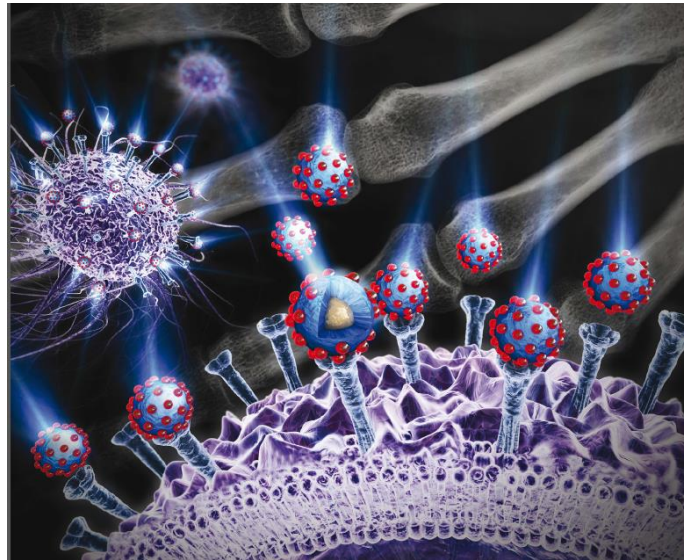




UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA



NANOPARTÍCULAS PARA LA ARTRITIS REUMATOIDE

Marta García Cabrera

Ilustración: Kim et al., Chem Commun. 2013; 49(88):10349–51.



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

NANOPARTÍCULAS PARA LA ARTRITIS REUMATOIDE

Trabajo Fin de Grado de carácter bibliográfico presentado por

Marta García Cabrera

Tutores: Dr. Manuel Bueno Martínez y Dra. Inmaculada Molina Pinilla

Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica

Sevilla, septiembre de 2019

RESUMEN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria autoinmune asociada a la inflamación crónica de la membrana sinovial, lo que causa la destrucción del cartílago y el hueso circundante provocando dolor, rigidez, hinchazón e incluso la pérdida de la función articular, cuya etiopatogenia aún se desconoce, y es causante de discapacidad. A pesar del notable progreso que ha tenido lugar en el tratamiento terapéutico de la AR, la administración a largo plazo de medicamentos antirreumáticos todavía presenta bastantes inconvenientes. Aún existe la necesidad de utilizar grandes dosis y altas frecuencias de administración que generan importantes efectos secundarios. La Nanobiomedicina es el empleo de la nanotecnología tanto en aplicaciones diagnósticas como en la prevención y tratamiento de enfermedades. Las nanopartículas (NP) son los nanosistemas más empleados con fines biomédicos debido a su gran versatilidad, ofreciendo estrategias prometedoras para mejorar y optimizar el tratamiento de la AR. Diferentes tipos de nanovehículos han sido desarrollados para hacer posible la liberación de los diferentes fármacos de forma específica y controlada en las dianas terapéuticas. Esto permitiría alcanzar una mayor concentración y efectividad del tratamiento en el lugar deseado, además de evitar los efectos secundarios potenciales de la acumulación inespecífica de los fármacos en órganos como el hígado y el bazo. Este trabajo de revisión se centra en NP que han sido diseñadas para transportar fármacos anti-AR, en concreto, NP poliméricas, junto con las estrategias de direccionamiento planteadas para acumular los fármacos en los tejidos lesionados y facilitar su interacción con las células que allí se encuentran.

Palabras clave: artritis reumatoide, nanovehículos poliméricos, nanoterapia, nanotecnología, nanopartícula

ÍNDICE

1. ABREVIATURAS	3
2. INTRODUCCIÓN	5
3. OBJETIVOS	13
4. METODOLOGÍA	13
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
5.1. Estrategias de direccionamiento pasivo.....	14
5.1.1 FAME.....	15
5.1.2 GC.....	16
5.1.3 AINE.....	18
5.1.4 Terapia biológica.....	19
5.2. Estrategias de direccionamiento activo.....	21
5.2.1 Células implicadas en la inflamación.....	22
5.2.1.1 FR.....	22
5.2.1.2 SR.....	24
5.2.1.3 Receptores del VIP.....	26
5.2.2 VEC.....	26
5.2.2.1 Integrina $\alpha\beta 3$	27
5.2.2.2 E-Selectina.....	29
6. CONCLUSIÓN	29
7. BIBLIOGRAFÍA	30

1. ABREVIATURAS

AINE: antiinflamatorio no esteroideo

AR: artritis reumatoide

AuNP: nanopartículas de oro

CIA: artritis inducida por colágeno

CPT: camptotecina

DEX: dexametasona

Dex: dextrano

DS: sulfato de dextrano

EPR: efecto de retención y permeabilidad aumentadas

FA: ácido fólico

FAME: fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad

FR: receptor de folato

FUM: fumagilina

GC: glucocorticoide

HA: ácido hialurónico

IL-6: interleucina-6

IndOH: indometacina libre

IndOH-NC: indometacina cargada en nanocápsulas

MP: metilprednisolona

MTX: metotrexato

NP: nanopartícula

PCL: policaprolactona

PEG: polietilenglicol

pHPMAmLac_n: poli-N-(2-hidroxipropil)metacrilamida-lactato

PLGA: ácido poli (láctico-co-glicólico)

PM: micela polimérica

SLX: Sialyl Lewis X

SR: receptor scavenger

SSM: micelas esféricas estabilizadas

TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa

TCZ: tocilizumab

VEC: células endoteliales vasculares

VIP: receptor del péptido intestinal vasoactivo

2. INTRODUCCIÓN

La AR es una enfermedad de naturaleza autoinmune caracterizada por la inflamación crónica de la membrana sinovial de las articulaciones y presenta, además, diversos síntomas generales inespecíficos. Está caracterizada por la destrucción progresiva del cartílago, la osteoporosis y por la aparición de manifestaciones extraarticulares (Smolen et al., 2016). Las manifestaciones sintomáticas son dolor articular, inflamación local, rigidez matinal, y deformaciones óseas que derivan en la pérdida de movimiento. Las articulaciones periféricas son las más afectadas con la particularidad de que se afectan de forma simétrica a ambos lados del cuerpo.

La AR es un gran lastre tanto para los pacientes como para la sociedad; los costes asociados a la enfermedad se generan en su mayoría por ingresos hospitalarios debidos a los brotes inflamatorios, a las comorbilidades asociadas a la enfermedad o bien por la necesidad de una intervención quirúrgica de las secuelas articulares. En nuestro país, estudios recientes estiman un coste sociosanitario anual de 1.120 millones de euros, derivado de la atención sanitaria directa, gastos indirectos y a bajas laborales. Esta es una enfermedad que disminuye enormemente la calidad de vida de los pacientes, tanto en su área física como en la psicológica, repercutiendo en el plano familiar, social y laboral.

A nivel epidemiológico, la AR afecta alrededor del 0.3-1% de la población mundial (Janakiraman et al., 2018), lo que implica entre 100 y 200 millones de personas, y en concreto a más del 2% de las personas mayores de 60 años de edad. Presenta una mayor frecuencia en mujeres que en hombres, en una relación 3:1, con una prevalencia mayor en la población urbana frente a la rural. La AR se caracteriza por la intervención de factores genéticos, principalmente, ambientales, étnicos (García-Lechuz Moya, 2008), geográficos (Peláez-Ballestas et al., 2011) y nutricionales (Ambriz Murillo et al., 2015). Un historial familiar positivo aumenta el riesgo de aparición aproximadamente de tres a cinco veces, como lo demuestra los estudios llevados a cabo en los últimos años. En España afecta aproximadamente al 0,5% de la población (Carbonell et al., 2008), es decir a más de 200.000 personas, presentando

una mortalidad 2 a 3 veces superior a la de la población sin artritis reumatoide. Cada año se diagnostican unos 10.000-20.000 nuevos casos.

La etiología de la AR es desconocida, se considera una enfermedad complicada asociada a diversas causas; entre los factores genéticos y no genéticos se incluyen infecciones, trastorno de las hormonas sexuales y determinantes ambientales (Dolati et al., 2016; Liao et al., 2009).

En las enfermedades autoinmunes, por causas aún desconocidas, el sistema inmunitario fabrica autoanticuerpos que reaccionan contra tejidos propios del organismo, siendo éstos, los responsables de las lesiones características de los trastornos autoinmunes. En el caso de la AR se produce, en concreto, la activación de células T y B, las cuales actúan de forma conjunta provocando una alteración en la membrana sinovial, lugar donde se inicia el proceso inflamatorio, formando parte del infiltrado celular que allí se forma. Los linfocitos T y B juegan, como se observa en la figura 1, un papel principal en la enfermedad; además de estas células en la infiltración celular de la membrana sinovial participan fibroblastos, células endoteliales y macrófagos activados que van a producir una serie de mediadores solubles, en su mayoría citocinas, pero también factores de crecimiento, quimiocinas y mediadores de señalización intracelular, cuyo efecto final es la destrucción del hueso y el cartílago. (García-Sevillano, 2014).

Las citocinas son proteínas de bajo peso molecular que intervienen en la comunicación intercelular del sistema inmunitario. Tienen una vida media corta y se clasifican en citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina-6 (IL-6) son las principales citocinas proinflamatorias que actúan sinérgicamente en el proceso inflamatorio.

TNF- α es un intermediario importante para la regulación de otras citocinas y mediadores de la inflamación como el óxido nítrico, la prostaglandina E2, enzimas como las metaloproteinasas de matriz, etc. IL-6 es una citocina proinflamatoria pleiotrópica con diferentes efectos sobre las células linfoides, como la inducción de la secreción de Ig por las células B, o la proliferación y diferenciación de las células T. En resumen, las citocinas se unen a determinados receptores para desencadenar diversas señales intracelulares que conducen a la inflamación y al daño (Pham, 2011).

