



Nanopartículas sensibles a estímulos exógenos. Aplicaciones en el tratamiento del cáncer.

Universidad de Sevilla
Facultad de Farmacia
Alejandro Márquez Torres



Facultad de Farmacia

Grado en Farmacia

Departamento Química Orgánica y Farmacéutica

Trabajo Fin de Grado

**Título: Nanopartículas sensibles a estímulos
exógenos. Aplicaciones en el tratamiento del
cáncer.**

Trabajo de carácter bibliográfico

Autor: Alejandro Márquez Torres

Tutora: Dra. M^a de Gracia García Martín

Lugar y fecha de presentación: Sevilla, junio 2021

Resumen

El cáncer es una de las enfermedades con mayor prevalencia y mortalidad a nivel global, por tanto, la búsqueda de un tratamiento farmacológico efectivo es primordial. Sin embargo, las terapias convencionales presentan un margen beneficio/riesgo estrecho debido a la escasa especificidad de los fármacos antineoplásicos, lo que conduce a una gran diversidad de efectos no deseados que pueden comprometer la salud del paciente.

Este hecho, en los últimos años, ha desembocado en la continua investigación de nuevos medicamentos que posean mejores perfiles de especificidad en comparación a los ya existentes. La nanotecnología adquiere gran relevancia en este punto, mediante el estudio de nanotransportadores liberadores de fármacos sensibles a estímulos externos como la luz mediante la utilización del espectro visible, ultravioleta e infrarrojo cercano que originan cambios estructurales en la molécula terapéutica; ultrasonidos que gracias al fenómeno de sonoporación permiten la correcta inclusión del fármaco en las células; variaciones de temperatura que influyen en el comportamiento y propiedades de los nanosistemas; efecto de campos magnéticos que alteran el movimiento de las nanopartículas generando energía en forma de calor que permite la liberación de la carga terapéutica.

Las principales características de estas nanopartículas, que les confieren una alta idoneidad para tratar diferentes tipos de cáncer, son su reducido tamaño y su versatilidad tanto física como química. Esto les facilitan alcanzar, de manera selectiva, tejidos tumorales y la posibilidad de constituir sistemas “on/off”, programados para liberar su contenido terapéutico en presencia de un estímulo exógeno y bloquear su expulsión en ausencia del mismo, reduciendo así de manera significativa los efectos secundarios asociados al tratamiento.

Se debe destacar que las nanopartículas sensibles a estímulos exógenos constituyen un tema muy actual, por consiguiente, su predominancia en el mercado todavía es realmente baja, siendo en su totalidad medicamentos sometidos a estudios clínicos.

Palabras claves: “nanoparticles”, “drug delivery”, “stimuli-responsive”, “smart delivery”, “cancer therapy”.

ÍNDICE

1.Introducción.....	- 5 -
1.1Cáncer	- 5 -
1.2Nanotecnología.....	- 6 -
2.Objetivos	- 8 -
3.Metodología.....	- 8 -
4.Resultados y discusión	- 9 -
4.1.Nanopartículas.....	- 9 -
4.1.1Vehiculización hacia tejidos tumorales	- 11 -
4.1.1.1Efecto de retención y de permeabilidad mejorada.....	- 11 -
4.1.1.2Vectorización.....	-12 -
4.1.2.Clasificación de Nanopartículas.....	- 13 -
4.1.2.1Nanopartículas lipídicas.....	- 13 -
4.1.2.2Nanopartículas poliméricas.....	- 14 -
4.1.2.3Nanopartículas inorgánicas.....	- 17 -
4.2.Sistemas de liberación de fármacos mediados por estímulos externos	- 20 -
4.2.1.Luz.....	- 20 -
4.2.1.1Terapias convencionales: Luz visible y Ultravioleta.....	- 21 -
4.2.1.2Limitaciones de los mecanismos tradicionales. Infrarrojo cercano.....	- 23 -
4.2.2.Ultrasonidos	- 24 -
4.2.2.1Ultrasonidos de alta intensidad focalizada.....	- 24 -
4.2.2.2Ultrasonidos de baja intensidad.....	- 26 -
4.2.3Temperatura	- 27 -
4.2.3.1Polímeros LCST.....	-28 -
4.2.3.2Polímeros UCST.....	- 29 -
4.2.4Campos magnéticos.....	- 29 -
5.3Aplicaciones actuales de nanopartículas en la terapia contra el cáncer.....	- 32 -
5.3.1.ThermoDox [®]	- 32 -
5.3.2.NanoTherm [®]	- 33 -
6.Conclusiones.....	- 34 -
7.Bibliografía.....	-35 -

1. Introducción

1.1 Cáncer

Según la Organización Mundial de la Salud, el cáncer es una de las causas principales de muerte en todo el mundo, con casi 10 millones de fallecimientos en 2020. A nivel nacional, estos datos están lejos de ser alentadores, con aproximadamente 663.200 personas afectadas según los datos recogidos por el Instituto Nacional de Estadística. Entre los diferentes tipos de cáncer, aquellos de mayor incidencia a nivel mundial son el cáncer de mama, el cáncer de pulmón y el cáncer colorrectal, como refleja el Gráfico 1.

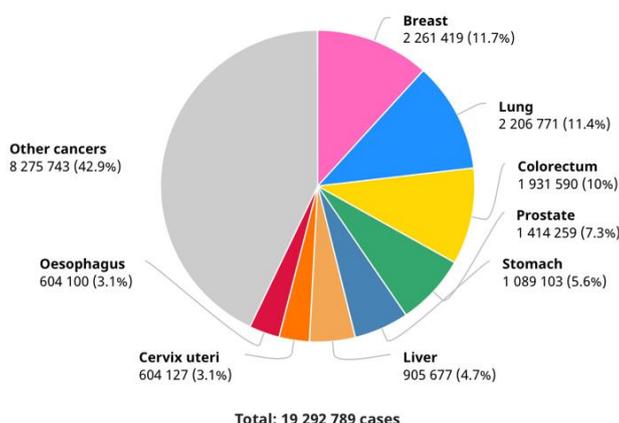


Gráfico 1. Representación de los tipos de cáncer con mayor incidencia a nivel mundial
(<https://geo.iarc.fr/today/home>).

En la fisiopatología tumoral, se produce la activación de protooncogenes, que regulan el ciclo celular, a oncogenes, responsables de la transformación maligna celular. Asimismo, tiene lugar la inactivación de genes supresores de tumores. Por tanto, estos acontecimientos desembocarán en una proliferación y desdiferenciación celular que pueden originar la muerte del individuo.

Ante esta situación la OMS ha desarrollado un conjunto de 12 pautas para concienciar a la población de los factores de riesgo a evitar: consumo de alcohol, tabaco, dieta poco balanceada, sedentarismo y prevención de agentes infecciosos (Papilomavirus, virus de la Hepatitis B y C).

Las aproximaciones terapéuticas para tratar esta patología son la cirugía, radioterapia, quimioterapia citotóxica y terapia dirigida. Se debe destacar que en el presente Trabajo de Fin de Grado se hará referencia principalmente a aquellas terapias que involucren fármacos.

Los fármacos quimioterapéuticos son compuestos tóxicos que inhiben la rápida proliferación de células cancerosas, pero, desafortunadamente, también inhiben el ciclo celular necesario para el mantenimiento de folículos pilosos, médula ósea y células del tracto gastrointestinal que originan los efectos indeseados observados en el tratamiento del cáncer (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015) que ejemplifican la necesidad de nuevos fármacos antineoplásicos.

1.2 Nanotecnología

La nanociencia y la nanotecnología han experimentado un exponencial crecimiento en los últimos años que se reflejan, a nivel global, en el aumento de artículos científicos y de patentes (Zingg y Fischer, 2019) relacionadas con esta rama científica y, a nivel nacional, con la inclusión de dos carreras universitarias en Asturias y Cataluña.

La nanociencia estudia estructuras y moléculas de escala nanométrica, es decir, un tamaño inferior al de bacterias y glóbulos rojos (como se ilustra en la Figura 1), mientras que la nanotecnología emplea los conocimientos teóricos nanocientíficos en aplicaciones prácticas, como la creación de nanopartículas. A esta escala, es posible modificar el comportamiento de algunas sustancias. En este sentido, el interés por la nanotecnología en el ámbito de la quimioterapia oncológica tiene como objetivo reducir los efectos secundarios de los tratamientos actuales.

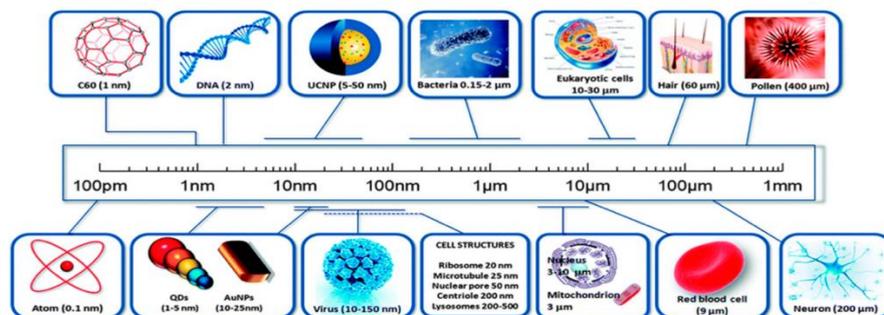


Figura 1. Relación de tamaños de nanopartículas con otras estructuras (Bayda et al., 2019).

Desde una perspectiva histórica, Richard Feynman introdujo la idea de nanotecnología en 1959 con su conferencia titulada “Hay mucho espacio ahí abajo” (“There’s a plenty of room at the bottom”). Sin embargo, no fue hasta 1974 cuando Norio Tamiguchi definió el término de nanotecnología en base a la hipótesis de Feynman (Bayda et al., 2019). Este concepto ha sido modificado continuamente hasta nuestros días debido al avance que esta área de la ciencia ha experimentado. Es de destacar el progreso que se adquirió en el campo de la nanotecnología con el desarrollo del microscopio de efecto túnel (*Scanning Tunneling Microscope*, STM) que permitió no sólo visualizar sistemas del orden de nanómetros sino poder manipularlos. Es tal el impacto del STM en la nanotecnología que sus descubridores, Gerd Binnig y Heinrich Rohrer, fueron galardonados con el Premio Nobel de Física en 1984.

A pesar del carácter emergente de la nanotecnología y de su total actualidad, estudios recientes de la copa de Licurgo han demostrado la presencia de nanopartículas (véase Figura 2). Esta copa data del siglo IV d.C, en pleno auge de la industria del vidrio del Imperio Romano, está fabricada de un vidrio dicróico, es decir, su color es percibido de manera diferente en función de la luz que recibe. Al analizar esta copa con el microscopio de transmisión de electrones, se esclareció que este comportamiento se debía a la existencia de nanopartículas de oro y nanopartículas de plata que le otorgaban un color rojo y verde respectivamente (Bayda et al., 2019). Este descubrimiento nos demuestra que el desarrollo de la nanotecnología es realmente actual pero su existencia data de tiempos inmemoriales.



