



*Universidad de Sevilla*

*Facultad de Farmacia*

**Trabajo de Fin de Grado**

**Grado en Farmacia**

**“LIGANDOS DE RECEPTORES DE SUPERFICIE COMO AGENTES DE DIRECCIONAMIENTO EN EL TRATAMIENTO SELECTIVO DEL CÁNCER”**

**Presentado por:** D. José Antonio López Garrido

Sevilla, septiembre 2017

**Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica. Área de Química Orgánica**

**Tutora:** Profa. Victoria Valdivia Giménez

Revisión bibliográfica

Aula multimedia (Facultad de farmacia). 22 de septiembre de 2017.



## **Resumen**

La revisión bibliográfica que se presenta en este trabajo de fin de grado, trata sobre los ligandos de receptores de superficie como agentes de direccionamiento de sistemas nanotransportadores en el tratamiento selectivo del cáncer. Así, en primer lugar, se expondrán las dos principales estrategias de direccionamiento utilizadas en los últimos años para el tratamiento selectivo del cáncer, centrándonos en los avances logrados utilizando la estrategia activa. Posteriormente, se mostrarán los ejemplos más relevantes de todos los encontrados en la bibliografía en los que se utilizan ligandos de diferente naturaleza como agentes de direccionamiento y sus ventajas con respecto a la quimioterapia clásica, así como con respecto al uso de nanotransportadores no funcionalizados con ligandos de receptores específicos.

Finalmente, se presentarán las conclusiones extraídas de esta revisión bibliográfica, así como las perspectivas futuras.

## **Palabras clave**

Nanoparticles · Cancer · Targeted · Nanocarriers · Active targeting

## Índice

Resumen.....	3
Palabras clave.....	3
1. Introducción .....	5
2. Objetivos .....	5
3. Metodología .....	6
4. Resultados y discusión .....	6
4.1. Orientación pasiva.....	7
4.2. Orientación activa .....	9
4.2.1. Albúmina.....	9
4.2.2. Ácido Hialurónico.....	10
4.2.3. Biotina.....	13
4.2.4. Ácido fólico.....	14
4.2.5. Transferrina .....	16
4.2.6. Aptámeros .....	18
4.2.7. Anticuerpos monoclonales .....	19
4.2.8. Péptidos .....	23
5. Conclusiones y perspectivas futuras.....	27
6. Bibliografía .....	29

## **1. Introducción**

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo; en 2015, ocasionó 8,8 millones de defunciones. Casi una de cada seis defunciones en el mundo se debe a esta enfermedad. (OMS, 2017). Solo en España, en 2012 se estimó que aproximadamente 102.762 muertes eran debidas al cáncer (IARC, 2012). No obstante, a pesar del progreso farmacológico, el impacto clínico de la quimioterapia ha sido relativamente escaso. Esta estrategia de usar quimioterápicos clásicos cambió con el descubrimiento de las redes de señalización celular implicadas en la diferenciación celular y el control de la proliferación, lo que permitió el diseño de fármacos que afectan específicamente a esas redes, abriendo la puerta al uso de la terapia dirigida a finales de la década de 1990 (Chabner y Roberts., 2005). Las terapias dirigidas pueden emprenderse mediante abordajes directos que alteren procesos de señalización celular específicos o mediante aproximaciones indirectas usando dianas moleculares para liberar selectivamente moléculas citotóxicas (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). En este trabajo se centrará la atención en la aproximación indirecta mediante el uso de nanopartículas transportadoras de fármacos anticancerosos.

Después de décadas de desarrollo tecnológico, los sistemas de vectorización de fármacos usando nanopartículas han comenzado a mostrar resultados prometedores. En comparación con los quimioterápicos tradicionales, la inclusión de fármacos anticancerosos en nanopartículas ofrece muchas ventajas con respecto a la quimioterapia tradicional, incluyendo: (i) una mejor administración de fármacos que son poco solubles en agua, aumentando la dosis de estos; (ii) una mejor protección del fármaco en ambientes desfavorables (por ejemplo, el ambiente ácido del estómago o los altos niveles enzimáticos en el torrente sanguíneo); (iii) administración dirigida de fármacos a células tumorales específicas disminuyendo los efectos secundarios sistémicos; (iv) liberación controlada de fármacos durante un periodo de tiempo o incluso liberación bajo demanda en respuesta a estímulos; (v) coadministración de múltiples tipos de fármacos y/o agentes de diagnóstico (Xia y cols., 2014).