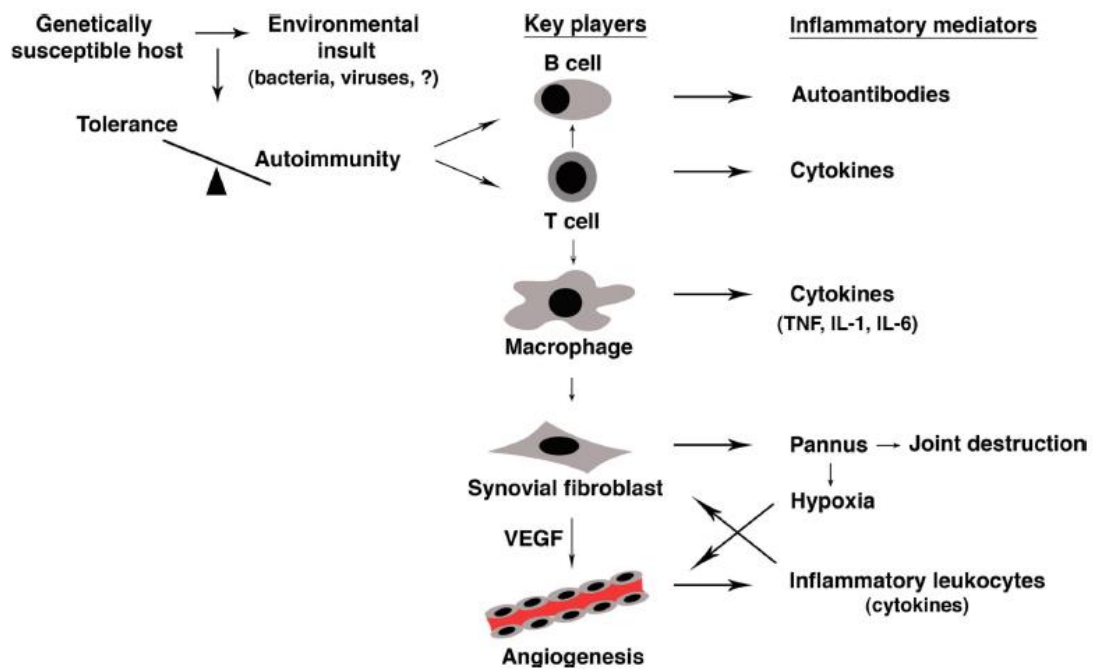


Figura 1. Esquema de los componentes principales de la etiología y patogénesis de la AR (Pham, 2011)

La erosión del cartílago y del hueso está asociada a la formación de un “pannus” proliferativo que recubre el cartílago; consiste en un tejido que se forma por la hiperplasia e hipertrofia de las células sinoviales, las células inflamatorias e inmunológicas, las proteinasas y las citocinas que inducen al fenómeno de hipervascularización de la zona afectada, promoviendo la acumulación de todas estas células (Cajas et al., 2019). El pannus invade el tejido articular que se encuentra en la zona de unión entre la membrana sinovial y el cartílago produciendo deformaciones articulares que son las manifestaciones clínicas más severas. En la figura 2 se muestran los cambios que tienen lugar en la articulación en un paciente con AR. La membrana sinovial se hace más gruesa y se aprecia una tumoración, el pannus, que invade el hueso y el cartílago (García De Veas, 2015).

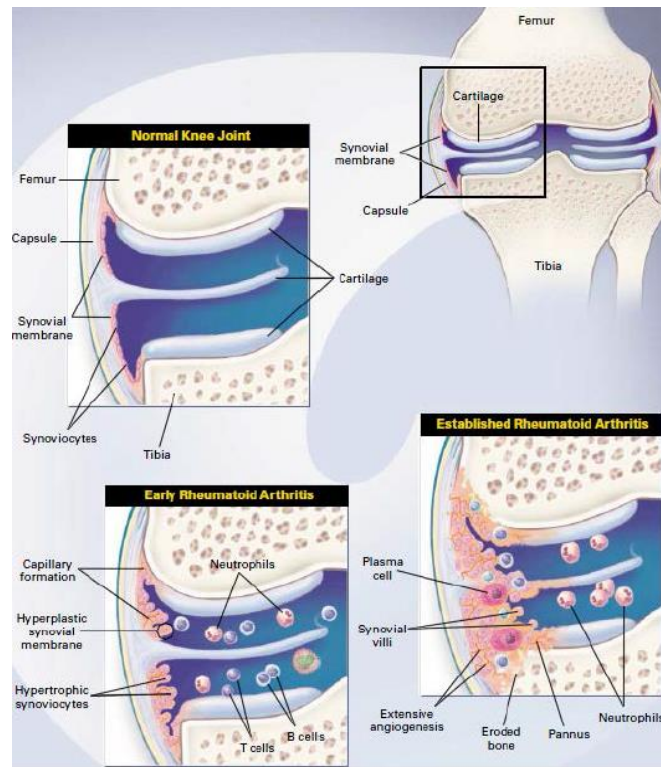


Figura 2. Patogénesis de la AR (García De Veas, 2015)

Actualmente, los grupos terapéuticos para la AR están básicamente divididos en 4 categorías:

- Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME)
- Glucocorticoides (GC)
- Antiinflamatorios no esteroideos (AINE)
- Terapia biológica

En las últimas décadas, los **FAME** han mejorado en gran medida el tratamiento clínico en etapas tempranas de la AR. El FAME más usado y estudiado es el metotrexato (MTX), ya que muestra una excelente efectividad y por ello se considera fármaco de primera línea (Yuan et al., 2012). El MTX inhibe de forma eficaz la producción de citocinas proinflamatorias, sin embargo, presenta una semivida baja, de aproximadamente 6h y, su capacidad para concentrarse en las zonas inflamadas también es baja. Además, al igual que el resto de los FAME, produce en última instancia efectos secundarios graves en la médula ósea, hígado y riñón y alteraciones gastrointestinales (Khan et al., 2012).

Los **GC**, como la dexametasona (DEX), o la metilprednisolona (MP), son antiinflamatorios clásicos con efectos farmacológicos rápidos. Debido a su rápida acción se utilizan generalmente como "terapia puente" en el tratamiento inicial de la AR que cursa con síntomas agudos, hasta que los auténticos agentes modificadores de la enfermedad, los FAME, consiguen ejercer su efecto terapéutico. De manera similar al MTX, el tratamiento de los GC requiere altas dosis y frecuencias de administración para alcanzar cierta eficacia, debido a que se eliminan rápidamente después de su administración. En este caso los efectos secundarios son más significativos, entre los más importantes se encuentran: enfermedades cardiovasculares, atrofia muscular, glaucoma, úlcera péptica, infecciones y osteoporosis (Hoes et al., 2010).

Los **AINE** son inhibidores no selectivos de la ciclooxigenasa que interviene en la generación de prostaglandinas, un mediador del proceso inflamatorio. Por lo tanto, al suprimir su producción, los AINE conducen a la remisión del dolor y la inflamación. Sin embargo, su uso a largo plazo puede producir retención de líquidos en las zonas inflamadas, además de las ampliamente conocidas alteraciones gastrointestinales. Además, son incapaces de impedir el progreso de la enfermedad y muestran una baja eficacia terapéutica como fármacos anti-AR (Yuan et al., 2012).

La aparición más reciente de **agentes biológicos** ha revolucionado el patrón terapéutico de la AR y ha mejorado la eficacia farmacológica de los tratamientos. Como se ha indicado, el factor TNF- α , se considera un objetivo principal en el tratamiento. Los primeros agentes anti-TNF- α para el tratamiento clínico se probaron hace aproximadamente una década, entre ellos cabe destacar adalimumab, certolizumab, etanercept, e infliximab. Además de los inhibidores de TNF- α , otras terapias biológicas incluyen, los inhibidores de la coestimulación de células T (abatacept), los antagonistas de las células B (rituximab), anticuerpos monoclonales contra el receptor de interleucina-6 (tocilizumab), inhibidores de IL-1 (anakinra) y anti-CD28 (abatacept). Los agentes biológicos son altamente efectivos para aliviar los síntomas e incluso revertir la progresión de la AR (Smolen et al., 2014). Sin embargo, no funcionan bien en una gran parte de los pacientes con AR, casi el 50% de los pacientes respondedores a los fármacos anti-TNF- α terminan abandonando la terapia al final del primer año, ya que el tratamiento va perdiendo eficacia de forma progresiva (Singh et al., 2011). Se ha publicado que la combinación de MTX con

agentes anti-TNF- α funciona positivamente en alrededor del 60% de los pacientes, no obstante, la cifra aún está lejos de ser satisfactoria (Salliot et al., 2011). Por otro lado, presentan efectos secundarios como son, infecciones locales en los sitios de infusión o inyección, e infecciones sistémicas, como la tuberculosis; además el costo del tratamiento es bastante elevado, pudiendo llegar a ser algunos de estos fármacos incluso inasequibles.

A pesar de que se logra cierto grado de efecto terapéutico con todos estos tratamientos, todavía conllevan un alto riesgo de tolerancia terapéutica y de alteraciones funcionales inducidas por las elevadas dosis utilizadas. La eficacia de estos fármacos depende de que sus concentraciones estén a unos niveles plasmáticos adecuados durante un cierto periodo de tiempo más o menos prolongado. Sin embargo, la administración convencional origina variaciones en las concentraciones plasmáticas que pueden dar lugar a períodos alternativos de ineficacia o de toxicidad, hecho particularmente problemático si están muy próximos los niveles mínimos de toxicidad y de inefectividad. En la actualidad se están desarrollando mejoras en los sistemas de administración de fármacos con el fin de disminuir estos efectos adversos y, además, aumentar la eficacia de los medicamentos. El nuevo reto consiste en conseguir que estos fármacos accedan de un modo específico al tejido, direccionándolos mediante un vehículo o vector (Prasad et al., 2015).

Se define la vectorización como la operación tecnológica destinada a dirigir y liberar de forma selectiva principios activos a nivel de órganos, tejidos o células sobre los que han de ejercer su acción, mediante la utilización de transportadores. En farmacología, se conoce como vector a la forma farmacéutica que engloba al fármaco. Por consiguiente, un vector permite la liberación controlada del agente terapéutico, evitando su biodegradación antes de llegar a la biofase y minimizando los efectos secundarios indeseables. Se consideran dos grandes grupos de sistemas de vectorización: vectores macromoleculares y vectores de tamaño de partícula que se clasifican a su vez en vectores microparticulares y vectores nanoparticulares (Sáez et al., 2004). El uso de nanopartículas frente a micropartículas presenta ventajas debido a su pequeño tamaño, ya que pueden atravesar los tejidos inflamados y ser administradas vía intravenosa sin peligro alguno de formación de trombos, ya que su diámetro es menor que el de los capilares sanguíneos.