Figura 2. Representación del carácter dicróico de la copa de Licurgo (Bayda et al., 2019).

2. Objetivos

El presente Trabajo de Fin de Grado de carácter bibliográfico focaliza toda la información recopilada en desarrollar tres aspectos concretos:

- Caracterización de diversas nanopartículas relevantes en el campo de la oncología, así como sus síntesis, limitaciones y ventajas.
- Fundamentos de la liberación de fármacos transportados por nanopartículas, mediada por estímulos externos (temperatura, ultrasonidos, luz y campos magnéticos).
- Aplicaciones concretas y actuales de nanotransportadores sensibles a estímulos exógenos en ensayos clínicos.

3. Metodología

Para la elaboración del Trabajo de Fin de Grado se ha llevado a cabo una recopilación de información veraz y contrastada de diferentes artículos científicos en inglés y español disponibles en diversas bases de datos como Pubmed, ScienceDirect y Google Académico (citadas en orden decreciente de empleo). Asimismo, para repasar y seleccionar datos relacionados con el tema de este Trabajo de Fin de Grado se ha utilizado el libro titulado “Tratado de Tecnología Farmacéutica. Volumen I: Sistemas Farmacéuticos” de la editorial Síntesis (2016), publicado por varios investigadores profesionales, entre los que se encuentran docentes de la Universidad de Sevilla. Por último, para entender y exponer los ejemplos específicos de nanopartículas sensibles a estímulos exógenos, se ha recurrido a las páginas oficiales de las empresas que disponen de las respectivas patentes, tales como: Magforce.com y Celsion.com.

Al tratarse de un tema realmente emergente y de gran actualidad, la búsqueda en las bases de datos se ha acotado al rango de los últimos 10 años, exceptuando aquellos artículos que se han considerado de información relevante sobre el tema. Por otro lado, las palabras clave han sido términos en inglés para intentar abarcar una mayor cobertura de información, como por ejemplo: “*nanoparticles*”, “*drug delivery*”, “*stimuli-responsive*”, “*smart delivery*”, “*cancer therapy*”.

4. Resultados y discusión

4.1 Nanopartículas

El presente Trabajo de Fin de Grado documenta aplicaciones de nanopartículas sensibles a estímulos externos y, por ende, debemos partir desde una definición válida y actual de las mismas: las nanopartículas son partículas sólidas de naturaleza generalmente polimérica y de tamaño inferior a 1 micrómetro, en las que el fármaco se encuentra disuelto, atrapado y/o adsorbido (Álvarez y Concheiro, 2016).

Los nanotransportadores tienen una notoria importancia clínica y, por consiguiente, deben reunir una serie de características que le otorguen una seguridad de implementación en el paciente:

- Deben ser atóxicos y no deben originar respuesta inmune.
- Deben ser biocompatibles y biodegradables.
- Deben permitir una elevada carga de agentes activos.
- Deben presentar un mecanismo de liberación de la carga específico en el lugar adecuado.
- No deben liberar el fármaco de forma prematura.
- Deben presentar un mecanismo de liberación controlado para proporcionar una dosis eficaz (Llinás y Sánchez-García, 2014).

Estos nanosistemas tienen como objetivo mejorar la estabilidad y solubilidad de los fármacos encapsulados, su transporte a través de las membranas celulares, prolongar su tiempo de circulación sistémica (Mitchell et al., 2020), aumentando su semivida y reducir su toxicidad relacionada con efectos “off target” (“fuera de rango”) (López-Dávila et al., 2012), debido a que limitan las interacciones entre el principio activo encapsulado y los tejidos sanos.

La síntesis de nanopartículas se realiza a través de dos perspectivas:

- “Top-down”: se fundamenta en el procesamiento de un material inicial hasta obtener partículas de tamaño nano. Las técnicas usualmente empleadas son la litografía óptica y la litografía e-beam, las cuales se basan en la formación de una superficie con un patrón determinado y posterior interacción de esta con una base

que presenta un material orgánico sensible a la luz o a un haz de electrones que permitirá la transferencia del patrón (Biswas et al., 2011). Un proceso “Top-down” más avanzado es la litografía de nano-impresión que permite la creación de nanopartículas con mayor resolución (Biswas et al.,2011). Con esta finalidad, se utiliza un molde que deforma el material presente en la base, mediante la fijación de ambos tras una exposición a luz UV y posterior eliminación del molde, como ilustra la Figura 3. Por último, el resultado obtenido se somete a un proceso de grabado o deposición de metales para crear nanopartículas (Barcelo y Li, 2016).

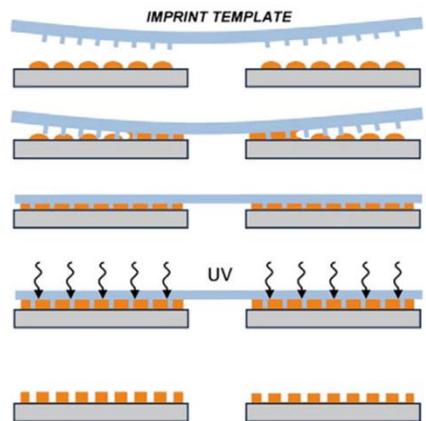


Figura 3. Esquema del proceso de litografía por nano-impresión (Biswas et al., 2011).

- “Bottom up”: consiste en la formación de nanopartículas a partir de reacciones químicas y físicas átomo-átomo o molécula-molécula (Bayda et al., 2019), es decir, al contrario que en el método “Top-down”, se parte de partículas de escala atómica hasta alcanzar partículas de mayor tamaño (escala nano). Una de las técnicas “Bottom up” más relevante es la denominada como autoensamblaje molecular, en la cual las moléculas se auto-ensamblan sin la presencia de interacciones externas. Este proceso ocurre espontáneamente en la naturaleza, como es el caso de la bicapa lipídica, por consiguiente, se debe imitar este mecanismo. El mecanismo del autoensamblaje molecular se basa en la existencia de interacciones entre nanopartículas mediante fuerzas de hidratación, fuerzas de Van der Waals y fuerzas electrostáticas (Huie, 2003).

4.1.1 Vehiculización hacia tejidos tumorales

Para el tratamiento de muchas enfermedades, es necesario que el fármaco viaje a través del torrente sanguíneo, hasta llegar a su sitio de acción. Primero se debe evitar la agregación o adhesión de los nanotransportadores a las paredes de los vasos, situaciones que desembocan en la formación de trombos o embolias (Santa y López, 2013). Durante su circulación, factores como la excreción, flujo circulatorio o interacción con células fagocíticas pueden alterar la estabilidad y liberación del medicamento (Mitchell et al., 2020). Una vez haya alcanzado su zona terapéutica, la extravasación es fundamental para que la nanopartícula llegue al tejido deseado (Mitchell et al., 2020). Posteriormente, el nanosistema debe penetrar las células cancerosas mediante mecanismos de endocitosis, cuyo éxito dependerá del tamaño, forma, superficie (Tang et al, 2012) y robustez (Zhang et al., 2015) de las mismas, que liberarán su contenido en un orgánulo concreto o en el citosol (Tang et al., 2012).

Este proceso es altamente complejo y requiere el estudio y empleo de dos procesos para alcanzar el óptimo resultado terapéutico, como son el efecto de retención y de permeabilidad mejorada y la vectorización.

4.1.1.1 Efecto de retención y de permeabilidad mejorada

Existe una gran diferencia entre el sistema vascular de un tejido sano y el tejido tumoral. Este último se caracteriza por la presencia de un endotelio discontinuo con grandes fenestraciones que permite la entrada de moléculas de 500 nm al espacio intersticial (Bozzuto y Molinari, 2015), mientras que los vasos no dañados presentan un menor calibre y, por tanto, estas moléculas no penetran (véase Figura 4), lo que refleja una permeabilidad aumentada en el tejido tumoral. Además, el ambiente tumoral posee un sistema linfático pobre que impide el drenaje de los componentes intratumorales, favoreciendo su acumulación en el tejido dañado (Kalyane et al., 2019), es decir, existe una retención mejorada.

Incluso en este efecto de permeabilidad y retención mejorada existen dificultades en la liberación uniforme de nanopartículas en toda la región tumoral. La distribución homogénea viene impedida por una elevada presión intratumoral del fluido intersticial,

matriz extracelular densa y presencia de regiones hipóxicas con una pobre perfusión (Tanq et al., 2012). Estas limitaciones condujeron al desarrollo de un método de especificidad activa, la vectorización.

4.1.1.2 Vectorización

El principal inconveniente de las nanopartículas es la antigenicidad inducida por su tamaño (nanotransportador + fármaco) que desemboca en un mayor aclaramiento por parte del sistema retículoendotelial. Sin embargo, la funcionalización con determinadas moléculas juega un papel crucial. Por ejemplo, se ha demostrado que la incorporación de polietilenglicol en la superficie de nanopartículas, mediante el proceso conocido como efecto “máscara” (Santa y López, 2013), impide su unión a una clase de proteínas denominadas opsoninas que intervienen en el proceso de reconocimiento de partículas por macrófagos (Jokerst et al., 2011) y, por consiguiente, su tiempo de circulación se ve aumentado, así como su probabilidad de alcanzar el tejido tumoral.

Asimismo, para aumentar la especificidad de acción y reducir los graves efectos “off target” (“fuera de rango”) de los medicamentos anticancerígenos convencionales, las nanopartículas se conjugan con anticuerpos, péptidos, ligandos, aptómeros y oligonucleótidos que pueden unirse selectivamente con receptores sobre-expresados de ciertas células cancerosas (Tang et al., 2012), constituyendo el proceso conocido como vectorización activa representado en la Figura 4.

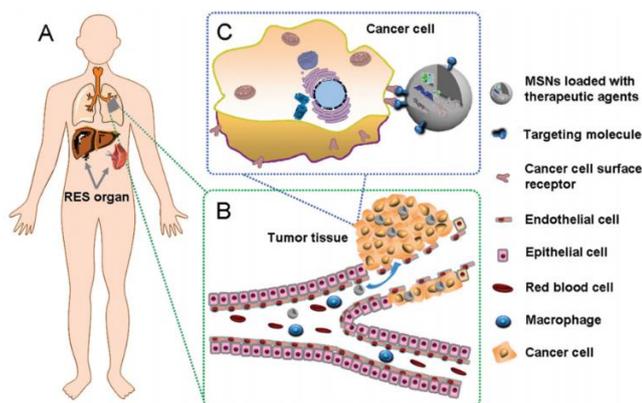


Figura 4. A) Órganos donde ocurre el aclaramiento por el sistema retículo endotelial. B) Esquema del efecto de retención y permeabilidad mejorada. C) Representación de vectorización (Tang et al., 2012).

