arruebo M, Vilaboa N, Sáez-Gutierrez B, Lambea J, Tres A, Valladares M, et al. Assessment of the evolution of cancer treatment therapies. *Cancers (Basel)* 2011;3:3279–330. doi:10.3390/cancers3033279.

Berhoune M, Banu E, Scotte F, Prognon P, Oudard S, Bonan B. Therapeutic strategy for treatment of metastatic non-small cell lung cancer. *Ann Pharmacother* 2008;42:1640–52. doi:10.1345/aph.1L200.

Bhatt R, Vries P De, Tulinsky J, Bellamy G, Baker B, Singer JW, et al. *Brief Articles* 2003;20:190–3.

Blencowe CA, Russell AT, Greco F, Hayes W, Thornthwaite DW. Self-immolative linkers in polymeric delivery systems. *Polym Chem* 2011;2:773–90. doi:10.1039/c0py00324g.

Botrel TEA, Clark LG de O, Paladini L, Clark OAC. Efficacy and safety of bevacizumab plus chemotherapy compared to chemotherapy alone in previously untreated advanced or metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* 2016;16:1–19. doi:10.1186/s12885-016-2734-y.

Broxterman HJ, Georgopapadakou NH. Anticancer therapeutics: “Addictive” targets, multi-targeted drugs, new drug combinations. *Drug Resist Updat* 2005;8:183–97. doi:10.1016/j.drug.2005.07.002.

Burgos-Panadero R, Lucantoni F, Gamero-Sandemetrio E, Cruz-Merino L de la, Álvaro T, Noguera R. The tumour microenvironment as an integrated framework to understand cancer biology. *Cancer Lett* 2019;461:112–22. doi:10.1016/j.canlet.2019.07.010.

Chen H, Zhao L, Fu K, Lin Qiuming, Wen X, Jacobson O, et al. Integrin $\alpha\beta 3$ -targeted radionuclide therapy combined with immune checkpoint blockade immunotherapy synergistically enhances anti-tumor efficacy. *Theranostics* 2019;9:7948–60. doi:10.7150/thno.39203.

Cirstoiu-Hapca A, Buchegger F, Lange N, Bossy L, Gurny R, Delie F. Benefit of anti-HER2-coated paclitaxel-loaded immuno-nanoparticles in the treatment of disseminated ovarian cancer: Therapeutic efficacy and biodistribution in mice. *J Control Release* 2010;144:324–31. doi:10.1016/j.jconrel.2010.02.026.

Duncan R. Polymer therapeutics at a crossroads? Finding the path for improved translation in the twenty-first century. *J Drug Target* 2017;25:759–80. doi:10.1080/1061186X.2017.1358729.

Duncan R. Polymer therapeutics as nanomedicines: New perspectives. *Curr Opin Biotechnol* 2011;22:492–501. doi:10.1016/j.copbio.2011.05.507.

Duncan R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines. *Nat Rev Cancer* 2006;6:688–701. doi:10.1038/nrc1958.

Duncan R, Richardson SCW. Endocytosis and intracellular trafficking as gateways for nanomedicine delivery: Opportunities and challenges. *Mol Pharm* 2012;9:2380–402. doi:10.1021/mp300293n.

Duncan R, Vicent MJ. Polymer therapeutics-prospects for 21st century: The end of the beginning. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65:60–70. doi:10.1016/j.addr.2012.08.012.

Duncan R, Vicent MJ, Greco F, Nicholson RI. Polymer-drug conjugates: Towards a novel approach for the treatment of endocrine-related cancer. *Endocr Relat Cancer* 2005;12:189–200. doi:10.1677/erc.1.01045.

Food and Drug Administration. Guidance for industry on drug products, including biological products, that contain nanomaterials. Draft 2017. doi:10.1002/jgm.

Gill MR, Falzone N, Du Y, Vallis KA. Targeted radionuclide therapy in combined-modality regimens. *Lancet Oncol* 2017;18:e414–23. doi:10.1016/S1470-2045(17)30379-0.

Greco F, Vicent MJ. Combination therapy: Opportunities and challenges for polymer-drug conjugates as anticancer nanomedicines. *Adv Drug Deliv Rev* 2009;61:1203–13. doi:10.1016/j.addr.2009.05.006.

Greco F, Vicent MJ, Gee S, Jones AT, Gee J, Nicholson RI, et al. Investigating the mechanism of enhanced cytotoxicity of HPMA copolymer-Dox-AGM in breast cancer cells. *J Control Release* 2007;117:28–39. doi:10.1016/j.jconrel.2006.10.012.

Groves MD, Forman AD, Levin VA. Intraventricular and Intrathecal Therapy 2019:80–90.