La nanotecnología es la ciencia del diseño, producción y aplicación de estructuras mediante el control del tamaño a escala nanométrica, siendo un nanómetro (nm) la mil millonésima parte, o 10^{-9} , de un metro. (Aston et al., 2005). La nanotecnología permite la fabricación de dispositivos en la misma escala en la que se encuentran células y biomoléculas, escala donde ocurren la mayoría de los procesos biológicos. Los materiales cuando se hallan a estos niveles nanométricos sufren cambios en sus propiedades físicas y químicas (Lechuga, 2010) que los hacen interesantes para la aplicación en enfermedades inflamatorias autoinmunes.

Los vectores nanoparticulares o NP son partículas coloidales sólidas, su tamaño nanométrico les permite atravesar poros y membranas por lo que son fácilmente captadas por las células e interactúan de forma fácil tanto con las moléculas de superficie como con las del interior celular. El reducido tamaño aumenta también su velocidad de disolución, alcanzando límites de saturación, es decir, mejoran la biodisponibilidad del fármaco. Tienen como ventajas la posibilidad de encapsular fármacos poco solubles y permeables, una alta semivida biológica y especialmente, las NP poliméricas de entre todos los sistemas de vehiculización, tienen un papel vital en la industria debido a sus propiedades biocompatibles y biodegradables (Janakiraman et al., 2018).

La NP debe diseñarse teniendo en cuenta: las propiedades del principio activo, el objetivo hacia el que va a ser direccionada, el medio fisiológico por el que va a transitar antes de alcanzar dicho objetivo y el medio en el que se encuentra la diana terapéutica. La administración selectiva de fármacos puede ser activa o pasiva. Las características de las NP como son la superficie y la morfología, determinan su biodistribución por los diferentes tejidos y órganos, es decir, sus propiedades fisicoquímicas contribuyen al direccionamiento pasivo de los principios activos. La orientación activa, sin embargo, se logra mediante la conjugación de la NP a un ligando de células específicas. Como se muestra en la figura 3, los principios activos pueden administrarse y acumularse de forma selectiva en los dianas terapéuticas a través del direccionamiento pasivo o activo de nanovehículos (Pham, 2011).

El uso de materiales biocompatibles, biodegradables, como los polímeros, proporciona una ventaja frente a la administración convencional. Las NP poliméricas se formulan empleando homopolímeros o copolímeros de diferente hidrofobicidades que

pueden encapsular fármacos hidrófilos y/o hidrófobos, así como proteínas y macromoléculas de ácido nucleico (Wang and Wang, 2014). Estos materiales no generan respuesta adversa y tras su interacción con el medio fisiológico se degradan en componentes no tóxicos, como es el caso del PLGA (ácido poli (láctico-co-glicólico)), un copolímero del láctico y el glicólico que se ha empleado en la preparación de vectores nanoparticulares, debido a su versatilidad química. El éxito del PLGA es debido a que, en su degradación hidrolítica, genera monómeros de ácido láctico y ácido glicólico, ambos biodegradables por la vía del ácido cítrico.

Por otro lado, una de las características excepcionales de los polímeros es su capacidad para ser conjugados con ligandos. Numerosos equipos de investigación se dedican actualmente a estudiar la sobreexpresión de determinadas moléculas en células implicadas en la patogenia de la AR, de modo que si se conoce qué receptores están sobreexpresados en las dianas terapéuticas se podrían conjugar a estos polímeros ligandos de unión a receptores que faciliten el direccionamiento activo del nanovehículo. Esta estrategia de direccionamiento será analizada con detalle más adelante debido a su importancia y aplicabilidad.

Otro de los factores a tener en cuenta, es el aclaramiento rápido que sufren las NP mediante el sistema fagocítico mononuclear del hígado y el bazo, y mediante mecanismos en los que intervienen las opsoninas y la activación del complemento. Una técnica empleada para disminuir el aclaramiento de las NP cuando están en circulación, consiste en conjugarlas con cadenas de polietilenglicol (PEG) de forma covalente, en un proceso que se conoce como pegilación, al proporcionar una barrera hidrófila y estérica contra la opsonización (Lechuga, 2010). La eficacia de estas cadenas de PEG para modificar la biodistribución de las NP, se ha puesto de manifiesto a través de estudios *in vivo*, en los que han observado un aumento drástico en el tiempo de circulación en sangre de las NP con el aumento de la densidad de PEG a nivel superficial (Alexis et al., 2008).

Los beneficios del uso de la nanotecnología son, por un lado, la reducción de los daños en otros órganos debido a que ahora la distribución de los fármacos fuera del objetivo no se produce y, por otro lado, los nanotransportadores proporcionan protección frente a la biodegradación de los agentes terapéuticos. Esto significa que la liberación de los principios activos se dará ahora de forma sostenida y con una cinética

de circulación prolongada. Por lo tanto, los nanovehículos aumentan la solubilidad y la biodisponibilidad de fármacos, evitando la utilización de grandes dosis y la administración repetida de inyecciones (Ulbrich and Lamprecht, 2010).

En resumen, las NP son capaces de: (a) encapsular y evitar la degradación de los principios activos, (b) mejorar el direccionamiento, (c) controlar la liberación de las drogas, y (d) ser producidos a grandes escalas y de forma reproducible (Anselmo and Mitragotri, 2014).

Por lo general, el sistema de administración de fármacos a nanoescala direccionado parece ser una opción válida para el tratamiento de la AR. Los nanotransportadores se han empleado ampliamente para la administración de fármacos antirreumáticos, entre los más empleados encontramos liposomas, dendrímeros, micelas, nanocápsulas, NP metálicas y NP poliméricas entre otros (Dolati et al., 2016). Algunos de estos sistemas de administración se tratarán en detalle a continuación.

3. OBJETIVOS

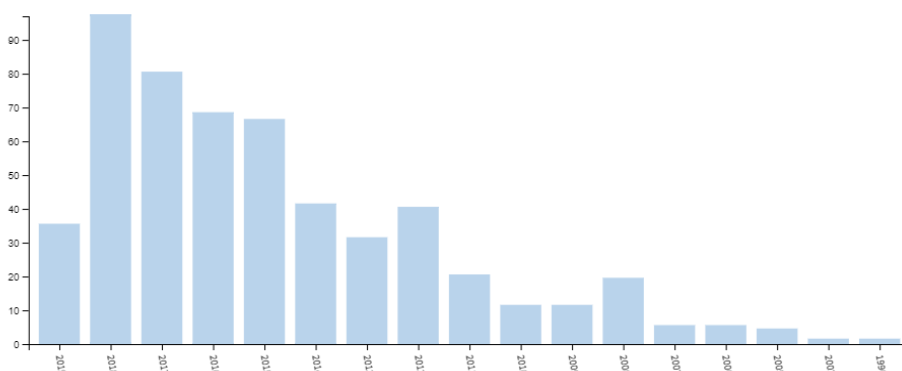
El objetivo del presente Trabajo de Fin de Grado ha sido realizar una revisión bibliográfica sobre el uso de sistemas nanométricos para el tratamiento de las enfermedades autoinmunes, concretamente en la Artritis Reumatoide.

4. METODOLOGÍA

El trabajo se ha llevado a cabo realizando una búsqueda bibliográfica en las principales bases de datos *Pubmed*, *SciFinder*, *Scopus* y *Web of Science*. En cada una de las bases de datos se introdujeron palabras claves en función del contenido de cada uno de los diferentes apartados del trabajo. En la primera parte del trabajo, la Introducción, se utilizaron términos como “Rheumatoid arthritis”, “nanotechnology”, “nanoparticles”, “active targeting and pasive targeting”.

Para el apartado de resultados y discusión se combinaron términos como “polymeric nanoparticles”, “receptors”, “ligands”, “nanomedicine”, “nanotherapy”, “target”.

Además, se han utilizado los filtros disponibles, como el año o el tipo de publicación, que ofrecen estas bases de datos para hacer una búsqueda más precisa. Los artículos tipo review y las publicaciones posteriores al año 2014 fueron los principales objetos de búsqueda, no obstante, se han incluido referencias de años anteriores debido a la necesidad de información más básica para aquellas partes más complejas. A modo de ejemplo si introducimos el término “Rheumatoid arthritis” en el buscador de *Web of Science*, este nos arrojará 171.876 resultados, para acotar la búsqueda refinamos con el término “nanoparticles” y el resultado ahora es de 535 artículos. Para hacer un análisis de la cronología de las publicaciones sobre el uso de NP en AR nuevamente refinamos la búsqueda, ahora por número de publicaciones por años y el resultado es el siguiente: el número de publicaciones aumenta progresivamente a partir del año 2014, alcanzando el mayor número de ellas en 2018 con un total de 97 publicaciones totales.



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Direccionamiento de nanovehículos para el tratamiento de AR

5.1 Estrategias de direccionamiento pasivo

Las dos características más notables de la AR son la alteración de los vasos sanguíneos y la presencia de un infiltrado de células inflamatorias, especialmente en la membrana sinovial, es por ello que estos fenómenos son utilizados como objetivo para el direccionamiento de las NP. La inflamación crónica que tiene lugar en la AR provoca la aparición de vasos sanguíneos altamente permeables. La estrategia de *direccionamiento pasivo* se basa en el efecto de retención y permeabilidad

umentadas, *EPR* (Enhanced Permeability and Retention), es decir la presencia de una abundante vascularización inmadura con grandes fenestraciones, hace que en estos tejidos se acumulen mayor cantidad de NP que en los tejidos sanos (figura 3) (Doello et al., 2015). La angiogénesis provoca que el tejido sinovial crezca rápidamente debido al aumento del aporte nutricional que ofrecen los capilares. Durante este proceso se forman amplios huecos de 700nm entre las uniones de las células endoteliales (Jain et al., 2013). El efecto *EPR* permite a los nanovehículos con tamaños apropiados penetrar a través de estos huecos y quedar atrapados permitiendo una liberación más lenta del fármaco; esto es indicativo de que el tamaño de los nanovehículos es un factor decisivo en el proceso de direccionamiento pasivo.