## **2. Objetivos**

El objetivo de este TFG es llevar a cabo una revisión bibliográfica actualizada que nos permita conocer, así como clasificar, los principales ligandos de receptores de superficie que se utilizan como agentes de direccionamiento de sistemas nanotransportadores para el tratamiento selectivo del cáncer, tanto aquellos que se encuentran en fase de comercialización como los que aún están en fase de ensayos clínicos. Por último, se analizarán sus ventajas con respecto a la estrategia pasiva, así como las nuevas perspectivas de futuro en el uso de estas formulaciones.

### **3. Metodología**

La búsqueda bibliográfica que se ha llevado a cabo para realizar este trabajo de revisión, tuvo lugar entre Enero y Junio de 2017, para comenzar dicha búsqueda, utilizamos la conexión que, a través del catálogo de Fama de la Universidad de Sevilla, se puede realizar a la base de datos científica ISI Web of Science, en el buscador de esta base de datos científica, se introdujeron una serie de palabras clave que nos llevaron, mediante diversos procesos de “refinado” de búsqueda a un total de 3 artículos de revisión de los cuales se extrajo, a partir de la bibliografía citada en ellos, todos los demás artículos y libros que se han citado y utilizado para realizar este trabajo.

Por otro lado, la mayor parte de los esquemas y figuras que aparecen, se han realizado, basándonos en los artículos consultados y con el programa ChemDraw professional 16.0 al que tienen acceso a través de una licencia campus todos los miembros de la Universidad de Sevilla.

Por último, las palabras clave utilizadas para comenzar la búsqueda fueron: nanocarriers, cancer therapy y active targeting.

### **4. Resultados y discusión**

Los nanotransportadores son sistemas nanotecnológicos capaces de transportar agentes anticancerosos de manera que permiten a estas moléculas evitar los tejidos normales y acumularse en las células cancerosas, logrando una concentración citotóxica varias veces mayor en dichas células tumorales que en células normales. (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). Como se muestra en la Figura 1, las nanopartículas utilizadas para la administración de fármacos pueden sintetizarse a partir de materiales blandos (orgánicos o poliméricos) o duros (inorgánicos). Se han desarrollado muchos tipos diferentes de sistemas transportadores presentando diversas formas tales como conjugados proteína-fármaco, liposomas, nanopartículas compuestas por polímeros, nanopartículas híbridas polímero-lípidos, dendrímeros, hidrogeles y nanopartículas inorgánicas. (Xia y cols., 2014).

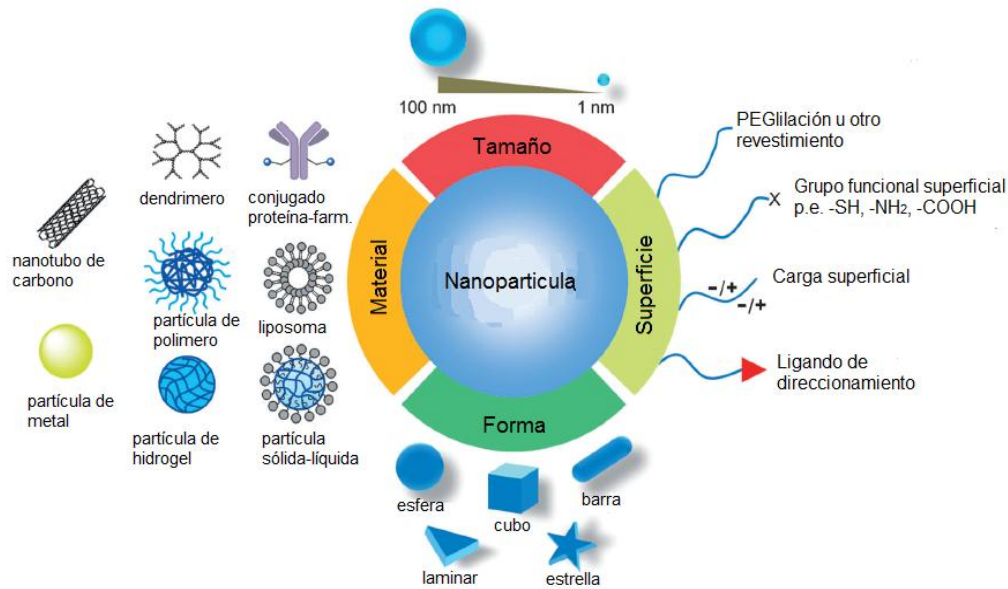


Figura 1: Resumen de las nanopartículas que se han explorado como transportadores para la administración de fármacos en la terapia contra el cáncer. (Xia y cols., 2014).