Gschwantler-Kaulich D, Weingartshofer S, Grunt TW, Mairhofer M, Tan Y, Gamper J, et al.

Estradiol impairs the antiproliferative and proapoptotic effect of Zoledronic acid in hormone sensitive breast cancer cells in vitro. *PLoS One* 2017;12:1–13.

doi:10.1371/journal.pone.0185566.

Honecker F, Kollmannsberger C, Quietzsch D, Haag C, Schroeder M, Spott C, et al. Phase II study of weekly paclitaxel plus 24-h continuous infusion 5-fluorouracil, folinic acid and 3-weekly cisplatin for the treatment of patients with advanced gastric cancer. *Anticancer Drugs* 2002;13:497–503. doi:10.1097/00001813-200206000-00008.

Jain NK, Asthana A. Dendritic systems in drug delivery applications. *Expert Opin Drug Deliv* 2007;4:495–512. doi:10.1517/17425247.4.5.495.

Jones D. Avastin-Tarceva combination fails in lung cancer. *Nat Biotechnol* 2009;27:108–9. doi:10.1038/nbt0209-108.

Kainthan RK, Brooks DE. In vivo biological evaluation of high molecular weight hyperbranched polyglycerols. *Biomaterials* 2007;28:4779–87. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.07.046.

Kawasaki ES, Player A. Nanotechnology, nanomedicine, and the development of new, effective therapies for cancer. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med* 2005;1:101–9.

doi:10.1016/j.nano.2005.03.002.

Ke S, Milas L, Charnsangavej C, Wallace S, Li C. Potentiation of radioresponse by polymer-drug conjugates. *J Control Release* 2001;74:237–42. doi:10.1016/S0168-3659(01)00322-4.

Khandare J, Minko T. Polymer-drug conjugates: Progress in polymeric prodrugs. *Prog Polym Sci* 2006;31:359–97. doi:10.1016/j.progpolymsci.2005.09.004.

Khandare JJ, Chandna P, Wang Y, Pozharov VP, Minko T. Novel polymeric prodrug with multivalent components for cancer therapy. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;317:929–37.

doi:10.1124/jpet.105.098855.

Lammers T, Peschke P, Kühnlein R, Subr V, Ulbrich K, Debus J, et al. Effect of radiotherapy and hyperthermia on the tumor accumulation of HPMA copolymer-based drug delivery systems. *J Control Release* 2007;117:333–41. doi:10.1016/j.jconrel.2006.10.032.

Lammers T, Subr V, Peschke P, Kühnlein R, Hennink WE, Ulbrich K, et al. Image-guided and passively tumour-targeted polymeric nanomedicines for radiochemotherapy. *Br J Cancer* 2008;99:900–10. doi:10.1038/sj.bjc.6604561.

Lane D. Designer combination therapy. *Nat Biotechnol* 2006;24:163–4.

Logman JFS, Heeg BMS, Botteman MF, Kaura S, van Hout BA. Economic evaluation of zoledronic acid for the prevention of osteoporotic fractures in postmenopausal women with early-stage breast cancer receiving aromatase inhibitors in the UK. *Ann Oncol* 2009;21:1529–36.

doi:10.1093/annonc/mdp560.

Médica S española de oncología. Las Cifras del Cáncer en. *Redecan, Glob Cancer Obs* 2019;19:1-13.

Meerum Terwogt JM, Ten Bokkel Huinink WW, Schellens JHM, Schot M, Mandjes IAM, Zurlo MG, et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of PNU166945, a novel water-soluble polymer-conjugated prodrug of paclitaxel. *Anticancer Drugs* 2001;12:315–23.

doi:10.1097/00001813-200104000-00003.

Miller K, Wang M, Gralow J, Dickler M, Cobleigh M, Perez EA, et al. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2007;357:2666–76.

doi:10.1056/NEJMoa072113.

Muggia F. Platinum compounds 30 years after the introduction of cisplatin: Implications for the treatment of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2009;112:275–81.

doi:10.1016/j.ygyno.2008.09.034.

Mura S, Nicolas J, Couvreur P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nat Mater* 2013;12:991–1003. doi:10.1038/nmat3776.

Narvekar M, Xue HY, Eoh JY, Wong HL. Nanocarrier for poorly water-soluble anticancer drugs - Barriers of translation and solutions. *AAPS PharmSciTech* 2014;15:822–33. doi:10.1208/s12249-014-0107-x.

Organización mundial de la salud (en línea). Consultada en noviembre de 2019. Disponible en: www.who.int/cancer/about/fact/es

Polimers Therapeutics Laboratory. Laboratorio Príncipe Felipe (en línea). Consultado en Noviembre de 2019. Disponible en: www.vicentresearchlab.com

Remesh A. Toxicities of anticancer drugs and its management. *Int J Basic Clin Pharmacol* 2012;1:2. doi:10.5455/2319-2003.ijbcp000812.