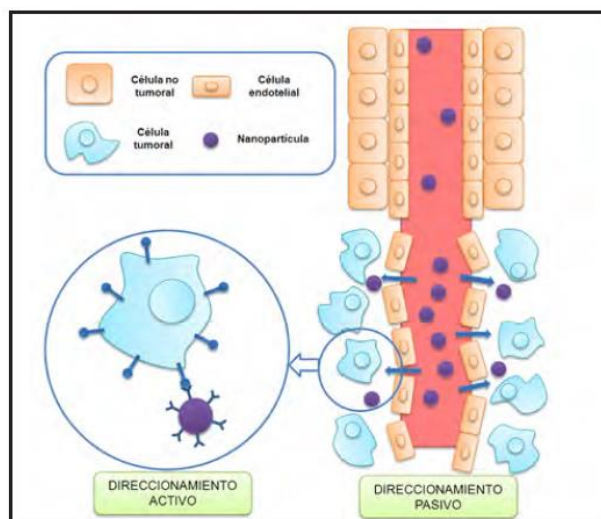


Figura 3. Diferentes tipos de “targeting” de las NP: El “targeting” pasivo y el “targeting” activo (Doello et al., 2015)

5.1.1. FAME

Dentro de este grupo terapéutico, son los nanovehículos de MTX los que más se han desarrollado para optimizar la eficacia terapéutica y el perfil de seguridad, e incluso la forma de administración. Estos nanotransportadores son capaces de dirigir los agentes terapéuticos específicamente hacia los tejidos inflamados y liberarlos lentamente durante un período prolongado de tiempo (Williams et al., 2000).

En un estudio reciente, se han diseñado nanoesferas de Au cargadas con MTX para ser empleadas en tratamiento fototérmico. A través de la aplicación de radiación

de infrarrojo, este nanosistema libera la carga en el lugar de interés. Para su diseño se han empleado copolímeros de PLGA pegilados (PEG-PLGA-Au/MTX). La NP se administró vía intraarticular seguida de una radiación fototérmica que permitía la liberación del fármaco “a demanda” en lugares específicos. El copolímero permitió una dispersión homogénea del fármaco en la NP, siendo su liberación el resultado de una combinación del proceso de difusión del fármaco junto con la degradación de la envoltura polimérica. Esta liberación controlada y continua, junto con las conocidas propiedades del PEG a favor de la estabilidad de la NP, permite una mayor actividad del MTX observándose un efecto antiinflamatorio prolongado en modelos de AR *in vitro* (Costa Lima and Reis, 2015).

5.1.2. Glucocorticoides (GC)

Al igual que en el caso del MTX, los GC han sido vehiculizados. Esto ha permitido una mejora en su eficacia terapéutica, lo que ha hecho posible una administración más reducida en cuanto a dosis y frecuencia, resultando en una disminución de la toxicidad sistémica. Estas mejoras han sido observadas en diferentes nanoestructuras liposómicas que encapsulaban glucocorticoides como la MP y la DEX (Bartneck et al., 2014; Ulmansky et al., 2012).

En esta misma línea, se ha estudiado la influencia de micelas poliméricas (PM), en el control de la liberación de GC; para ello se ha analizado la velocidad de liberación de la DEX tras su encapsulación en un núcleo micelar. Las micelas son partículas coloidales nanométricas, generalmente esféricas, con un interior hidrofóbico y un exterior hidrofílico. Los fármacos pueden ser atrapados en el interior de las micelas o adherirse covalentemente a las superficies de ellas (Oropesa-Nuñez and Italiano, 2012). La DEX, prácticamente insoluble en agua, fue conjugada con tres polímeros metacrílicos diferentes mediante enlaces tipo éster.

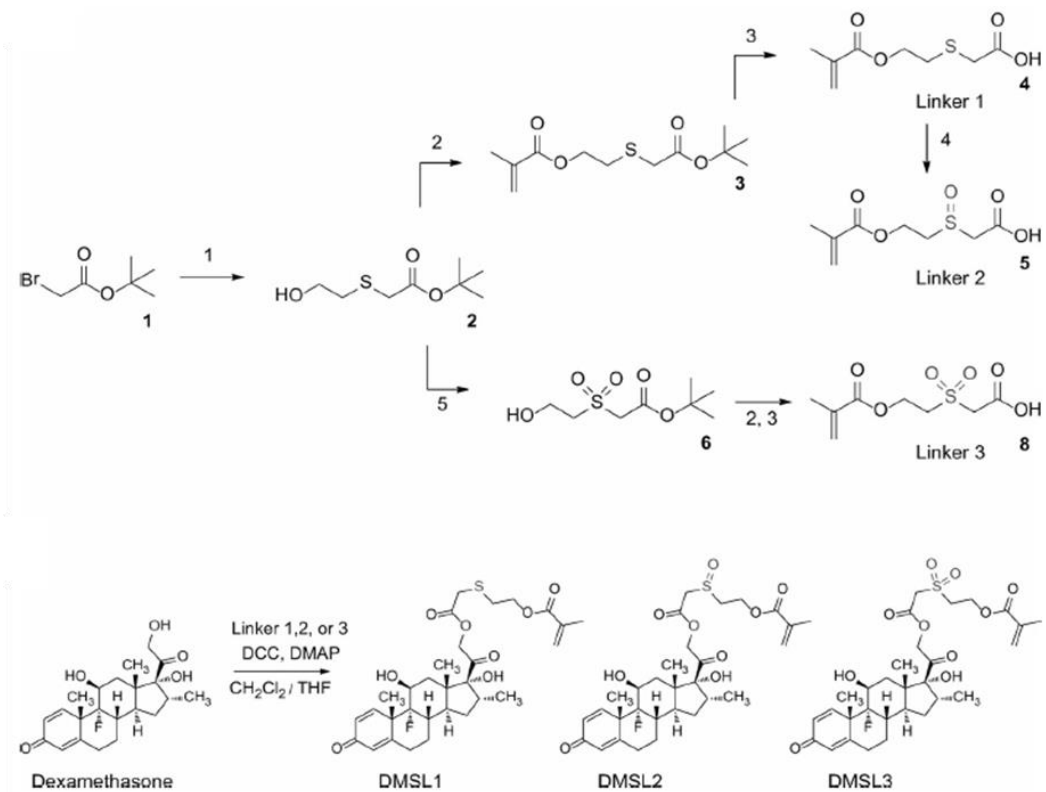


Figura 4. Ésteres polimerizables derivados de la DEX (Crielaard et al., 2012).

Estos polímeros hacen posible el control de la liberación porque contienen enlaces tioéteres con diferentes grados de oxidación, que les otorgan diferentes velocidades de hidrólisis de enlace (Crielaard et al., 2012) (figura 4).

Las PM se formaron a partir de copolímeros en bloque, compuesto por un bloque de PEG, hidrófilo y un bloque de poli-N-(2-hidroxipropil)metacrilamida-lactato (pHPMAmLac_n), termosensible, el cual dependiendo de la temperatura, presenta un comportamiento hidrófilo o hidrófobo. El copolímero se empleó a una temperatura en la que el bloque pHPMAmLac_n presentaba un comportamiento hidrofóbico, consiguiendo de esta manera que se formasen micelas compuestas por un núcleo de pHPMAmLac_n, hidrofóbico y una envoltura de PEG, hidrófila (figura 5).

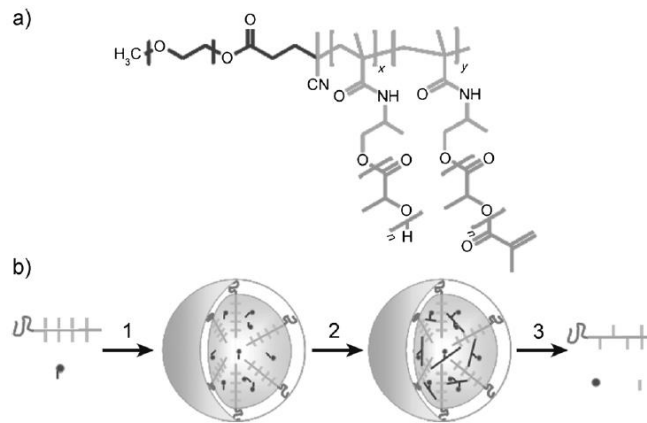


Figura 5. Esquema de representación de PM cargadas con DEX (Crielaard et al., 2012).

Los resultados mostraron que las PM enlazadas a través del éster de sulfona presentaban una tasa de liberación más alta, en condiciones fisiológicas (37°C, pH 7.4).

5.1.3. AINE

Dentro de los AINE, la indometacina ha sido utilizada como tratamiento antiinflamatorio en pacientes con AR. Es una molécula prácticamente insoluble en agua, y cuyos efectos secundarios sobre la mucosa intestinal se intensifican específicamente en personas que padecen esta enfermedad (Nagai and Ito, 2014). En 2008, Bernardi y su grupo, demostraron que la indometacina cargada en nanocápsulas (IndOH-NC) presentaba una efectividad más potente para disminuir la viabilidad y la proliferación celular de las líneas de glioma, que la indometacina libre (IndOH) y sin presentar efectos tóxicos significativos, ya que eran varios los estudios que habían sugerido que los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son agentes anticancerosos prometedores. Estas nanocápsulas cargadas se prepararon por deposición interfacial de polímero empleando para ello poli (ϵ -caprolactona).

En 2009, este mismo grupo, realizó una serie de experimentos con estas nanocápsulas para evaluar la toxicidad gastrointestinal de la IndOH-NC en relación con la IndOH, tras la administración a largo plazo de ambas formulaciones. Para ello se analizaron los intestinos de un grupo de ratas con AR inducida y determinaron los índices de daño por separado, en duodeno, yeyuno e íleon. Como se muestra en la

figura 6, los índices de lesión en los animales tratados con IndOH-NC se redujeron significativamente cuando fueron comparados con la IndOH.