4.1.2 Clasificación de Nanopartículas

Atendiendo a su naturaleza, las nanopartículas se pueden dividir en tres grandes grupos: lipídicas (liposomas), inorgánicas (nanopartículas de oro, sílice, hierro) y poliméricas (micelas, polimersomas, dedrimeros). A continuación, se explicarán brevemente las nanopartículas más representativas como se ilustra en la Figura 5.

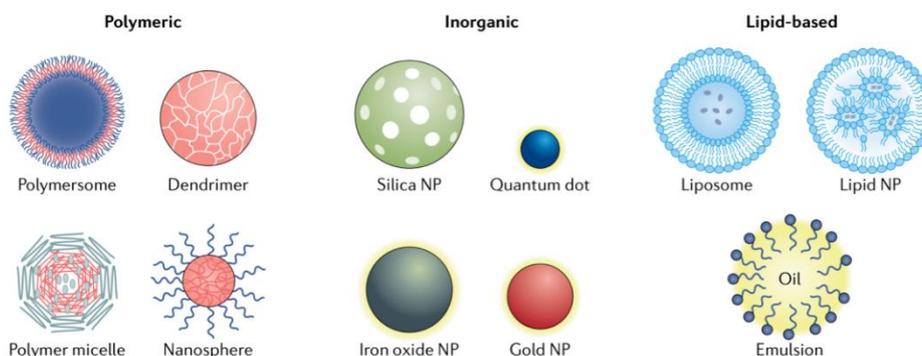


Figura 5. Clasificación de nanopartículas de mayor relevancia (Mitchell et al., 2020).

4.1.2.1 Nanopartículas lipídicas

Los nanotransportadores lipídicos presentan una estructura típicamente esférica con al menos una bicapa constituida por lípidos que limita un compartimento acuoso (Mitchell et al., 2020) y se caracterizan por su gran biocompatibilidad, su capacidad para cargar en su interior fármacos de cualquier naturaleza (Lopez-Dávila et al., 2012), simplicidad de fabricación y posibilidad de modular sus propiedades físico-químicas (Mitchell et al., 2020) en función de las características de cada individuo.

Liposomas

Se pueden definir como vesículas constituidas por una o más bicapas lipídicas que encierran un compartimento acuoso. La función lipídica está formada por fosfolípidos generalmente, tanto naturales como sintéticos, que presentan un carácter anfipático, lo que le otorga la posibilidad de encerrar fármacos según su polaridad. Los principios activos hidrófilos quedan retenidos en el compartimento acuoso, mientras que las moléculas hidrófobas se intercalan entre la bicapa fosfolipídica.

En base a su tamaño y del número de bicapas que los instituyen, los liposomas se clasifican en tres grupos: unilaminares pequeños (20 nm - 80 nm), unilaminares grandes (>80 nm) y multilaminares (>400 nm). Los liposomas con mayor capacidad de incorporación de fármaco son los unilaminares grandes al presentar un compartimento central más voluminoso (Álvarez y Concheiro, 2016).

Una de sus ventajas características es su flexibilidad de fabricación, permitiendo la formación de liposomas de distintos rangos de tamaños, rigidez y funcionalización de su capa superficial (Lamicchane et al., 2018), por tanto, son una de las nanopartículas más utilizadas clínicamente. A pesar de sus numerosas virtudes, los liposomas presentan una limitación notoria al producir una reacción de hipersensibilidad conocida como activación del sistema complemento relacionada con pseudoalergias desencadenadas por el sistema inmune innato (Lamicchane et al., 2018).

Como se ha comentado, los liposomas se emplean en diversos tratamientos y existen numerosos fármacos liposomales en el mercado, como es el caso del Doxil[®] que incorpora doxorubicina y está indicado para el sarcoma de Kaposi y el cáncer de ovario, y de antivíricos liposomales como Influxel[®] y Hepaxel[®] para sintomatologías del virus de la influenza y la hepatitis A, respectivamente (Bozzuto y Molinari, 2015).

4.1.2.2 Nanopartículas poliméricas

El interés hacia las nanopartículas poliméricas ha crecido recientemente debido a sus características como vehículo de fármacos; aumentan su biodisponibilidad, confieren estabilidad y mejoran el perfil fármaco-cinético de principios activos hidrofóbicos.

El término de nanopartícula polimérica engloba tanto nanocápsulas como nanoesferas, que difieren en su morfología, como refleja la Figura 6. Las nanocápsulas están formadas por un núcleo oleoso, donde el fármaco se encuentra disuelto, rodeado por una superficie externa polimérica que controla la liberación del fármaco. Por otro lado, las nanoesferas presentan una red polimérica continua donde el principio activo puede encontrarse retenido en el núcleo o adsorbido en la superficie (Zielinska et al., 2020).

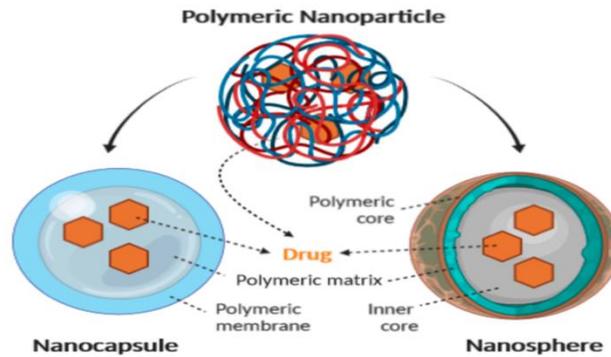


Figura 6. Representación de nanopartículas poliméricas (Zielinska et al., 2020).

Dendrimeros

Los dendrimeros son nanopartículas tridimensionales simétricas altamente ramificadas, robustas y globulares. En la bibliografía se les denomina como “proteínas artificiales” (Pérez-Inestrosa, 2009) por su parecido dimensional y estructural con numerosas proteínas presentes en circulación, inmunoglobulinas y hemoglobinas entre otras.

Estas estructuras presentan tres dominios, claramente diferenciados:

1. Un núcleo: del que surgen el resto de ramificaciones de manera radial, con un patrón preciso y numerosas unidades que darán lugar a nuevas bifurcaciones (Castro et al., 2018), creando múltiples niveles de ramificaciones denominadas como generaciones.
2. Una cavidad interna: constituida por la red polimérica que forman las diversas generaciones.
3. Una superficie: que puede ser funcionalizada mediante grupos terminales funcionales para poder llevar a cabo un encapsulamiento pasivo y liberar su contenido en un compartimento corporal determinado (Li et al., 2017).

Los principios activos insolubles se adicionan en la cavidad interna a través de enlaces no covalentes como uniones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, fuerzas hidrofóbicas y enlaces de hidrógeno. Por otro lado, es posible la interacción covalente del fármaco con los grupos funcionales de la superficie del dendrimer; la energía necesaria para romper esta clase de enlaces es mucho más elevada y se emplean espaciadores sensibles al pH atípico de ciertos tejidos dañados pero estables al pH fisiológico para poder preservar su estabilidad hasta llegar a su sitio de acción (Castro et al., 2018).

Micelas

Las micelas poliméricas son estructuras constituidas por copolímeros anfifílicos de bloque (al menos un bloque de monómeros hidrofílicos y otro bloque de monómeros hidrofóbicos) que se autoensamblan al superar una concentración micelar crítica en medio acuoso.

Las micelas poliméricas poseen una composición típica de este tipo de nanotransportadores; un núcleo formado por el segmento de monómeros hidrofóbicos que actúa como reservorio para solubilizar fármacos insolubles (Cho et al., 2014) y una cubierta externa constituida por el bloque hidrofílico que proporciona una mayor protección al sistema, al reducir tanto su eliminación por el retículoendotelial como el aclaramiento renal (Li et al., 2012).

Como ya se ha comentado, estas nanopartículas están formadas por copolímeros de bloque debido a sus peculiaridades, ya que aquellos basados en polipéptidos (como el PNIPAM-block-poli-(L-histidina)) pueden originar el autoensamblaje a través de estímulos externos como el pH y la temperatura (Li et al., 2017) resultando en una administración menos invasiva.

Sin embargo, una limitación importante en el desarrollo de tratamientos basados en micelas copoliméricas resulta de la escasa eficacia en los procedimientos de formación de micelas disponibles. Por ejemplo, los métodos más comunes implican la utilización de grandes cantidades de disolventes orgánicos que podrían ser tóxicos para el cuerpo humano y el medio ambiente (López et al., 2015).

Polimersomas

Son considerados como análogos poliméricos de los liposomas, pero presentan varias ventajas frente a estos: mayor versatilidad y estabilidad química y una menor concentración crítica de agregación (Messenger et al., 2014).

Al igual que las micelas poliméricas, están formados por copolímeros de bloque y, para evitar el empleo de disolventes orgánicos, potencialmente tóxicos, en los procedimientos

de formación, se recurre a polimersomas sensibles a estímulos que se originan simplemente variando la temperatura o el pH (Qiao et al., 2013).

Un factor importante de estas nanopartículas es el modo de liberación del fármaco que se puede realizar a través de:

- Estímulos químicos o físicos: en los cuales una variación de temperatura, pH o presión mecánica externa produce el desensamblaje total del polimersoma.
- Liberación modificable: que permite la introducción de un tiempo de liberación determinado en los polimersomas. Para ello se recurre al uso de polímeros sensibles con procesos de formación de enlaces cruzados (Messenger et al., 2014) como es el caso del polimersoma basado en el copolímero 2-hidroxi-4-(metacriloiloxi) benzofenona al cual, si se le aplican periodos de irradiación UV, provocan la aparición de enlaces cruzados que impiden el desensamblaje total del nanotransportador. Por tanto, pueden funcionar como sistemas “on/off” dependiendo de la variación del estímulo (Yassin et al., 2012) (véase Figura 7).