Rojas-Aguirre Y, Aguado-Castrejón K, González-Méndez I. La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer? *Educ Quim* 2016;27:286–91. doi:10.1016/j.eq.2016.07.002.

Rugo HS. Bevacizumab in the Treatment of Breast Cancer: Rationale and Current Data. *Oncologist* 2004;9:43–9. doi:10.1634/theoncologist.9-suppl_1-43.

Santucci L, Mencarelli A, Renga B, Pasut G, Veronese F, Zacheo A, et al. Nitric oxide modulates proapoptotic and antiapoptotic properties of chemotherapy agents: The case of NO-pegylated epirubicin. *FASEB J* 2006;20:765–7. doi:10.1096/fj.05-4452fje.

Satchi-Fainaro R, Hailu H, Davies JW, Summerford C, Duncan R. PDEPT: Polymer-directed enzyme prodrug therapy. 2. HEMA copolymer- β -lactamase and HEMA copolymer-C-Dox as a model combination. *Bioconjug Chem* 2003;14:797–804. doi:10.1021/bc020091k.

Scomparin A, Florindo HF, Tiram G, Ferguson EL, Satchi-Fainaro R. Two-step polymer- and liposome-enzyme prodrug therapies for cancer: PDEPT and PELT concepts and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev* 2017;118:52–64. doi:10.1016/j.addr.2017.09.011.

Shapiro CL, Halabi S, Hars V, Archer L, Weckstein D, Kirshner J, et al. Zoledronic acid preserves bone mineral density in premenopausal women who develop ovarian failure due to adjuvant chemotherapy: Final results from CALGB trial 79809. *Eur J Cancer* 2011;47:683–9. doi:10.1016/j.ejca.2010.11.024.

Shiah JG, Sun Y, Kopečková P, Peterson CM, Straight RC, Kopeček J. Combination chemotherapy and photodynamic therapy of targetable N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymer-doxorubicin/mesochlorin e 6 -OV-TL 16 antibody immunoconjugates. *J Control Release* 2001;74:249–53. doi:10.1016/S0168-3659(01)00325-X.

Singer JW. Paclitaxel poliglumex (XYOTAX™, CT-2103): A macromolecular taxane. *J Control Release* 2005;109:120–6. doi:10.1016/j.jconrel.2005.09.033.

Tanabe M, Ito Y, Tokudome N, Sugihara T, Miura H, Takahashi S, et al. Possible use of combination chemotherapy with mitomycin C and methotrexate for metastatic breast cancer pretreated with anthracycline and taxanes. *Breast Cancer* 2009;16:301–6. doi:10.1007/s12282-009-0093-0.

Vasey PA, Kaye SB, Morrison R, Twelves C, Wilson P, Duncan R, et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of PK1 [N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymer doxorubicin]: First member of a new class of chemotherapeutic agents - Drug-polymer conjugates. *Clin Cancer Res* 1999;5:83–94.

Vicent MJ, Greco F, Nicholson RI, Paul A, Griffiths PC, Duncan R. Polymer therapeutics designed for a combination therapy of hormone-dependent cancer. *Angew Chemie - Int Ed*

2005;44:4061–6. doi:10.1002/anie.200462960.

Waddell T, Kotsori A, Constantinidou A, Yousaf N, Ashley S, Parton M, et al. Trastuzumab beyond progression in HER2-positive advanced breast cancer: The Royal Marsden experience. *Br J Cancer* 2011;104:1675–9. doi:10.1038/bjc.2011.138.

Wadhawan A, Chatterjee M, Singh G. Present Scenario of Bioconjugates in Cancer Therapy: A Review. *Int J Mol Sci* 2019;20:1–23.

Wendel HG, De Stanchina E, Fridman JS, Malina A, Ray S, Kogan S, et al. Survival signalling by Akt and eIF4E in oncogenesis and cancer therapy. *Nature* 2004;428:332–7. doi:10.1038/nature02369.

Xue H, Guo P, Wen W-C, Wong H. Lipid-Based Nanocarriers for RNA Delivery. *Curr Pharm Des* 2015;21:3140–7. doi:10.2174/1381612821666150531164540.

Zhang RX, Wong HL, Xue HY, Eoh JY, Wu XY. Nanomedicine of synergistic drug combinations for cancer therapy – Strategies and perspectives. *J Control Release* 2016;240:489–503. doi:10.1016/j.jconrel.2016.06.012.

Zhang S. *for Cancer Treatment* 2007.