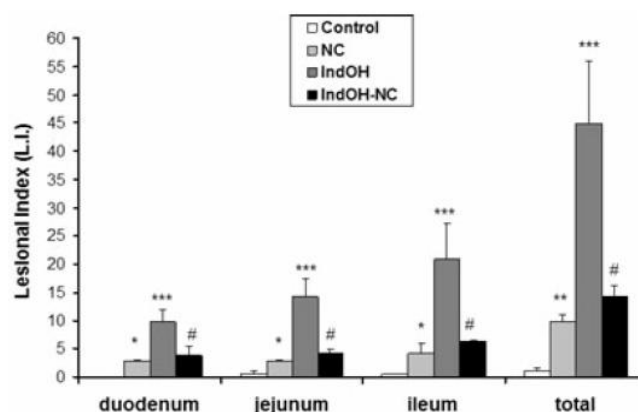


Figura 6. Índice de lesión intestinal en modelos de animales con artritis (Bernardi et al., 2009)

Sorprendentemente, los animales tratados con nanocápsulas no cargadas también mostraron un aumento de los índices de lesión gastrointestinal en comparación con los grupos control. Este efecto en nanocápsulas no cargadas no se había observado previamente, sin embargo, es importante tener en cuenta que en el presente estudio los animales fueron tratados crónicamente, y este período prolongado de tratamiento puede ser el causante de la toxicidad leve que se elucida en la figura 6 (Bernardi et al., 2009). IndOH-NC produjo un aumento de la eficacia antiinflamatoria en los modelos a largo plazo de la inflamación, junto con una seguridad gastrointestinal mejorada. Esta formulación podría representar una alternativa prometedora para el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas, con efectos indeseables reducidos.

5.1.4. Terapia biológica

Los agentes biológicos son diseñados para actuar de forma específica sobre las principales citocinas involucradas en la patogénesis de la AR. En lo que respecta a su direccionamiento, también han sido diseñado y sintetizado nanovehículos con el objetivo de reducir sus efectos adversos. En un estudio llevado a cabo durante 2014, se prepararon nanopartículas de oro (AuNP) recubiertas de ácido hialurónico (HA-AuNP), con el objetivo de vehicularizar tocilizumab (TCZ), anticuerpo monoclonal

humanizado que se une al receptor celular de la IL-6, la segunda citocina más combatida en el tratamiento de la AR. El HA es un componente que encontramos de forma natural en nuestro propio cuerpo, forma parte del cartílago y del líquido sinovial, por lo que se presenta como una sustancia biocompatible, biodegradable, sin efectos tóxicos e incapaz de originar respuesta inmunológica. Sus excelentes propiedades reológicas convierten al HA en un elemento ideal como lubricante y protector del cartílago (Lee et al., 2014), además de incrementar drásticamente la estabilidad de las nanopartículas de oro con tocilizumab (AuNP/TCZ).

Lee realizó estudios *in vivo* para estudiar la eficacia de HA-AuNP/TCZ en modelos animales con artritis inducida. Los animales fueron divididos en 4 grupos diferentes, y cada grupo fue inyectado con una formulación distinta: el grupo 1 recibió PBS (tampón fosfato salino), el 2, HA-AuNP, el 3, TCZ y el grupo 4, HA-AuNP/TCZ. La figura 7 muestra los resultados clínicos observados en las patas inflamadas. Aunque el grupo 2 muestra una pequeña mejora de la inflamación con el tiempo, las diferencias entre los grupos 1 y 2 no son significativas. Sin embargo, los grupos 3 (TCZ) y 4 (HA-AuNP/TCZ), si muestran una mayor supresión de la inflamación, siendo más evidentes los efectos terapéuticos en el grupo 4.

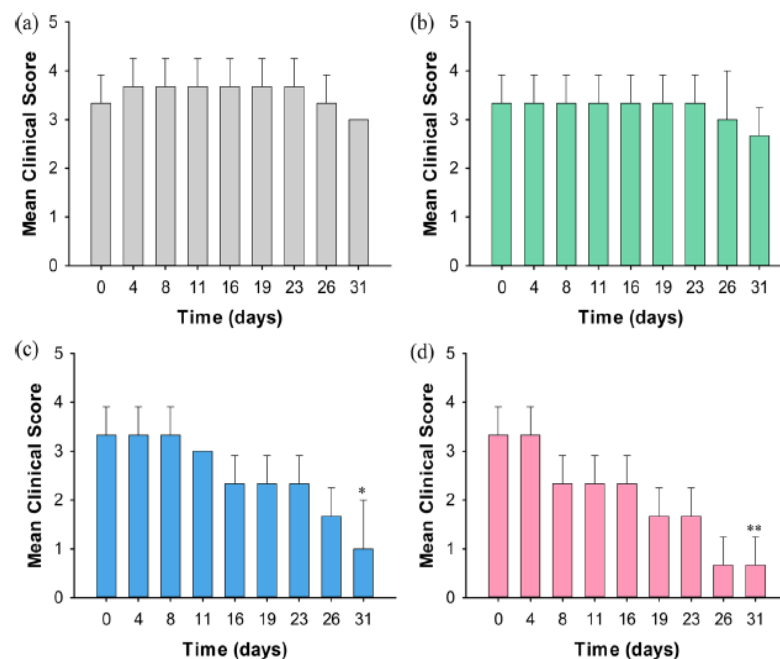


Figura 7. Resultados clínicos obtenidos tras la administración en las patas de animales con artritis inducida: (a) PBS, (b) HA-AuNP, (c) TCZ y (d) HA-AuNP/TCZ (Lee et al., 2014).

Para confirmar el efecto terapéutico de estas nanopartículas, HA-AuNP/TCZ, analizaron los niveles de IL-6 con detalle. Como se observa en la figura 8, el grupo 4 mostró, como se esperaba, una mejora significativa en la eficacia de la supresión de la citocina proinflamatoria.

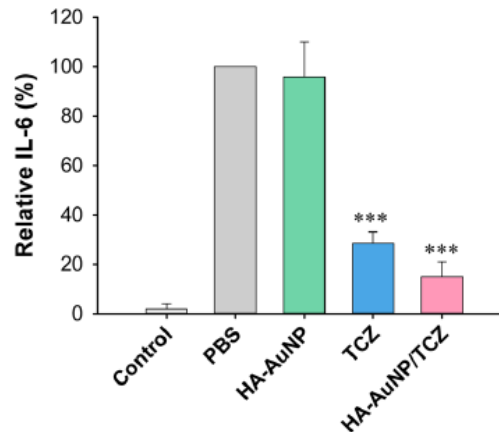


Figura 8. Niveles de IL-6 en el grupo control de animales sin artritis inducida y en los grupos con artritis inducida tras la administración de: PBS, HA-AuNP, TCZ y HA-AuNP/TCZ (Lee et al., 2014).

Conforme a todos estos resultados podemos confirmar que el nanosistema HA-AuNP puede ser usado para optimizar la eficacia terapéutica del agente biológico TCZ.

5.2 Estrategia de direccionamiento activo

Mientras las estrategias de direccionamiento pasivo sirven para acumular los fármacos de forma local en los tejidos inflamados, las estrategias de direccionamiento activo, sin embargo, mejoran la eficacia terapéutica debido a la alta afinidad que presentan los ligandos para unirse de forma específica a los receptores expresados o localizados en las células implicadas en la patogenia de la enfermedad. En la AR, se activan células implicadas en la inflamación (macrófagos y células T) y células endoteliales vasculares (VEC); las cuales cuando se activan, sufren una serie de cambios que las diferencian de las que se encuentran en los tejidos sanos, en la mayoría de los casos estos cambios afectan fundamentalmente a la expresión de dichos receptores (figura 9).

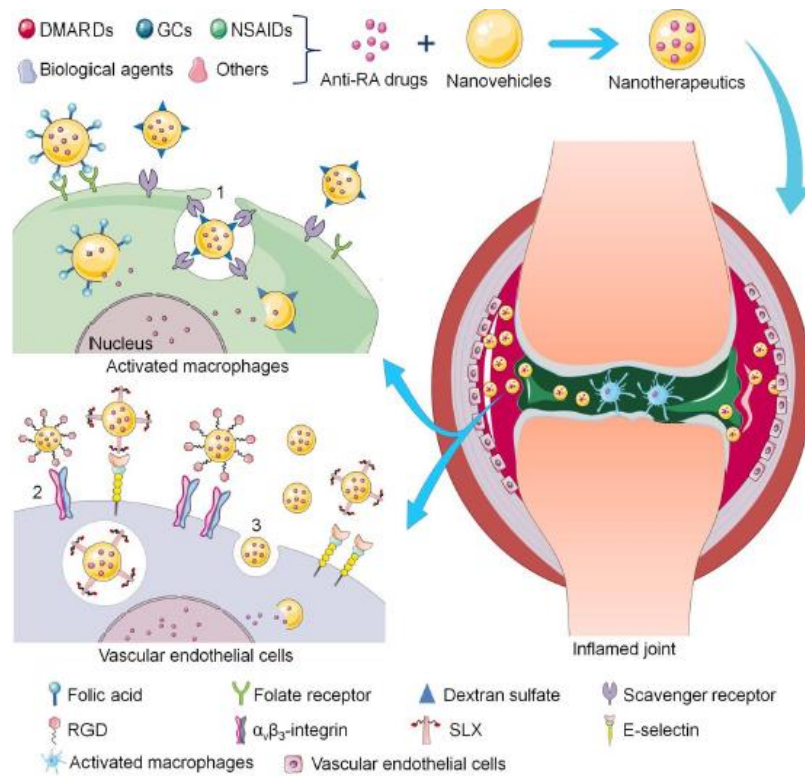


Figura 9. Ilustración esquemática del direccionamiento activo de varios fármacos encapsulados en nanovehículos (Yang et al., 2017).

Por lo tanto, la interacción entre ligandos y receptores dirige la biodistribución de los agentes terapéuticos y reduce la acumulación del fármaco en los tejidos sanos aún más de lo que el direccionamiento pasivo conseguía (Yang et al., 2017).

5.2.1 Células implicadas en la inflamación

Como ya hemos visto, las células implicadas en la inflamación son principalmente macrófagos y células T. Las estrategias de direccionamiento activo tienen como objetivo múltiples receptores específicos, como el receptor de folato (FR) (Low et al., 2008; Paulos et al., 2004), los receptores scavenger (SR) (Kim et al., 2013), y los receptores del péptido intestinal vasoactivo (VIP); los cuales están sobreexpresados en la superficie de dichas células.

5.2.1.1 FR

Los FR se unen al ácido fólico (FA) con alta afinidad. De entre los cuatro subtipos de FR, el FR β es el que se expresa en los macrófagos sinoviales activados y en

las células CD14+ de pacientes con AR. Van Der Heijden, publicó que los antagonistas de folato con alta afinidad por los FR se unen de forma selectiva a los macrófagos sinoviales de ratas con artritis adyuvante inducida con mayor afinidad en comparación con los macrófagos sinoviales de las ratas sanas. Por ello los FR se consideran un ligando potencial para el direccionamiento activo (Van Der Heijden et al., 2009).