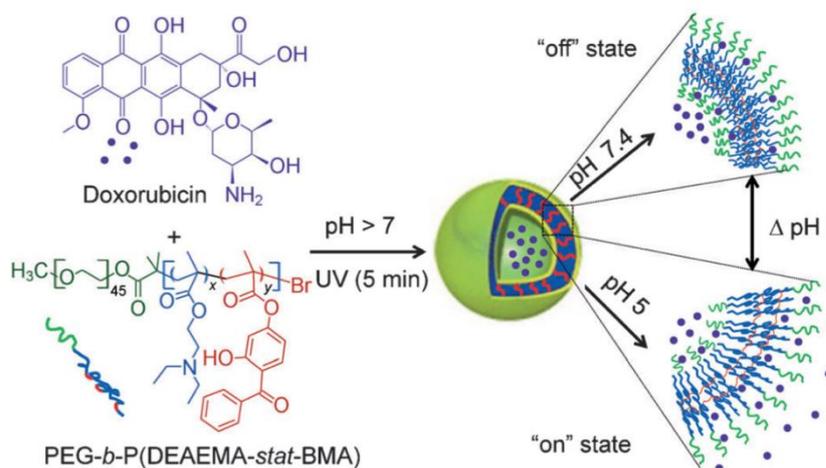


Figura 7. Liberación de doxorubicina encapsulada en polimersomas mediante ruptura de enlaces cruzados a través de variaciones de pH (Yassin et al., 2012).

4.1.2.3 Nanopartículas inorgánicas

Debido a sus propiedades magnéticas, radiactivas o plasmónicas, las nanopartículas inorgánicas están capacitadas para aplicaciones como diagnósticos, imágenes por resonancia y terapias fototérmicas. La mayoría son biocompatibles y estables, y se

emplean en aplicaciones que requieren propiedades no existentes en materiales orgánicos. Sin embargo, su uso está limitado en clínica por su baja solubilidad y toxicidad, especialmente en formulaciones con metales pesados (Mitchell et al., 2020).

Nanopartículas de sílice mesoporosas

Estas nanopartículas están constituidas por una matriz de sílice y presentan poros de un diámetro comprendido entre 2 nm y 50 nm (Llinás y Sánchez-García, 2014). Sus aplicaciones biomédicas son numerosas ya que poseen una gran área superficial, un volumen y diámetro de poro ajustable y la superficie puede ser funcionalizable (Aquib et al., 2019) lo que les confieren el potencial necesario para encapsular o adsorber fármacos en sus poros.

Para su síntesis se utiliza un surfactante catiónico y un precursor de silicatos en medio básico. Primero se añade el surfactante y al superar una concentración micelar crítica tenderá a la formación de micelas (Tang et al., 2012), el surfactante catiónico atraerá las cargas negativas de las especies de sílice, las cuales se concentran alrededor de las micelas formando una estructura de sílice tubular (Llinás y Sánchez-García, 2014).

Para mediar la liberación de fármacos a través de diferentes estímulos, se sitúan “porteros” en la entrada de los poros mediante enlaces covalentes. El fármaco no puede salir del transportador de sílice a menos que se aplique un estímulo externo (Wang et al., 2015) como se ilustra en la Figura 8.

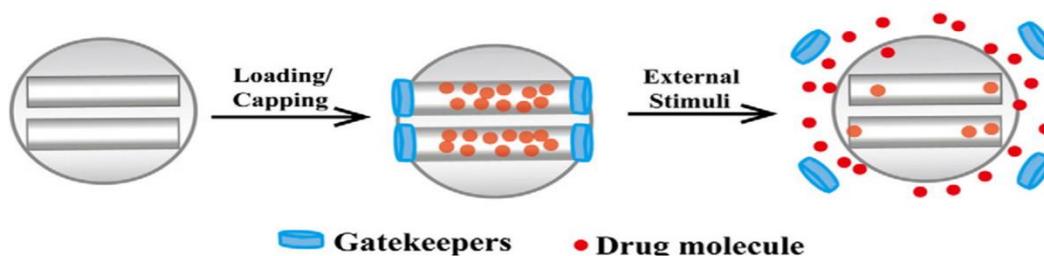


Figura 8. Liberación de fármacos encapsulados en nanopartículas de sílice mediada por estímulos exógenos (Wang et al. 2015).

Nanopartículas de oro

Entre todos los nanotransportadores inorgánicos, las nanopartículas de oro presentan propiedades ópticas y de resonancia plasmónica superficial únicas (Singh et al., 2018).

Además de su empleo como biosensores, en presencia de luz láser, las nanopartículas de oro se activan y desprenden calor, siendo muy útiles en el tratamiento selectivo de células tumorales (Mateo et al., 2013).

Clásicamente, para su síntesis se empleaban disolventes orgánicos que pueden causar problemas ambientales, por ello, en los últimos años ha aumentado la popularidad de la síntesis verde de nanotransportadores de oro mediante:

- Enzimas extracelulares secretadas por el microorganismo *Sporosarcina koreensis* CD4 que permiten las reacciones de reducción (Singh et al., 2016) de las moléculas de oro introducidas en el cultivo bacteriano.
- Incubación del ácido cloroáurico (HAuCl₄) con el extracto acuoso de la hoja de *Euffrassia officinalis*, que posee propiedades anticancerosas (Singh et al., 2017).

Nanopartículas de óxido de hierro

Esta clase de nanotransportadores son de extrema importancia ya que la mayoría de nanopartículas inorgánicas aprobadas por la FDA son de naturaleza férrica (Mitchell et al., 2020), como se refleja en la Tabla 1.

Tabla 1. Ejemplos de nanopartículas aprobadas por la FDA (Mitchell et al., 2020).

Inorganic			
INFeD	Allergan	Iron-deficient anaemia	1992
DexFerrum	American Regent	Iron-deficient anaemia	1996
Ferrlecit	Sanofi	Iron deficiency in chronic kidney disease	1999
Venofer	American Regent	Iron deficiency in chronic kidney disease	2000
Feraheme	AMAG	Iron deficiency in chronic kidney disease	2009
Injectafer	American Regent	Iron-deficient anaemia	2013

Su tropismo intrínseco hacia campos magnéticos le permite una alta especificidad hacia zonas tumorales y su capacidad de generar una hipertermia localizada cuando se aplica un campo magnético alternante, permite la liberación del fármaco y la muerte de células tumorales (Mi, 2020). Estas nanopartículas se conocen generalmente como nanopartículas magnéticas y son una clase de nanotransportadores cuyas estructuras se constituyen por un núcleo magnético encapsulado en un revestimiento orgánico o polimérico que evita la aglomeración. Entre las diferentes clases, la magnetita (Fe₃O₄) y

la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_4$) son los materiales magnéticos más utilizados, pudiendo pasar de una forma a otra mediante oxidación (Estelrich et al., 2015).

Estos nanosistemas no solo destacan por su aplicación terapéutica, sino por su empleo para diagnóstico clínico mediante imagen por resonancia magnética, por tanto, son idóneos para aplicaciones teranósticas (Estelrich et al., 2015).

4.2 Sistemas de liberación de fármacos mediados por estímulos externos

Una de las grandes limitaciones de los quimioterapéuticos es la no especificidad de los tratamientos. La administración intravenosa de fármacos terapéuticos conduce a una distribución sistémica general. La naturaleza inespecífica de esta técnica provoca efectos secundarios, como el ataque del fármaco citotóxico a células sanas (Estelrich et al., 2015). Por tanto, en los últimos años, se han realizado diversos estudios para superar esta carencia de especificidad, mediante el desarrollo de nanotransportadores inteligentes que aumentan significativamente el índice terapéutico de las moléculas integradas gracias a la liberación específica en el tejido diana debido a cambios en sus propiedades en respuesta a estímulos (internos y externos) (Sachi Das et al., 2020). A continuación, se expondrán los fundamentos de la liberación de fármacos mediada por los principales estímulos externos (luz, temperatura, ultrasonidos y campos magnéticos).

4.2.1 Luz

Los sistemas de liberación mediados por la luz ideales presentan un alto control espacio-temporal de la liberación del fármaco, utilizan radiaciones ionizantes, están compuestos por materiales biocompatibles y son fácilmente dirigidos a su aplicación médica deseada (Linsley y Wu, 2017). Asimismo, las nanopartículas fotosensibles poseen la peculiaridad de formar sistemas “on/off” de liberación según los cambios en su estructura desencadenados por la irradiación única o repetida de energía lumínica (Liu et al., 2016). El espectro de luz empleado en esta clase de nanopartículas fotosensibles se centra fundamentalmente en la luz ultravioleta, la luz visible y luz infrarroja.

4.2.1.1 Terapias convencionales: Luz visible y UV

Numerosas estrategias basadas en el empleo de la luz han sido utilizadas para diseñar sistemas de liberación y pueden clasificarse en 4 categorías determinadas:

- Nanopartículas que absorben suficiente luz para romper enlaces covalentes, sufriendo un proceso de fotoescisión.
- Nanotransportadores que al absorber luz desencadenan un mecanismo de fotoisomerización.
- Nanopartículas que disipan la energía fotónica mediante movimiento vibratorio (Linsley y Wu, 2017), produciendo energía en forma de calor.
- Nanopartículas fotosensibilizadoras que, tras la irradiación lumínica, producen especies reactivas de oxígeno a partir del oxígeno endógeno (Chen y Zhao, 2018).

Fotoescisión

Este mecanismo tiene lugar cuando un enlace covalente se rompe tras la exposición a la irradiación lumínica. El fármaco puede unirse directamente a un nanotransportador a través de un enlace fotoescindible y tras la exposición de luz ultravioleta, el enlace se desune y el principio activo se libera. De otro modo, pueden incorporarse grupos fotolábiles a la estructura del nanotransportador y gracias a la acción de la luz ultravioleta los grupos fotolábiles son expulsados, la estructura se desorganiza y permite la liberación del contenido terapéutico (Barhoumi et al., 2015).

Entre los distintos grupos funcionales fotolíticos, los más empleados son los derivados del grupo *o*-nitrobencilo (Chen y Zhao, 2018) que gracias a las reacciones de esterificación y amidación de sus grupos carboxilos pueden formar enlaces amida o éster con grupos amino e hidroxilo de diversos fármacos, biomoléculas y polímeros (Shen et al., 2020). Una estrategia que utiliza condiciones de reacción más suaves consiste en la adición de grupos alquilo a los derivados *o*-nitrobencílicos que experimentarán una cicloadición con los grupos azida de diversas moléculas, a través de reacciones conocidas como “click chemistry” (Shen et al., 2020).

Fotoisomerización

Si una molécula absorbe un fotón, pasa de su estado fundamental a un estado excitado. Al regresar a su estado fundamental de nuevo, puede adquirir la conformación de cualquier isómero de la molécula inicial sin romperse los enlaces covalentes (Barhoumi et al., 2015), como se ilustra en la Figura 9.

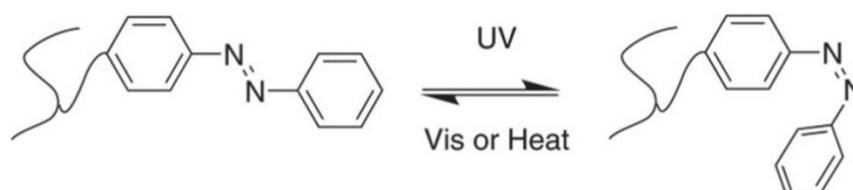


Figura 9. Fotoisomerización del azobenceno (Weis y Wu, 2018).