El éxito clínico de los fármacos quimioterápicos depende en gran medida de la selección de las dianas adecuadas, de la combinación de fármacos (Brigger y cols. 2012) y de las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas, incluidas la composición, el tamaño, la morfología, la carga y el recubrimiento superficial (Xia y cols. 2014).

Los fármacos transportados por nanopartículas necesitan direccionarse hacia el órgano o tejido lesionado y acumularse allí. (Xia y cols, 2014). El direccionamiento de las nanopartículas puede llevarse a cabo mediante dos estrategias, la orientación pasiva y la orientación activa (Bazak y cols., 2015).

#### 4.1. Orientación pasiva

La angiogénesis tumoral tiene un papel fundamental en el crecimiento, progresión y metástasis del cáncer (Dimova y cols.,2014). Esta vasculatura del tejido tumoral suele estar formando una estructura desorganizada, presentando una serie de defectos cuyo tamaño varía de 100 a 600 nm de diámetro, diferenciándose de la vasculatura normal de los tejidos sanos. Además, las células endoteliales de un tejido tumoral no se suelen encontrar correctamente alineadas, presentando frecuentemente membranas basales anormales o incluso ausentes. Estas condiciones dan lugar a la formación de canales que permiten el paso de materiales de tamaño nanométrico (normalmente, menos de 200 nm) en la región del tumor (Baberjee y cols, 2011). Igualmente, el sistema de drenaje linfático de la vasculatura tumoral también es defectuoso, lo que provoca la acumulación de las sustancias que pudieran penetrar por esos poros. Este fenómeno se llama “Efecto del incremento de la permeabilidad y retención” (EPR) (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). La orientación pasiva consiste en el transporte de nanopartículas mediante convección a través de

poros hacia el intersticio tumoral, donde se acumula el fármaco aprovechando el efecto EPR de la angiogénesis tumoral (Figura 2). (Lollo y cols., 2011) (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015).

Es necesario, para explotar estas características de la vasculatura tumoral, que las nanopartículas tengan suficiente vida media de circulación, además de evitar la acción del sistema de fagocitos mononucleares (MPS) y el sistema retículo-endotelial (RES) durante su transporte en el torrente sanguíneo (Moghimi, y cols, 2001). Para conseguir una buena circulación y escapar del MPS, la nanopartícula no puede exceder los 400 nm (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015) y debe tener un tamaño superior a 10 nm para evitar la filtración renal (Danhier y cols., 2010). En general, el tamaño óptimo para la extravasación tumoral de las nanopartículas está en el intervalo de 30-200 nm. Además, la carga superficial de la nanopartícula tiene importancia fundamental en el tiempo de permanencia en la circulación, puesto que dicha carga debe ser preferentemente neutra o aniónica para evitar la interacción con las proteínas plasmáticas (opsoninas) y retrasar el ataque de los macrófagos (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). Esto se consigue a través de la modificación de la superficie de las nanopartículas con polímeros hidrófilos como el polietilenglicol (PEG) (Cho y cols, 2008) ya sea por simple recubrimiento o modificando químicamente la superficie de las nanopartículas. También se han usado polímeros anfifílicos como copolímeros sintéticos del óxido de polietileno y óxido de propileno (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015).