El dextrano (Dex) es un polisacárido que presenta excelentes propiedades biológicas, es decir, favorable biocompatibilidad, biodegradabilidad y polifuncionalidad. Por ello se ha usado como biomaterial en nanosistemas transportadores de fármacos. Así en 2016, el equipo dirigido por el profesor Yang, sintetizaron un conjugado de Dex-MTX direccionado con folato (Dex-g-MTX/FA) junto con otra formulación no direccionada de MTX (Dex-g-MTX) para evaluar sus propiedades fisicoquímicas. Las formulaciones se prepararon a través de una reacción de condensación entre los grupos hidroxilo del Dex y los grupos carboxilo del MTX y/o FA y ambas poseían propiedades anfifílicas, debido a la hidrofilia del Dex y a la hidrofobicidad que exhiben MTX y/o FA. En ambiente acuoso, estos conjugados se autoensamblaron en micelas esféricas de 90nm de diámetro. Este tamaño fue apropiado para la acumulación mediante direccionamiento pasivo por el efecto EPR. Sin embargo, la importante supresión de la inflamación que se observó en los animales de experimentación se logró a través de la administración intravenosa de Dex-g-MTX/FA debido a la especificidad del FA para orientarlo hacia las células inflamatorias, las cuales redujeron la producción de citocinas proinflamatorias.

La biodistribución selectiva de las formulaciones se evaluó en un test de fluorescencia *ex vivo* como se muestra en la figura 10. Utilizando un agente de imagen para marcar los nanovehículos, se observó que Dex-g-MTX/FA producía una señal fluorescente mayor en las patas afectadas que la formulación que no estaba modificada con FA (Dex-g-MTX). El principal resultado a favor del direccionamiento conseguido fue la mejora en la eficacia terapéutica y el alivio de los síntomas de la artritis (Yang et al., 2016). Otra de las mejoras observadas con respecto al vehículo no direccionado fue en relación al perfil de liberación. Como observamos en la figura 10 el nanovehículo dirigido con FA mejoró la farmacocinética, observándose una liberación de Dex-g-MTX/FA más lenta, posiblemente debido a la hidrofobicidad adicional que aporta el FA.

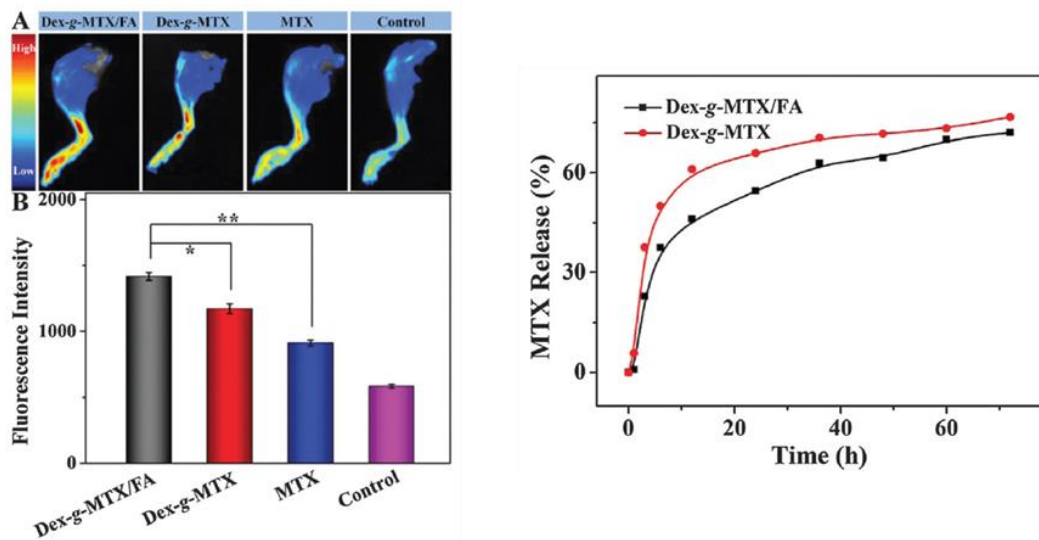


Figura 10. (Izq) Imágenes de las articulaciones del test ex vivo y promedio de la señal detectada; (Dch) liberación de MTX desde los nanovehículo Dex-g-MTX/FA y Dex-g-MTX (Yang et al., 2016)

5.2.1.2 SR

Los SR, son una familia de glicoproteínas de superficie en macrófagos, que participan en la captación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas y acetiladas. En condiciones inflamatorias se estimula la expresión de los SR en la superficie de los macrófagos y desencadenan la internalización de la albúmina sérica, las macromoléculas polianiónicas y las LDL oxidadas (LI and Glass, 2002).

El sulfato de dextrano (DS) reconoce específicamente los SR, particularmente los de clase A, a través de la interacción ligando-receptor. Se ha preparado un copolímero anfifílico, usando DS como bloque hidrofílico y policaprolactona (PCL) como bloque hidrofóbico. El copolímero anfifílico DS-b-PCL sufrió un proceso de autoensamblaje en condiciones acuosas que dio lugar a la nanopartícula polimérica. La biodistribución del conjugado se analizó en ratones con artritis inducida por colágeno (CIA), como principal parámetro de eficacia del direccionamiento. La señal de fluorescencia de las patas traseras fue más intensa en los ratones con CIA que en los ratones salvajes donde solo se detectó una distribución mínima del fármaco. La intensidad de fluorescencia en las articulaciones afectadas fue casi 10 veces la intensidad en los ratones salvajes (figura 11) (Kim et al., 2013).

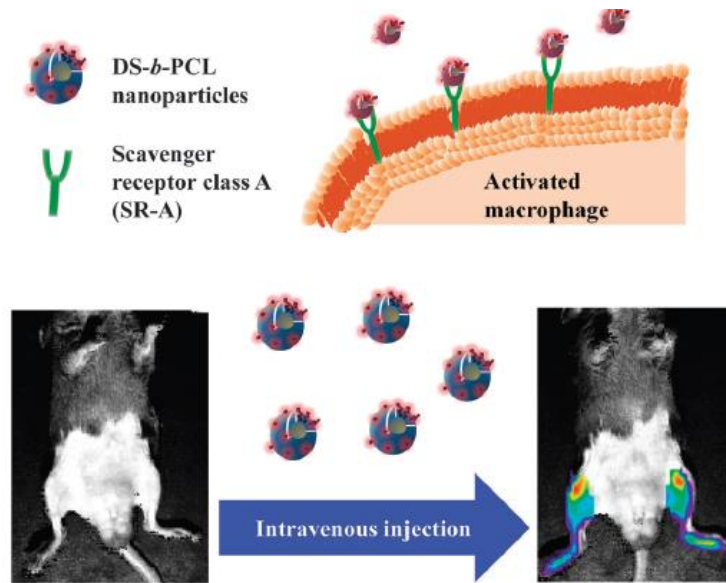


Figura 11. Mecanismo de direccionamiento usando NP de DS-b-PCL (Kim et al., 2013).

En un estudio más reciente, Yang y colaboradores sintetizaron un conjugado de MTX y lo direccionaron de forma activa con DS, DS-g-MTX (figura 12), y utilizaron Dex-g-MTX como control. La captación celular *in vitro* y la acumulación *in vivo* en los sitios inflamados aumentaron evidentemente en DS-g-MTX en comparación con Dex-g-MTX y MTX libre. Además, la formulación direccionada no solo redujo la citotoxicidad en los tejidos sanos, sino que también optimizó el efecto antiinflamatorio de MTX (Yang et al., 2017). Debido a todos estos hallazgos, se establece la unión de DS a SR como una estrategia de direccionamiento efectiva en la terapia de AR.

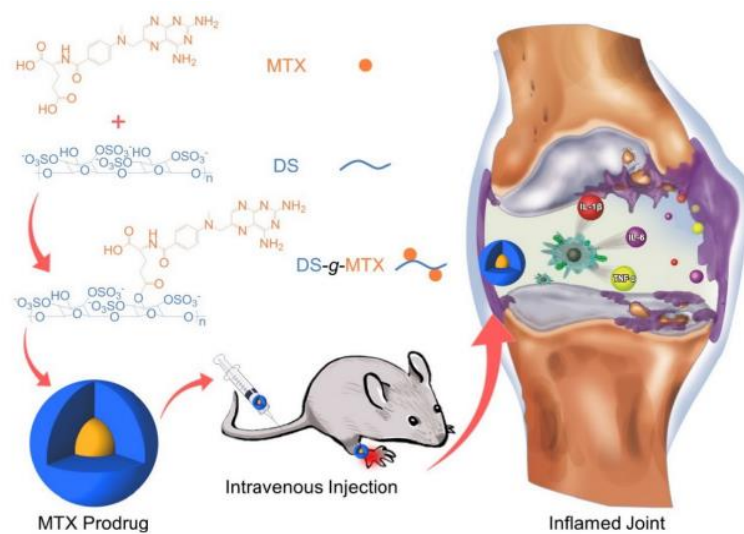


Figura 12. Esquema de la síntesis y administración de DS-g-MTX en ratones CIA (Yang et al., 2017).

5.2.1.3 Receptores del VIP

En la AR los receptores de VIP están sobreexpresados en células T y en varias células inflamatorias, como macrófagos y sinoviocitos (Delgado et al., 2004). VIP es un neuropéptido de 28 aminoácidos, con alta afinidad por estos receptores, que presenta una amplia biodistribución in vivo y múltiples funciones, participando, en la regulación de la homeostasis del sistema inmunitario y en la regulación de la inflamación (Souza-Moreira et al., 2011). Sin embargo, el uso en clínica del VIP libre es inviable, primero porque sufre degradación enzimática rápida y segundo, porque produce una bajada aguda de la tensión arterial. Para solucionar estos problemas, el grupo del profesor Koo, fabricó micelas esféricas estabilizadas (SSM) con PEG. En este estudio demostraron que las SSM-VIP se dirigían preferentemente a las articulaciones inflamadas y mejoraban los signos de la enfermedad a bajas dosis. Lo más importante fue, que las SSM-VIP eliminaban completamente los efectos hipotensores del VIP libre. Además, frente a las micelas convencionales, estas SSM-VIP son relativamente estables debido a la concentración mínima, pero eficaz, de PEG. A partir de este momento, los investigadores comenzaron a interesarse en el VIP y sus receptores como estrategia en el direccionamiento activo de fármacos (Koo et al., 2011).