Uno de los compuestos foto-intercambiables más utilizados es el azobenceno, constituido por dos grupos fenilo unidos por un enlace $N=N$ (Linsley y Wu, 2017) que permite la transición desde un isómero *trans* estable hasta un isómero *cis* metaestable. La isomerización *trans-cis* es inducida por la irradiación ultravioleta, mientras que la isomerización *cis-trans* es provocada por la irradiación de luz visible o por calentamiento (Weis y Wu, 2018). Un ejemplo ilustrativo de este fenómeno sería la incorporación de isómeros *trans* de azobencenos en liposomas que permite que las cadenas de fosfolípidos estén más estrechamente unidas y adopten una conformación más compacta y organizada, evitando la salida de fármaco de interior del liposoma. Sin embargo, el isómero *cis* crea una desorganización que facilita la salida del mismo (Barhoumi et al., 2015).

No obstante, este fenómeno de fotoisomerización no solo desencadena cambios estructurales, sino que puede originar adicionalmente transiciones sólido-líquido (Weis y Wu, 2018) y variaciones en las propiedades de las moléculas, como es el caso de los aductos donadores-aceptores de Stenhouse (*Donor-Acceptor Stenhouse Adducts, DASAs*) que tras la exposición a la luz visible cambian desde un isómero hidrofóbico y con color hasta un isómero hidrofílico y sin color (Rifaie-Graham et al., 2018), como se observa en la Figura 10.

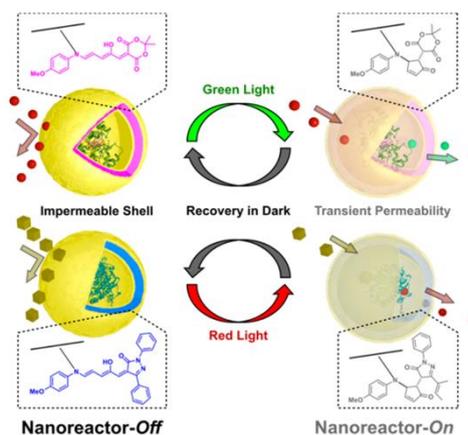


Figura 10. Cambios en la permeabilidad de compuestos DASAs tras la exposición a luz visible (Rifaie-Graham et al., 2018).

4.2.1.2 Limitaciones de los mecanismos tradicionales. Infrarrojo cercano.

Los mecanismos anteriormente mencionados presentan diferentes inconvenientes que limitan su uso. Estas técnicas emplean primordialmente luz correspondiente al espectro visible y ultravioleta que poseen un escaso nivel de penetración tisular y fototoxicidad (Chen y Zhao, 2018). Para resolver los problemas de toxicidad se utilizan azobencenos tetra-*ortho*-sustituidos (Weis y Wu, 2018). Por otro lado, para solucionar los inconvenientes relacionados con la penetración en el organismo, se recurre al empleo de técnicas que utilizan luz infrarroja cercana, entre las que destacan la estrategia fototérmica, en las que compuestos fototérmicos convierten la luz NIR en calor que destruye las células cancerosas (Chen y Zhao, 2018), y la técnica de excitación bifotónica, basada en la fotoescisión del fármaco de su “linker” generalmente cumarínico (Croissant et al., 2014) que permite la absorción simultánea de dos fotones de menor energía para alcanzar el estado excitado (Chen y Zhao, 2018). Esta estrategia proporciona diversas ventajas, como una excitación altamente combinada y un aumento en la resolución 3D (Barhoumi et al., 2015) y depende principalmente de la sección transversal (habilidad intrínseca de la molécula para absorber dos fotones) y de la concentración espacio-temporal de la luz excitadora que permite dirigir dos fotones a una misma molécula (Barhoumi et al., 2018). La importancia de la sección transversal se ve reflejada en la Figura 11.

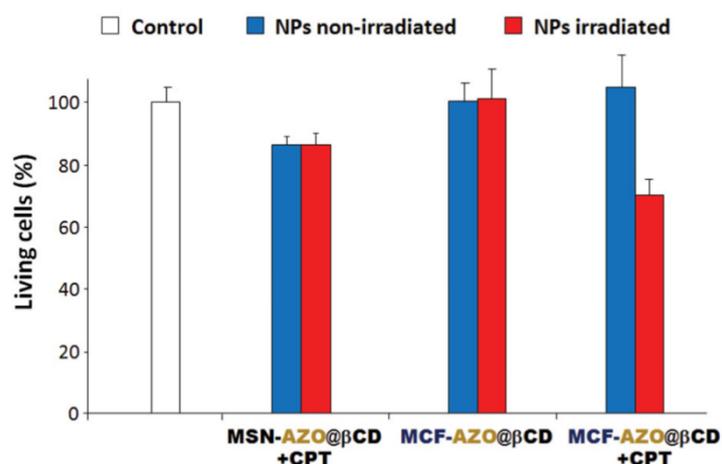


Figura 11. Supervivencia de células cancerosas tras exposición a luz NIR de diversas nanoestructuras: A) Nanopartícula sin fluoróforo capaz de absorber dos fotones simultáneamente. B) Nanopartícula sin fármaco. C) Nanopartícula con una sección transversal alta (Croissant et al., 2014).

4.2.2 Ultrasonidos

Hasta el día de hoy, diversas microburbujas sensibles a diferentes estímulos han sido comercializadas, como Alunex[®], Optison[®], Definity[®], Imagent[®], Levovist[®] y Sonazoid[®]. Sin embargo, el gran tamaño (1-10 μm), pequeño tiempo de semivida y baja estabilidad de las microburbujas limitan su accesibilidad a compartimentos vasculares en tejidos tumorales profundos. Por tanto, se investiga la extrapolación de información y resultados obtenidos a sistemas de escala inferior (nanoburbujas) para su empleo en la toma de imágenes mediante ultrasonidos, liberación de fármacos y teranóstica (Mi, 2020).

4.2.2.1 Ultrasonidos de alta intensidad focalizada

La irradiación con ultrasonidos de alta intensidad focalizada es una técnica no invasiva que emplea intensidades desde 100 hasta 10000 W/cm². Las ondas de ultrasonidos son emitidas por un focal de aproximadamente 1 mm de diámetro, lo que permite una aplicación totalmente localizada en el paciente. Atendiendo a la profundidad que deben alcanzar, las técnicas de ultrasonidos de alta intensidad focalizada se clasifican en extracorpóreas, intracavitarias e intersticiales (Phenix et al., 2014). El empleo de esta clase de ultrasonidos facilita la administración de ciertas formas farmacéuticas al generar mecanismos de sonoporación.

La sonoporación es un método físico que emplea un haz de ultrasonidos de alta intensidad focalizada, de modo no invasivo, permitiendo la liberación del fármaco de su forma farmacéutica (Phenix et al., 2014). Las burbujas son utilizadas con frecuencia en este campo y están formadas por un núcleo gaseoso de perfluorocarbono (Yang et al., 2020) encapsulado, para aumentar su tiempo de semivida (Abou Saleh et al., 2014), por una capa de fosfolípidos a la cual se le puede enlazar diferentes receptores que reconocerán ligandos específicos de cada órgano (Phenix et al., 2014). Una vez inyectadas las burbujas en el paciente, se emplean ultrasonidos de alta frecuencia, generando cambios de presión que desencadenan alteraciones en el tamaño de las burbujas mediante oscilaciones de procesos de ensanchamiento y compresión (Yang et al., 2020; Fan et al., 2014). A bajas presiones sonoras, las burbujas llevan a cabo oscilaciones lineales en un proceso denominado como cavitación estable que genera fenómenos de empuje, creación de cargas electrostáticas (Yang et al., 2020) y microstreaming (Guo et al., 2017) en la membrana de las células reconocidas por los receptores unidos a los nanotransportadores. Por otro lado, la exposición a presiones sonoras altas conduce a oscilaciones asimétricas de estos sistemas en un proceso de cavitación inercial que provoca choques violentos contra las envolturas celulares (Guorevich et al., 2015; Yang et al., 2020).

Todos estos acontecimientos mencionados permiten la formación de poros, que dependen principalmente del diámetro de la burbuja (Leow et al., 2015), de la membrana y del aumento de la permeabilidad celular (Fan et al., 2014), facilitando el paso del fármaco al interior de la célula.

Paralelamente, la sonoporación induce otros fenómenos celulares como la creciente entrada de Ca^{2+} al citoplasma y la salida de K^{+} al exterior (Yang et al., 2020), resultando en la hiperpolarización de la célula, como se ilustra en la Figura 12. Asimismo, el estrés generado en el proceso repercute en el citoesqueleto, los filamentos de actina son degradados hasta sus correspondientes monómeros (Chen et al., 2014) de forma globular, perdiéndose así, gran parte de la rigidez celular.

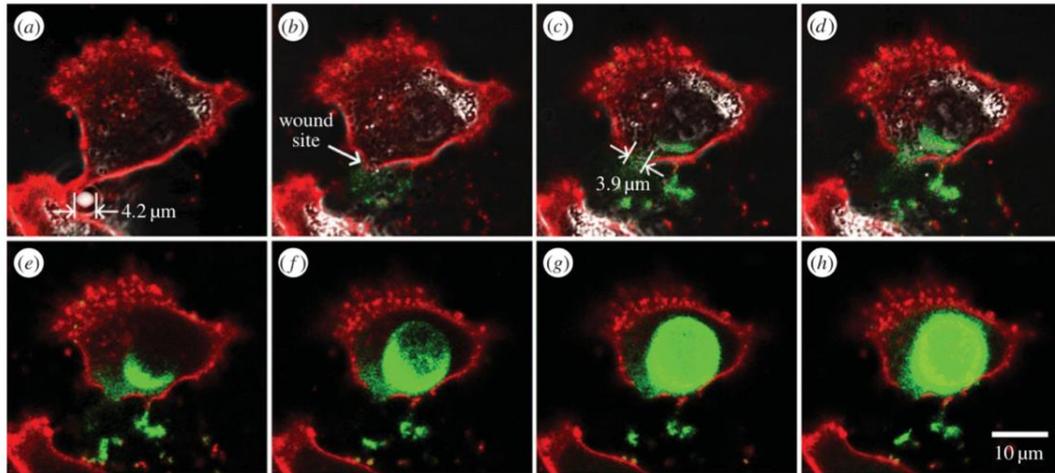


Figura 12. Formación de poros y posterior salida de Ca^{2+} intracelular y entrada de K^{+} extracelular (Leow et al., 2015).