En estudios recientes, han preparado SSM cubierta con VIP (SSM-VIP) con el objetivo de crear un nanotransportador para la camptotecina (CPT), un fármaco citostático que se usa en pacientes con AR debido a su capacidad de inhibir la proliferación de sinoviocitos, metaloproteinasas de matriz, la expresión de condrocitos y el fenómeno de angiogénesis. El conjugado de VIP-CPT-SSM mostró una liberación más sostenida y una remisión acelerada en ratones con artritis inducida por colágeno, en comparación con el conjugado no direccionado CPT-SSM. Además, en el grupo VIP-CPT-SSM, los efectos secundarios del fármaco se redujeron junto con la disminución de la dosis requerida de CPT (Sethi et al., 2013).

5.2.2 VEC

La angiogénesis ocurre en la etapa temprana de la AR y con frecuencia conduce a la infiltración inflamatoria y la proliferación del pannus sinovial, que en última instancia es el causante de la erosión gradual del cartílago e incluso del hueso

subyacente (Koch, 2000). Además de proporcionar transporte de oxígeno y nutrientes para facilitar la proliferación del tejido sinovial, la angiogénesis también favorece la adhesión y el reclutamiento de células inflamatorias a las áreas de sinovitis y acelera la secreción de citocinas inflamatorias (Koch, 2003).

La sobreexpresión de las moléculas de adhesión, como la integrina $\alpha_v\beta_3$ y la E-selectina, permite distinguir a las VEC en los sitios inflamados, de los tejidos sanos, lo que hace que las VEC se conviertan en posibles objetivos en las estrategias de direccionamiento activo.

5.2.2.1 Integrina $\alpha_v\beta_3$

La integrina $\alpha_v\beta_3$ es un miembro de la familia de proteínas integrales asociadas con la regulación positiva de la angiogénesis. En el tejido sinovial de la AR, la integrina $\alpha_v\beta_3$ se encuentra sobreexpresada en las VEC de forma desproporcionada en comparación con los tejidos sanos. En base a este hecho, se adoptó la integrina $\alpha_v\beta_3$ como otro biomarcador para el sistema de direccionamiento activo de fármacos. La fumagilina (FUM) es una micotoxina producida por *Aspergillus fumigatus* que inhibe la angiogénesis, sin embargo, las dosis requeridas para obtener efectos terapéuticos producen neurotoxicidad. Estudios llevados a cabo por el profesor Zhou, permitió desarrollar una NP polimérica de perfluorocarbono que fueron direccionadas de forma activa hacia la integrina con un antagonista péptidomimético de la vitronectina, un ligando de unión a la integrina $\alpha_v\beta_3$.

Los ratones tratados con estas NP, mostraron un estado de recuperación superior, caracterizado por una reducción muy marcada de los marcadores de la AR y del grosor del tobillo en comparación con el grupo control no tratado o tratado con las NP no cargadas a los niveles que se muestran en la figura 13.

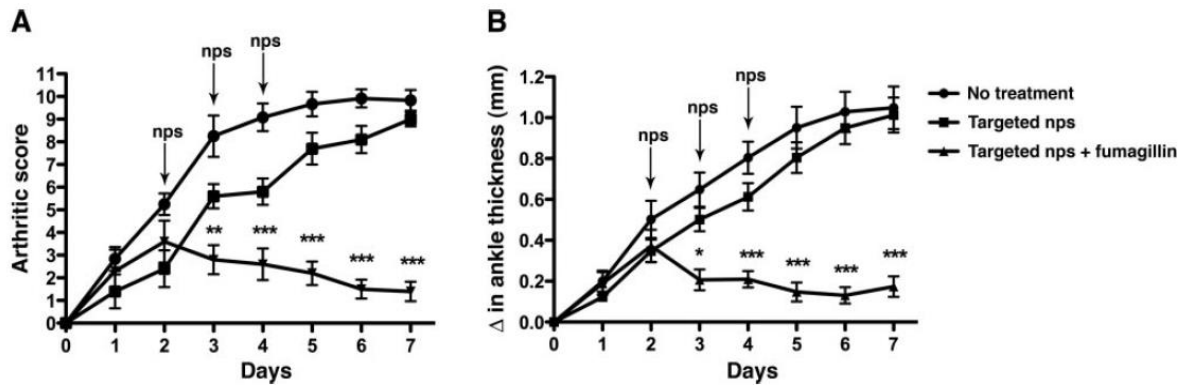


Figura 13. Gradación en la AR y en el grosor del tobillo de las ratas a las que se le ha inducido AR (Zhou et al., 2009).

En la figura 14 se observa la disminución del número de leucocitos y vasos sanguíneos, y el mantenimiento de la integridad del proteoglicano que son representativos de la efectividad de las NP cargada con FUM. Por otra parte, la nanopartícula dirigida a la integrina $\alpha\beta3$ se acumuló específicamente en las patas afectadas por la artritis, mientras que la distribución fuera del objetivo del tratamiento se evitó en gran medida (Zhou et al., 2009). Por lo tanto, se llegó a la conclusión de que esta NP podría reconocer específicamente y administrar medicamentos a las articulaciones afectadas mediante estrategias de direccionamiento activo, y conducir a una reducción significativa de la inflamación y la angiogénesis.

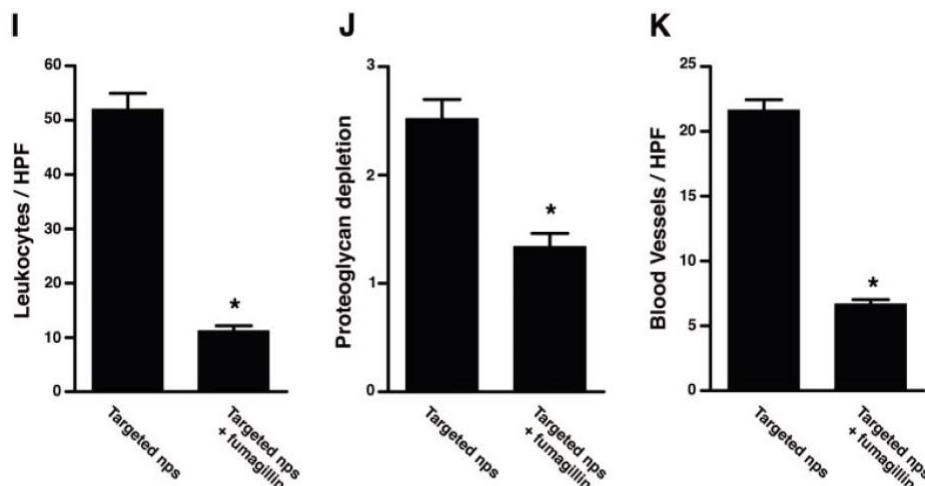


Figura 14. Representación de la variación del número de leucocitos, de proteoglicano y el número vasos sanguíneos (Zhou et al., 2009).

5.2.2.2 E-Selectina

La E-selectina es una glicoproteína que pertenece a la familia de la selectinas que se sobreexpresa en células endoteliales en condiciones inflamatorias y de neovascularización (Barthel et al., 2007). Sin embargo, la E-selectina no se detecta en tejidos sanos, lo que la convierte en otra diana molecular favorable para el direccionamiento activo para la AR. Por otro lado, el Sialyl Lewis X (SLX) es un carbohidrato que se expresa en la superficie de los leucocitos y que funciona como ligando de unión a E-selectina, mediando en la adhesión de aquellos al endotelio. Es por ello por lo que se han preparado liposomas con SLX y se han comparado con liposomas no marcados. En esta ocasión ambos tipos de liposomas se han administrado por vía intravenosa a ratones con artritis inducida, el 5º día después de la inducción, cuando los índices inflamatorios fueron máximos. Tras 24 h de la administración de liposomas, los animales se sacrificaron. La microscopía electrónica de transmisión de los tejidos sinoviales detectó dentro de los lisosomas de los macrófagos sinoviales grupo de liposomas SLX. (Maehara et al., 2014). Los resultados del estudio demostraron que los liposomas SLX dirigidos principalmente a la E-selectina en células endoteliales activadas podrían potencialmente liberar su contenido en células inflamatorias alrededor de los vasos sanguíneos sinoviales, en las articulaciones artríticas.

6. CONCLUSIÓN

- a. La AR es una enfermedad autoinmune que presenta una patogénesis compleja en la que se ocasiona un importante daño óseo y que puede llegar a producir discapacidad física.
 - i. A pesar de los avances considerables en la investigación de la AR, ni el tratamiento en monoterapia ni la terapia combinada de fármacos han obtenido resultados satisfactorios.
- b. El uso de la nanotecnología ofrece la oportunidad de desarrollar un nuevo modelo terapéutico.
 - i. Se han obtenido excelentes avances y logros, tanto a nivel del laboratorio como en la práctica clínica.

- c. Para abordar estos problemas, se han desarrollado nanotransportadores.
 - i. Todos los modelos experimentales reflejan mejoras en la efectividad, sobre el tratamiento convencional.
- d. Con el objetivo de mejorar la capacidad de direccionamiento de los nanovehículos se están estudiando ligandos específicos de unión a receptores que son expresados o secretados por las células implicadas en la patogenia de la AR.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alexis F, Pridgen E, Molnar LK, Farokhzad OC. Factors Affecting the Clearance and Biodistribution of Polymeric Nanoparticles. *Mol Pharm*. 2008; 5(4):505–15.
- Ambriz Murillo Y, Menor Almagro R, Campos-González ID, Cardiel MH. Calidad de vida relacionada con la salud en artritis reumatoide, osteoartritis, diabetes mellitus, insuficiencia renal terminal y población geriátrica. Experiencia de un Hospital General en México. *Reumatol Clin*. 2015; 11(2):68–72.
- Anselmo AC, Mitragotri S. Cell-mediated delivery of nanoparticles: Taking advantage of circulatory cells to target nanoparticles. *J Control Release*. 2014; 190(2):531–41.
- Aston R, Saffie-siebert R, Canham L, Ogden J. Nanotechnology Applications for Drug Delivery. *Pharm Technol*. 2005; 17(4):21–8.
- Barthel SR, Gavino JD, Descheny L, Dimitroff CJ. Targeting selectins and selectin ligands in inflammation and cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2007; 11(11):1473–91.
- Bartneck M, Peters FM, Warzecha KT, Bienert M, van Bloois L, Trautwein C, et al. Liposomal encapsulation of dexamethasone modulates cytotoxicity, inflammatory cytokine response, and migratory properties of primary human macrophages. *Nanomed-Nanotechnol*. 2014; 10(6):1209–20.
- Bernardi A, Zilberstein AACCV, Jäger E, Campos MM, Morrone FB, Calixto JB, et al. Effects of indomethacin-loaded nanocapsules in experimental models of inflammation in rats. *Br J Pharmacol*. 2009; 158(4):1104–11.
- Cajas LJ, Casallas A, Medina YF, Quintana G, Rondón F. Pannus y artritis reumatoide: evolución histórica y fisiopatológica. *Rev Colomb Reumatol*. 2019; 26(2):118–28.

- Carbonell J, Cobo T, Balsa A, Descalzo MÁ, Carmona L. The incidence of rheumatoid arthritis in Spain: Results from a nationwide primary care registry. *Rheumatology*. 2008; 47(7):1088–92.
- Costa Lima SA, Reis S. Temperature-responsive polymeric nanospheres containing methotrexate and gold nanoparticles: A multi-drug system for theranostic in rheumatoid arthritis. *Colloids Surfaces B*. 2015; 133:378–87.
- Crielaard BJ, Rijcken CJF, Quan L, Van Der Wal S, Altintas I, Van Der Pot M, et al. Glucocorticoid-loaded core-cross-linked polymeric micelles with tailorable release kinetics for targeted therapy of rheumatoid arthritis. *Angew Chem Int. Ed*. 2012; 51(29):7254–8.
- Delgado M, Pozo D, Ganea D. The significance of vasoactive intestinal peptide in immunomodulation. *Pharmacol Rev*. 2004; 56(2):249–90.
- Doello K, Cabeza L, Ortiz R, Arias JL, Melguizo C, Prados J. Magnetic Nanoparticules in Cancer Diagnosis and Treatment. *Actual Medica*. 2015; 100(796):139–44.
- Dolati S, Sadreddini S, Rostamzadeh D, Ahmadi M, Jadidi-Niaragh F, Yousefi M. Utilization of nanoparticle technology in rheumatoid arthritis treatment. *Biomed Pharmacother*. 2016; 80:30–41.
- García-Lechuz Moya JM. Los agentes infecciosos en la etiopatogenia de las enfermedades reumáticas. *Reumatol Clin*. 2008; 4(2):29–34.
- García-Sevillano L. Avances en artritis reumatoide. *An La Real Acad Nac Farm*. 2014; 80(1):126–50.
- García De Veas JL. Eficacia de los marcadores bioquímicos para el diagnóstico y pronóstico de la Artritis Reumatoide en pacientes que acuden a una consulta de atención especializada. Sevilla; 2015.
- Hoes JN, Jacobs JWG, Buttgerit F, Bijlsma JWI. Current view of glucocorticoid co-therapy with DMARDs in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2010; 6(12):693–702.
- Jain S, Doshi AS, Iyer AK, Amiji MM. Multifunctional nanoparticles for targeting cancer and inflammatory diseases. *J Drug Target*. 2013; 21(10):888–903.
- Janakiraman K, Krishnaswami V, Rajendran V, Natesan S, Kandasamy R. Novel nano therapeutic materials for the effective treatment of rheumatoid arthritis-recent insights. *Mater Today Commun*. 2018; 17(9):200–13.

- Khan ZA, Tripathi R, Mishra B. Methotrexate: a detailed review on drug delivery and clinical aspects. *Expert Opin Drug Deliv.* 2012; 9(2):151–69.
- Kim SH, Kim JH, You DG, Saravanakumar G, Yoon HY, Choi KY, et al. Self-assembled dextran sulphate nanoparticles for targeting rheumatoid arthritis. *Chem Commun.* 2013; 49(88):10349–51.
- Koch AE. Angiogenesis as a target in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2003; 62(2):60–7.
- Koch AE. The role of angiogenesis in rheumatoid arthritis: recent developments. *Ann Rheum Dis.* 2000; 59(1):65–71.
- Koo OMY, Rubinstein I, Önyüksel H. Actively targeted low-dose camptothecin as a safe, long-acting, disease-modifying nanomedicine for rheumatoid arthritis. *Pharm Res.* 2011; 28(4):776–87.
- Lechuga LM. Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud. 9^o ed. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2010. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10261/44635>
- Lee H, Lee M-Y, Bhang SH, Kim B-S, Kim YS, Ju JH, et al. Hyaluronate-gold nanoparticle/tocilizumab complex for the treatment of rheumatoid arthritis. *ACS Nano.* 2014; 8(5):4790–8.
- LI AC, Glass CK. The macrophage foam cell as a target. *Nat Med.* 2002; 8(11):1235–42.
- Liao KP, Alfredsson L, Karlson EW. Environmental influences on risk for rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.* 2009; 21(3):279–83.
- Low PS, Henne WA, Doorneweerd DD. Discovery and development of folic-acid-based receptor targeting for imaging and therapy of cancer and inflammatory diseases. *Acc Chem Res.* 2008; 41(1):120–9.
- Maehara A, Nishida K, Furutani M, Matsumoto E, Ohtsuka A, Ninomiya Y, et al. Light and electron microscopic detection of inflammation-targeting liposomes encapsulating high-density colloidal gold in arthritic mice. *Inflamm Res.* 2014; 63(2):139–47.
- Nagai N, Ito Y. Effect of Solid Nanoparticle of Indomethacin on Therapy for Rheumatoid Arthritis in Adjuvant-Induced Arthritis Rat. *Biol Pharm Bull.* 2014; 37(7):1109–18.
- Oropesa-nuñez R, Italiano I. Las nanopartículas como portadores de fármacos : características y perspectivas. *CENIC Cienc Biol.* 2012; 43(3):21.
- Paulos CM, Turk MJ, Breur GJ, Low PS. Folate receptor-mediated targeting of

- therapeutic and imaging agents to activated macrophages in rheumatoid arthritis. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004; 56(8):1205–17.
- Peláez-Ballestas I, Sanin LH, Moreno-Montoya J, Alvarez-Nemegyei J, Burgos-Vargas R, Garza-Elizondo M, et al. Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *J Rheumatol.* 2011; 38(86):3–6.
 - Pham CTN. Nanotherapeutic approaches for the treatment of rheumatoid arthritis. *Wires Nanomed Nanobi.* 2011; 3(6):607–19.
 - Prasad LK, O'Mary H, Cui Z. Nanomedicine delivers promising treatments for rheumatoid arthritis. *Nanomedicine.* 2015; 10(13):2063–74.
 - Sáez V, Hernández E, Angulo LS, Katime I. Liberación controlada de fármacos. micropartículas. *Rev Iberoam Polímeros.* 2004; 5(2):87–101.
 - Salliot C, Finckh A, Katchamart W, Lu Y, Sun Y, Bombardier C, et al. Indirect comparisons of the efficacy of biological antirheumatic agents in rheumatoid arthritis in patients with an inadequate response to conventional disease-modifying antirheumatic drugs or to an anti-tumour necrosis factor agent: A meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70(2):266–71.
 - Sethi V, Rubinstein I, Kuzmis A, Kastrissios H, Artwohl J, Onyuksel H. Novel, Biocompatible, and Disease Modifying VIP Nanomedicine for Rheumatoid Arthritis. *Mol Pharm.* 2013; 10(2):728–38.
 - Singh JA Singh JA. Adverse effects of biologics: a network meta-analysis and Cochrane overview. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2011. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008794.pub2>
 - Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet.* 2016; 388:2023–38.
 - Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Ann Rheum Dis.* 2014; 73(3):492–509.
 - Souza-Moreira L, Campos-Salinas J, Caro M, Gonzalez-Rey E. Neuropeptides as pleiotropic modulators of the immune response. *Neuroendocrinol.* 2011; 94(2):89–100.
 - Ulbrich W, Lamprecht A. Targeted drug-delivery approaches by nanoparticulate carriers in the therapy of inflammatory diseases. *J R Soc Interface.* 2010; 7(1):55–66.

- Ulmansky R, Turjeman K, Baru M, Katzavian G, Harel M, Sigal A, et al. Glucocorticoids in nano-liposomes administered intravenously and subcutaneously to adjuvant arthritis rats are superior to the free drugs in suppressing arthritis and inflammatory cytokines. *J Control Release*. 2012; 160(2):299–305.
- Van Der Heijden JW, Oerlemans R, Dijkmans BAC, Qi H, Van Der Laken CJ, Lems WF, et al. Folate receptor β as a potential delivery route for novel folate antagonists to macrophages in the synovial tissue of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum*. 2009; 60(1):12–21.
- Wang EC, Wang AZ. Nanoparticles and their applications in cell and molecular biology. *Integr Biol*. 2014; 6(1):9–26.
- Williams A, Goodfellow R, Topley N, Amos N, Williams B. The suppression of rat collagen-induced arthritis and inhibition of macrophage derived mediator release by liposomal methotrexate formulations. *Inflamm Res*. 2000; 49(4):155–61.
- Yang M, Ding J, Feng X, Chang F, Wang Y, Gao Z, et al. Scavenger receptor-mediated targeted treatment of collagen-induced arthritis by dextran sulfate-methotrexate prodrug. *Theranostics*. 2017a; 7(1):97–105.
- Yang M, Ding J, Zhang Y, Chang F, Wang J, Gao Z, et al. Activated macrophage-targeted dextran-methotrexate/folate conjugate prevents deterioration of collagen-induced arthritis in mice. *J Mater Chem B*. 2016; 4(12):2102–13.
- Yang M, Feng X, Ding J, Chang F, Chen X. Nanotherapeutics relieve rheumatoid arthritis. *J Control Release*. 2017; 252:108–24.
- Yuan F, Quan L, Cui L, Goldring SR, Wang D. Development of macromolecular prodrug for rheumatoid arthritis. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012; 64(12):1205–19.
- Zhou H, Chan HW, Wickline SA, Lanza GM, Pham CTN. $\alpha_v\beta_3$ -Targeted nanotherapy suppresses inflammatory arthritis in mice. *FASEB J*. 2009; 23(9):2978–85.