Por tanto, tenemos células con una elevada permeabilidad que facilita el paso de fármacos a su interior. Sin embargo, los cambios producidos (formación de poros y reestructuramiento de ciertos orgánulos) nos lleva a pensar que debe existir algún mecanismo que permita la recuperación de las células y su funcionalización. Se llevaron a cabo estudios de sonoporación con micro-burbujas que reconocían mediante ligandos a receptores VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), que demostraron la presencia de protuberancias citoplasmáticas en células post-sonoporadas que surgen como zonas “waffer” permitiendo equilibrar la homeostásis de Ca^{2+} de nuevo (Leow et al., 2015). Asimismo, los monómeros de G-actina se vuelven a agrupar para formar los filamentos de actina del citoesqueleto y recobrar las propiedades celulares.

4.2.2.2 Ultrasonidos de baja intensidad

Los ultrasonidos de baja intensidad (<20 kHz) (Mi, 2020) se emplean en la terapia sonodinámica que deriva de la ya mencionada terapia fotodinámica. Sin embargo, a diferencia de este tratamiento, en el cual los fotosensibilizadores se excitaban directamente con luz para producir especies reactivas de oxígeno, la terapia sonodinámica está mediada por ultrasonidos que inducen procesos de cavitación y los sonosensibilizadores producirán radicales libres que destruirán a las células cancerígenas (Wood y Sehgal, 2014). La principal ventaja de la terapia sonodinámica radica en su habilidad para tratar tumores profundos (Wood y Sehgal, 2014).

4.2.3 Temperatura

La magnitud de la temperatura la podemos considerar como un estímulo interno o externo en su utilización para la liberación de fármacos.

Desde el punto de vista interno: el tejido u órgano afectado posee una temperatura más elevada (39 °C – 42 °C) en comparación con la temperatura fisiológica (37 °C). Esta distinción permite la elaboración de formas farmacéuticas estables a la temperatura basal del paciente, pero capaces de modificar sus propiedades físicoquímicas cuando circulan por el área afectada, permitiendo la liberación del principio activo en el lugar de acción.

Desde el punto de vista externo: se emplean fármacos encapsulados en nanotransportadores principalmente poliméricos termosensibles a la temperatura generada de manera externa que inducen cambios conformacionales en la estructura global (Raza et al, 2019), facilitando la expulsión del principio activo hacia el sitio de acción.

Ambos métodos de estimulación de la liberación del fármaco son factibles pero aquel mediado por la temperatura aplicada desde el exterior corporal está más desarrollado y extendido en clínica, principalmente en el ámbito de la oncología (van Rhooon et al., 2020), debido al hecho que la temperatura exógena permite un control más eficiente del tratamiento (Raza et al., 2019).

La estimulación exógena se basa en el fenómeno de la hipertermia, es decir, el aumento de la temperatura corpórea mediado por la aplicación de calor a partir de una fuente de ultrasonidos o de radiofrecuencias. Para ejemplificar este efecto, se ha demostrado que el estímulo de la temperatura de manera extracorpórea puede mejorar el perfil de liberación de algunos fármacos ya existentes, como es el caso del Doxil[®] (van Rhooon et al., 2020), permitiendo reducir la cantidad de administración y evitar problemas de toxicidad.

Los polímeros termosensibles son fundamentales en los sistemas de liberación mediados por la temperatura. Podemos considerar la existencia de diversos tipos según su comportamiento al cambio de temperatura: Polímeros LCST y polímeros UCST.

4.2.3.1 Polímeros LCST

Polímeros con temperatura crítica de disolución baja, comúnmente conocidos como polímeros de clase LCST (*Lower Critical Solution Temperature*): Son aquellos que presentan una única fase por debajo de su LCST, puesto que el polímero es soluble en el disolvente, son miscibles entre si y existe una fuerte solvatación, de modo que el sistema incrementa su tamaño. Si aumentamos la temperatura hasta superar su LCST, el polímero pierde la solubilidad hacia su disolvente y el sistema monofásico se pierde, las interacciones disolvente-polímero se reducen y aumentan las uniones polímero-polímero (Taylor et al., 2017), originándose una separación de fases desde el criterio de la estabilidad y de la termodinámica. Por tanto, por encima de su LCST, el polímero es insoluble, expulsará al disolvente del sistema, así como al fármaco (comportamiento ilustrado en la Figura 13).

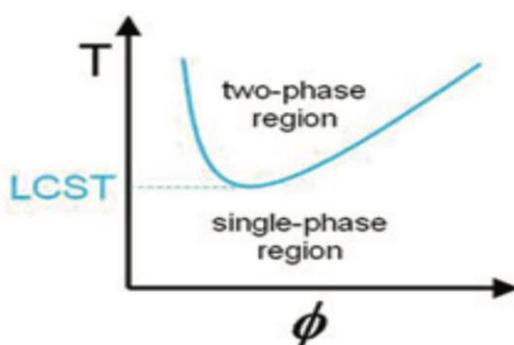


Figura 13. Comportamiento típico de un polímero LCST frente a variaciones de temperatura (Pattanashetti et al., 2016).

Un ejemplo característico es la poli(*N*-isopropilacrilamida) en agua cuya LCST es de 32 °C, lo que en principio sería una limitación para su uso a temperatura fisiológica, por ello se copolimeriza con *N,N*-dimetilacrilamida y *N,N*-diaminopropilacrilamida, elevando su LCST a 41,7 °C aproximadamente (Nagase et al., 2019) y, por tanto, mejorando su administración.

4.2.3.2 Polímeros UCST

Los polímeros tipo UCST (*Upper Critical Solution Temperature*) a una temperatura superior a su UCST presentan una única fase al predominar las interacciones del polímero con el disolvente (agua o disolventes orgánicos). Si la temperatura descendiera más allá de su punto crítico, las propiedades fisicoquímicas se verían alteradas y el polímero sería insoluble a su disolvente, originándose un sistema bifásico, como se muestra en la Figura 14. Esta clase de polímeros termosensibles son menos utilizados en el tratamiento de enfermedades (Taylor et al., 2017) y el poliestireno en ciclohexano es uno de los ejemplos más destacados.

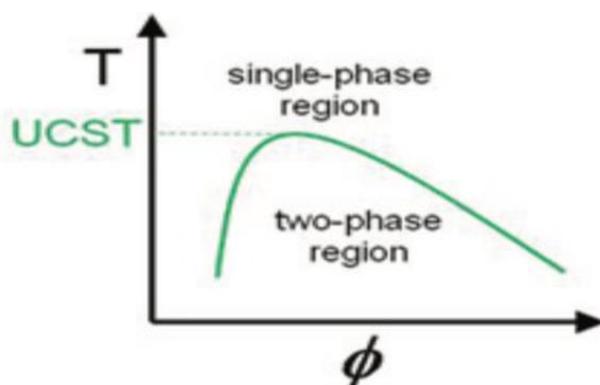


Figura 14. Comportamiento típico de un polímero UCST frente a variaciones de temperatura (Pattanashetti et al., 2016).

En los últimos años, se ha demostrado la existencia teórica de mezclas de polímeros que presentan tanto LCST como UCST (Taylor et al, 2017) aunque siguen bajo investigación, su aprobación podría suponer una ampliación en el arsenal terapéutico de ciertas patologías.

4.2.4 Campos magnéticos

La liberación de fármacos mediada por campos magnéticos se basa en el fenómeno conocido como hipertermia magnética, que debe ser local para que involucre sólo la generación de calor en un tejido específico de interés (Kumar y Mohammad, 2011). Como ya se comentó, las nanopartículas magnéticas más utilizadas son las nanopartículas de óxido de hierro, en particular Fe_3O_4 y (γ)- Fe_2O_3 , conocidas comúnmente como

MIONs (*Magnetic Iron Oxide Nanoparticles*). Sus propiedades magnéticas residen en la existencia de iones con diferentes estados de valencia en su estructura cristalina (Chang et al., 2018).

En primer lugar, el nanotransportador se debe guiar magnéticamente mediante un campo magnético permanente (Mura et al., 2013) hacia un tejido concreto. Posteriormente, cuando se exponen a un campo magnético alternante, los MIONs producen calor a través de dos mecanismos:

- Histéresis: cuando las partículas están sometidas a un campo magnético alternante, las orientaciones de sus momentos magnéticos se alinearán con la dirección del campo magnético. Esto resulta en una diferencia de energía que se libera en forma de calor (Chang et al., 2018).
- Relaxaciones de Néel y Browniana: La relajación de Néel hace referencia a cambios rápidos en los momentos magnéticos de las partículas cuando se encuentran en un campo magnético alternante, este realineamiento es contrario a la estructura cristalina de la partícula, generando calor. La relajación Browniana guarda relación con la energía térmica generada por la rotación de partículas cuando tienden a realinearse (Chang et al., 2018). Estos mecanismos de esquematizan en la Figura 14.

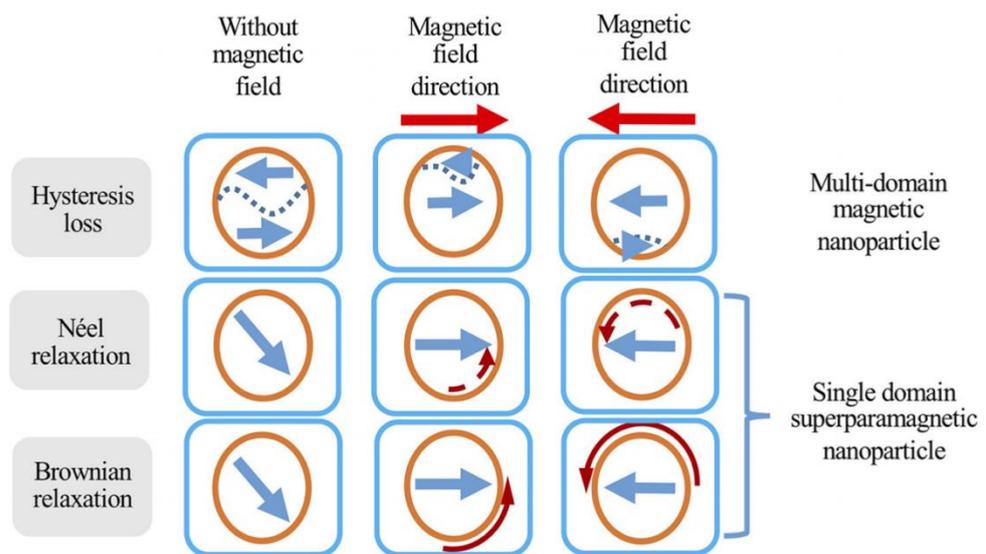


Figura 14. Mecanismos de hipertermia magnética (Chang et al., 2018).

Una vez que se genera calor través de estos procesos, existen dos mecanismos que permiten la liberación del fármaco gracias a la acción de esta energía térmica de origen magnético. Por un lado, el principio activo se asocia a las nanopartículas magnéticas mediante un enlace y tras la aplicación de un campo magnético alternante, el fármaco es liberado debido al calor generado (Kumar y Mohammad, 2011). En el segundo mecanismo, a un nanotransportador con una matriz polimérica que contiene el fármaco y nanopartículas de óxido de hierro se le aplica un campo magnético alternante que causa la aparición de orificios en la matriz de tamaño nanométrico debido a la alta energía térmica, que desemboca en la salida de las moléculas encapsuladas (Kumar y Mohammad, 2011).

Al tratarse de una aplicación meramente clínica, los campos magnéticos no deben ser dañinos para el organismo. Para ello, se realizó un estudio sobre la inocuidad en células PANC-1 de complejos de sílice mesoporosa que albergaban tanto nanopartículas de óxido de hierro como el antineoplásico doxorrubicina. Se demostró que, en el tratamiento con el sistema sin el fármaco incorporado, la exposición a un campo magnético alternante no afectaba a la viabilidad de las células PANC-1 (Chen et al., 2019), como refleja la Figura 15.

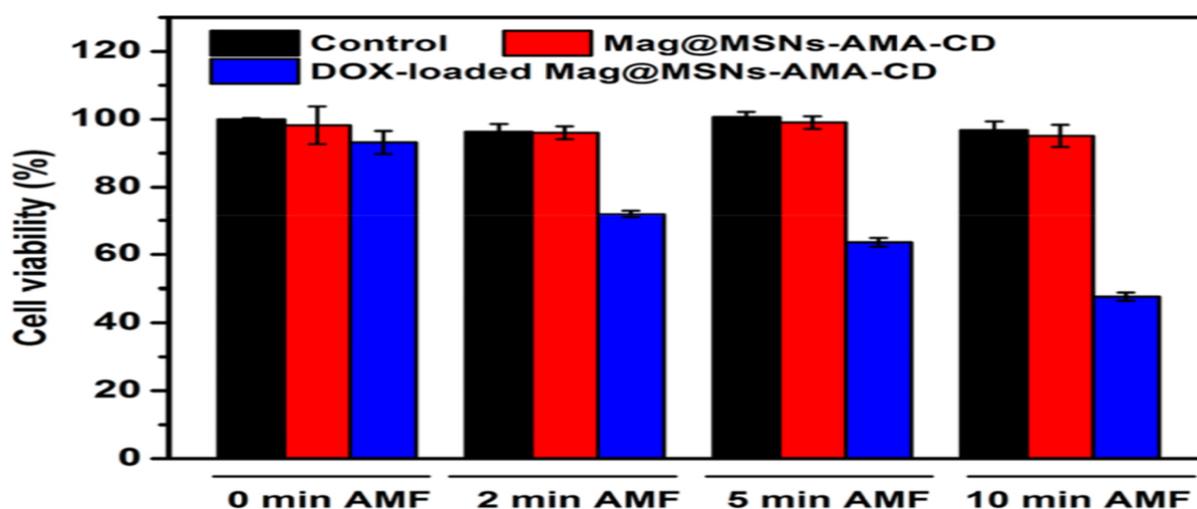


Figura 15. Viabilidad de células PANC-1 tras la aplicación de diversos nanotransportadores expuestos a un campo magnético alternante (Chen et al. 2019).

5.3 Aplicaciones actuales de nanopartículas en la terapia contra el cáncer

Hasta ahora el Trabajo de Fin de Grado ha desarrollado los fundamentos de los mecanismos de nanotransportadores sensibles a diferentes estímulos exógenos. Con esta base, se expondrán algunos ejemplos actuales y relevantes de nanopartículas sensibles a estímulos exógenos en ensayos clínicos.

5.3.1 ThermoDox[®]

Este liposoma termosensible, desarrollado por la compañía Celsion, cambia su estructura cuando se calienta a 40 °C – 45 °C (véase Figura 16) creando poros en su cubierta que permiten la salida de doxorubicina en el tumor. Este proceso de hipertermia se produce por irradiación con microondas o con ultrasonidos de alta frecuencia localizada. ThermoDox[®] aprovecha dos características de la fisiología tumoral: un sistema vascular con grandes fenestraciones que permite la entrada de liposomas y su acumulación, y al calentar la zona afectada, los vasos sanguíneos se vuelven aún más permeables, aumentando la cantidad de liposomas en el tejido tumoral antes de liberar la doxorubicina. En modelos animales, se ha demostrado que ThermoDox[®] libera 25 veces más doxorubicina que la administración intravenosa de la misma sin nanotransportador.

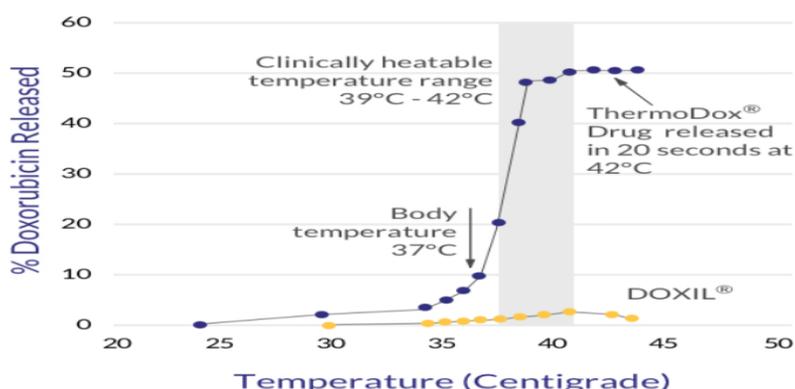


Figura 16. Liberación de doxorubicina del fármaco ThermoDox[®] en función de la temperatura (<https://www.celsion.com/thermodox/>).

Actualmente se encuentra en fase de ensayos clínicos para el tratamiento del carcinoma hepatoceular primario y metastásico (fase III) y para la terapia del cáncer de mama (fase I) (Phenix et al., 2014).

5.3.2 NanoTherm®

NanoTherm® es un ferrofluido desarrollado y patentado por la compañía Magforce. En un mililitro de este líquido se presentan 17 cuatrillones de nanopartículas de óxido de hierro, que al ser aplicadas se aglomeran en el tejido permaneciendo como un implante. Un campo magnético alternante es provocado por el sistema NanoActivator® (véase Figura 17), que es capaz de modificar la polaridad de las nanopartículas, causando la generación de calor. Para el correcto seguimiento y evaluación del tratamiento se ha desarrollado un software denominado NanoPlan®, que permite visualizar imágenes del tejido dañado antes y después de introducir las nanopartículas, facilitando la determinación de la temperatura del tratamiento y la fuerza del campo magnético alternante. Dependiendo de los parámetros seleccionados para la terapia, las células cancerosas pueden ser destruidas de manera irreversible o sensibilizadas para aumentar el éxito de la radioterapia y/o quimioterapia adicional.



Figura 17. Sistema NanoActivator® (https://www.magforce.com/en/home/our_therapy/).

En las últimas dos décadas, los estudios clínicos de fase I y II han sido satisfactorios en pacientes con glioblastomas y cáncer de próstata (Chang et al., 2018). Asimismo, desde el año 2010, Magforce cuenta con el certificado CE (“Certificación Europea”) y, por lo tanto, con la autorización oficial de la terapia NanoTherm® para el tratamiento de tumores cerebrales en Alemania y en todos los 28 estados miembros de la Unión Europea.

6. Conclusiones

- En la actualidad el cáncer es una de las enfermedades con mayor prevalencia a nivel mundial y, por consiguiente, las continuas aproximaciones en el tratamiento de esta patología resultan de notoria importancia.
- Los fármacos antineoplásicos convencionales presentan significativos efectos secundarios en los pacientes. Por ello, se considera de primordial interés el desarrollo de nuevas terapias alternativas basadas en nanotransportadores selectivos de estos fármacos a los tejidos tumorales, que mediante respuesta a estímulos exógenos puedan liberarlos.
- Las técnicas que utilizan variaciones de temperatura pueden suponer menos inconvenientes en la salud del paciente, ya que con un pequeño aumento de la temperatura del organismo es suficiente para conseguir el efecto deseado, mientras que la exposición prolongada a irradiaciones de ultrasonidos, campos magnéticos y diversos espectros de luz pueden suponer cierta complejidad.
- Los nanotransportadores de fármacos mediados por campos magnéticos necesitan diferentes sesiones que utilizan sistemas de irradiación de alta tecnología, por tanto, su empleo supone mayor gasto económico.
- Los nanotransportadores sensibles a estímulos externos comercializados o en fases de ensayos clínicos avanzadas son todavía escasos. Es de esperar que las investigaciones que se están llevando a cabo en la actualidad ofrezcan resultados esperanzadores en un futuro próximo.

7. Bibliografía

Abou-Saleh R, Swain M, Evans S, Thomson N. Polyethylene glycol lipid-shelled microbubbles: abundance, stability and mechanical properties. *Langmuir*.2014.20;30 (19):5557-63.

Álvarez C, Concheiro A. Dispersiones coloidales y geles. En: Ramón Martínez Pacheco, editor. *Tratado de Tecnología Farmacéutica. Volumen I: Sistemas Farmacéuticos*. Madrid: Síntesis. 2016. 197-225.

Aquib M, Farooq MA, Banerjee P, Akhtar F, Filli MS, Boakye-Yiadom KO, et al. Targeted and stimuli-responsive mesoporous silica nanoparticles for drug delivery and theranostic use. *J Biomed Mater Res Part A*. 2019;107(12):2643–66.

Barcelo S, Li Z. Nanoimprint lithography for nanodevice fabrication. *Nano Convergence*. 2016; 2:21.

Barhoumi A, Liu Q, Kohane DS. Ultraviolet light-mediated drug delivery: Principles, applications, and challenges. *J Control Release*. 2015;219:31–42.

Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*. 2019;25(1):112.

Biswas A, Bayer IL, Biris AS, Wang T, Dervishi E, Faupel F. Advances in top-down and bottom-up Surface nanofabrication: Techniques, applications & future prospects. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2011; 2-27.

Bozzuto G, Molinari A. Liposomes as nanomedical devices. *Int J Nanomedicine*. 2015;975.

Castro R, Forero-Doria O, Guzmán L. Perspectives of Dendrimer-based nanoparticles in cancer therapy. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (2018) 90 (2 Suppl.1): 2331-2346

Celsion Corporation. Thermodox [en línea]. [Consultado en Abril 2021]. Disponible en: <https://www.celsion.com/thermodox/>

Chang D, Lim M, Goos JACM, Qiao R, Ng YY, Mansfeld FM, et al. Biologically Targeted Magnetic Hyperthermia: Potential and Limitations. *Front Pharmacol*. 2018;9.

Chen H, Zhao Y. Applications of Light-Responsive Systems for Cancer Theranostics. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2018;10(25):21021–34.

Chen W, Cheng C-A, Zink JJ. Spatial, Temporal, and Dose Control of Drug Delivery using Noninvasive Magnetic Stimulation. *ACS Nano*. 2019;

Chen X, Leow RS, Hu Y, Wan JMF, Yu ACH. Single-site sonoporation disrupts actin cytoskeleton organization. *J R Soc Interface*. 2014;11(95):20140071.

Cho H, Lai TC, Tomoda K, Kwon GS. Polymeric Micelles for Multi-Drug Delivery in Cancer. *AAPS PharmSciTech*. 2014;16(1):10–20.

Croissant J, Chaix A, Mongin O, Wang M, Clément S, Raehm L, et al. Two-Photon-Triggered Drug Delivery via Fluorescent Nanovalves. *Small*. 2014;10(9):1752–5.

Estelrich J, Escribano E, Queralt J, Busquets M. Iron Oxide Nanoparticles for Magnetically-Guided and Magnetically-Responsive Drug Delivery. *Int J Mol Sci*. 2015;16(12):8070–101.

Fan Z, Kumon RE, Deng CX. Mechanisms of microbubble-facilitated sonoporation for drug and gene delivery. *Ther Deliv*. 2014;5(4):467–86.

Guo G, Ma Y, Guo Y, Zhang C, Guo X, Tu J, et al. Enhanced porosity and permeability of three-dimensional alginate scaffolds via acoustic microstreaming induced by low-intensity pulsed ultrasound. *Ultrason Sonochem*. 2017;37:279–85.

Guorevich D, Volovick A, Dogadkin O, Wang L, Mulvana H, Medan Y et al. *In Vitro* investigation of the individual contributions of ultrasound-induced stable and inertial cavitation in targeted drug delivery. *Ultrasound Med Biol*. 2015 Jul;41(7):1853-64.

Huie JC. Guided molecular self-assembly: a review of recent efforts. 2003. *Smart Materials and Structures*. 12 264.

Jasty S. *Material Matters* 2006. [en línea]. [Consultado en marzo 2021]. Disponible en:

Jokerst J V, Lobovkina T, Zare RN, Gambhir SS. Nanoparticle PEGylation for imaging and therapy. *Nanomedicine*. 2011;6(4):715–28.

Kalyane D, Raval N, Maheshwari R, Tambe V, Kalia K, Tekade RK. Employment of enhanced permeability and retention effect (EPR): Nanoparticle-based precision tools for targeting of therapeutic and diagnostic agent in cancer. *Mater Sci Eng C*. 2019;98:1252–76.

Kumar CSSR, Mohammad F. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2011;63(9):789–808.

Lamichhane N, Udayakumar T, D’Souza W, Simone II C, Raghavan S, Polf J, et al. Liposomes: Clinical Applications and Potential for Image-Guided Drug Delivery. *Molecules*. 2018;23(2):288.

Leow RS, Wan JMF, Yu ACH. Membrane blebbing as a recovery manoeuvre in site-specific sonoporation mediated by targeted microbubbles. *J R Soc Interface*. 2015;12(105):20150029.

Li W, Feng S, Guo Y. Block copolymers micelles for nanomedicine. *Future Medicine. Nanomedicine* (2012) 7(2), 169-172.

Li Z, Tan S, Li S, Shen Q, Wang K. Cancer drug delivery in the nano era: An overview and perspectives. *Oncol Rep*. 2017;38(2):611–24.

- Linsley CS y Wu BM. Recent advances in light responsive on demand drug delivery systems. *Therapeutic Delivery*. 2017;8(2), 89-107.
- Liu D, Yang F, Xiong F, Gu N. The Smart Drug Delivery System and Its Clinical Potential. *Theranostics*. 2016;6(9):1306–23.
- Llinàs MC, Sánchez-García D. Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. *Afinidad LXXI*. 2014;565.
- López L, Castro J, Vargas A, Martínez C, Zarate D, Luna G. Síntesis y caracterización de micelas poliméricas de mPEG-PCL para sistemas de suministro de fármacos:rescatando un proceso sencillo. *CULCyT*. Año 12. No 57, Especial No 2.
- López-Dávila V, Seifalian AM, Loizidou M. Organic nanocarriers for cancer drug delivery. *Curr Opin Pharmacol*. 2012;12(4):414–9.
- Magforce The Nanomedicine Company. Nanotherm [en línea]. [Consultado en abril de 2021]. Disponible en: https://www.magforce.com/en/home/our_therapy/
- Mateo D, Morales P, Ávalos A, Haza Ana I. Nanopartículas de oro: Aplicaciones y citotoxicidad *in vitro*. *Gold nanoparticles: Applications and in vitro cytotoxicity*. *Acta Toxicol. Argent.* (2013) 21 (2): 102-109.
- Messenger L, Gaitzsch J, Chierico L, Battaglia G. Novel aspects of encapsulation and delivery using polymersomes. *Curr Opin Pharmacol*. 2014;18:104–11.
- Mi P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery, tumor imaging, therapy and theranostics. *Theranostics*. 2020;10(10):4557–88.
- Mitchell M, Billingsley M, Haley R, Wechsler M, Peppas N, Langer R. Engineering precisión nanoparticles for drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery* 20, 101-124 (2021).
- Mura S, Nicolas J, Couvreur P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nat Mater*. 2013;12(11):991–1003.
- Nagase K, Hasegawa M, Ayano E, Maitani Y, Kanazawa H. Effect of Polymer Phase Transition Behavior on Temperature-Responsive Polymer-Modified Liposomes for siRNA Transfection. *Int J Mol Sci*. 2019;20(2):430.
- Organización Mundial de la Salud. GLOBOCAN. 2021. [en línea]. [Consultado en mayo de 2021]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/>
- Pattanashetti NA, Heggannavar GB, Kariduraganavar MY. Smart Biopolymers and Their Biomedical Applications, *Procedia Manufacturing*. 2017; 263-279.
- Pérez-Herrero E, Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015;93:52–79.

Pérez-Inestrosa E. Dendrímeros en aplicaciones biomédicas. Jornadas Científicas. Boletín de la Academia Malagueña de Ciencias. 2009. 21-25.

Phenix C, Togtema M, Pichardo S, Zehbe I, Curiel L. High Intensity Focused Ultrasound Technology, Its Scope and Applications in Therapy and Drug Delivery. J. Pharm Pharm Sci (www.cspCanada.org) 2014 17(1) 136-153.

Qiao Z-Y, Ji R, Huang X-N, Du F-S, Zhang R, Liang D-H, et al. Polymersomes from Dual Responsive Block Copolymers: Drug Encapsulation by Heating and Acid-Triggered Release. Biomacromolecules. 2013;14(5):1555–63.

Raza A, Rasheed T, Nabeel F, Hayat U, Bilal M, Iqbal H. Endogenous and Exogenous Stimuli-Responsive Drug Delivery Systems for Programmed Site-Specific Release. Molecules. 2019;24(6):1117.

Rifaie-Graham O, Ulrich S, Galensowske NFB, Balog S, Chami M, Rentsch D, et al. Wavelength-Selective Light-Responsive DASA-Functionalized Polymersome Nanoreactors. J Am Chem Soc. 2018;140(25):8027–36.

Sachi Das S, Bharadwaj P, Bilal M, Barani M, Rahdar A, Taboada et al. Stimuli-Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery, Imaging and Theragnosis. Polymers. 2020; 12(6); 1397.

Santa CF, López BL. Materiales poliméricos en nanomedicina: Transporte y liberación controlada de fármacos. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exacta, Físicas y Naturales; vol.37 no142.

Shen W, Zheng J, Zhou Z, Zhang D. Approaches for the synthesis of o-nitrobenzyl and coumarin linkers for use in photocleavable biomaterials and bioconjugates and their biomedical applications. Acta Biomater. 2020;115:75–91.

Singh H, Du J, Singh P, Yi TH. Ecofriendly synthesis of silver and gold nanoparticles by *Euphrasia officinalis* leaf extract and its biomedical applications. Artif Cells, Nanomedicine, Biotechnol. 2017;46(6):1163–70.

Singh P, Pandit S, Mokkalapati VRSS, Garg A, Ravikumar V, Mijakovic I. Gold Nanoparticles in Diagnostics and Therapeutics for Human Cancer. Int J Mol Sci. 2018;19(7):1979.

Singh P, Singh H, Kim YJ, Mathiyalagan R, Wang C, Yang DC. Extracellular synthesis of silver and gold nanoparticles by *Sporosarcina koreensis* DC4 and their biological applications. Enzyme Microb Technol. 2016;86:75–83.

Tang F, Li L, Chen D. Mesoporous Silica Nanoparticles: Synthesis, Biocompatibility and Drug Delivery. Adv Mater. 2012;24(12):1504–34.

Taylor M, Tomlins P, Sahota T. Thermoresponsive Gels. Gels. 2017;3(1):4.

van Rhoon GC, Franckena M, ten Hagen TLM. A moderate thermal dose is sufficient for effective free and TSL based thermochemotherapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020;163–164:145–56.

Wang Y, Zhao Q, Han N, Bai L, Li J, Liu J, et al. Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med.* 2015;11(2):313–27.

Weis P, Wu S. Light-Switchable Azobenzene-Containing Macromolecules: From UV to Near Infrared. *Macromol Rapid Commun.* 2017;39(1):1700220.

Wood AKW, Sehgal CM. A Review of Low-Intensity Ultrasound for Cancer Therapy. *Ultrasound Med Biol.* 2015;41(4):905–28.

Yang Y, Li Q, Guo X, Tu J, Zhang D. Mechanisms underlying sonoporation: Interaction between microbubbles and cells. *Ultrason Sonochem.* 2020;67:105096.

Yassin MA, Appelhans D, Mendes RG, Rümmele MH, Voit B. pH-Dependent Release of Doxorubicin from Fast Photo-Cross-Linkable Polymersomes Based on Benzophenone Units. *Chem - A Eur J.* 2012;18(39):12227–31.

Zielińska A, Carreiró F, Oliveira AM, Neves A, Pires B, Venkatesh DN, et al. Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology. *Molecules.* 2020;25(16):3731.

Zhang S, Gao H, Bao G. Physical principles of nanoparticle cellular endocytosis *ACS Nano.* 2015; 9(9):8655-8671.

Zingg R, Fischer M. The consolidation of nanomedicine. *Wiley Interdiscip Rev Nanomedicine Nanobiotechnology.* 2019;11(6).