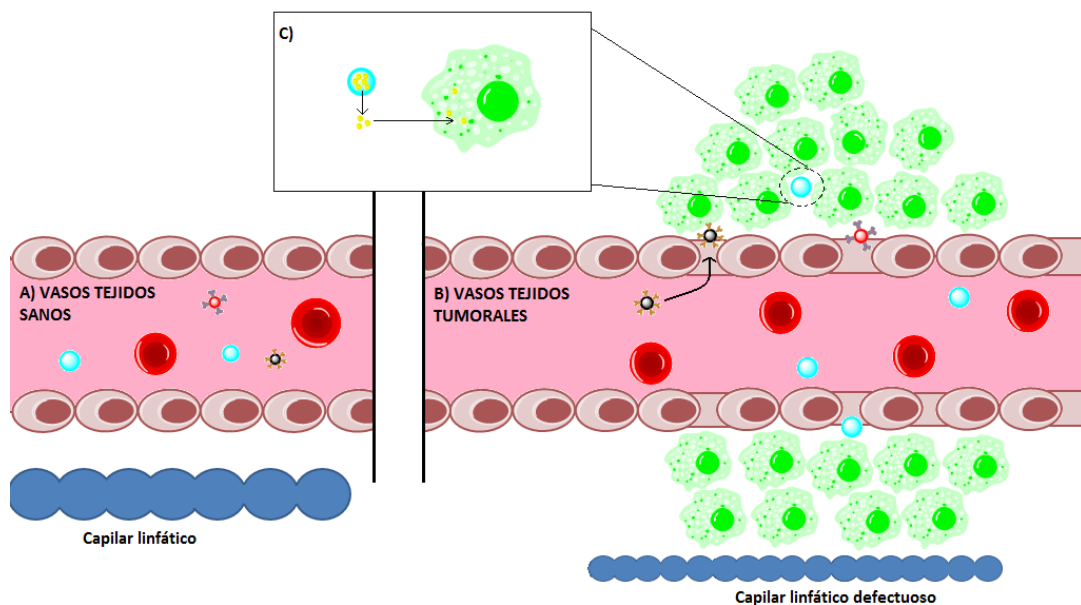


Figura 2: Fenómeno del efecto EPR en los vasos sanguíneos tumorales en comparación con vasos sanguíneos normales. A) Vasos de tejidos sanos con tejido vascular organizado sin huecos por los que puedan pasar las nanopartículas y con capilares linfáticos normales. B) Vasos de tejidos tumorales con canales que permiten el paso de nanopartículas al intersticio tumoral y con sistema de drenaje linfático defectuoso. C) Liberación de los medicamentos de las nanopartículas al intersticio tumoral y su paso por difusión simple a las células.



#### ***4.2. Orientación activa***

La orientación activa hace referencia a la fijación de ligandos específicos a la superficie de las nanopartículas, permitiendo el reconocimiento selectivo de diferentes antígenos o receptores sobreexpresados en la superficie de las células tumorales (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). Las interacciones específicas entre los ligandos en la superficie de las nanopartículas y los receptores expresados en las células tumorales pueden facilitar la internalización de las nanopartículas, desencadenando endocitosis mediada por receptor (Bazak y cols., 2015). La orientación activa no aumenta la acumulación de fármacos citotóxicos en el sitio diana, ya que la acumulación inicial de los nanotransportadores depende del efecto EPR antes de que la focalización activa tenga lugar. Sin embargo, la orientación activa mejora la eficacia terapéutica al aumentar la captación. También puede suprimir la resistencia a múltiples fármacos utilizando péptidos y evita las limitaciones de la focalización pasiva cuando el efecto EPR no se produce en algunos tumores (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015).

En este trabajo se recogen algunas de las formulaciones más importantes y eficaces que se han utilizado hasta la fecha, clasificadas en función del tipo de ligando con el que se funcionaliza la superficie del sistema nanométrico.

##### ***4.2.1. Albúmina***

La albúmina es un vehículo ideal para el transporte de fármacos debido a su tendencia a cruzar las barreras fisiológicas naturales y acumularse en el tejido tumoral (Coccolini y cols. 2017). Una de las formulaciones en el mercado es el Abraxane, que consiste en nanopartículas de tamaño en torno a los 130 nm con paclitaxel en su interior y estabilizadas con albúmina sérica humana. Las partículas están en un estado amorfo no cristalino, permitiendo una disgregación rápida en complejos de paclitaxel ligados a la albúmina más pequeños (en torno a 10 nm), después de la administración intravenosa. (Blair y Deeks, 2015).

La conjugación del paclitaxel con albúmina tiene ventajas, así, aumenta la facilidad de administración debido a la solubilidad en agua, aumenta la seguridad al no tener que usar disolventes tóxicos, mejora la farmacocinética y aumenta la actividad antitumoral con respecto al CremophorEL-Paclitaxel (vehículo de administración intravenosa del paclitaxel en formulaciones convencionales). (Coccolini y cols. 2017).

Un estudio de Zhao y cols. demostró que la mejora de la farmacocinética del Abraxane con respecto al paclitaxel con disolvente es muy significativa, aumentando la concentración media de fármaco libre casi tres veces. Además, junto con una dosis más alta y un tiempo de infusión más corto, se alcanzó una concentración máxima de paclitaxel libre 10 veces más alta. El área bajo la curva de concentración en función del tiempo también fue casi tres veces mayor (Zhao y cols. 2017).

Las nanopartículas unidas a la albúmina no solo se acumulan en los tumores por el efecto EPR, sino también por la unión al receptor de glicoproteína 60 que facilita la endocitosis (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). En el espacio intersticial tumoral, los complejos de albúmina-paclitaxel se unen a la proteína secretada ácida y rica en cisteína (SPARC), que está sobreexpresada en la mayoría de los tumores (Zhao y cols. 2017) aumentando la captación del complejo en las células tumorales por endocitosis (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015) (Figura 3).

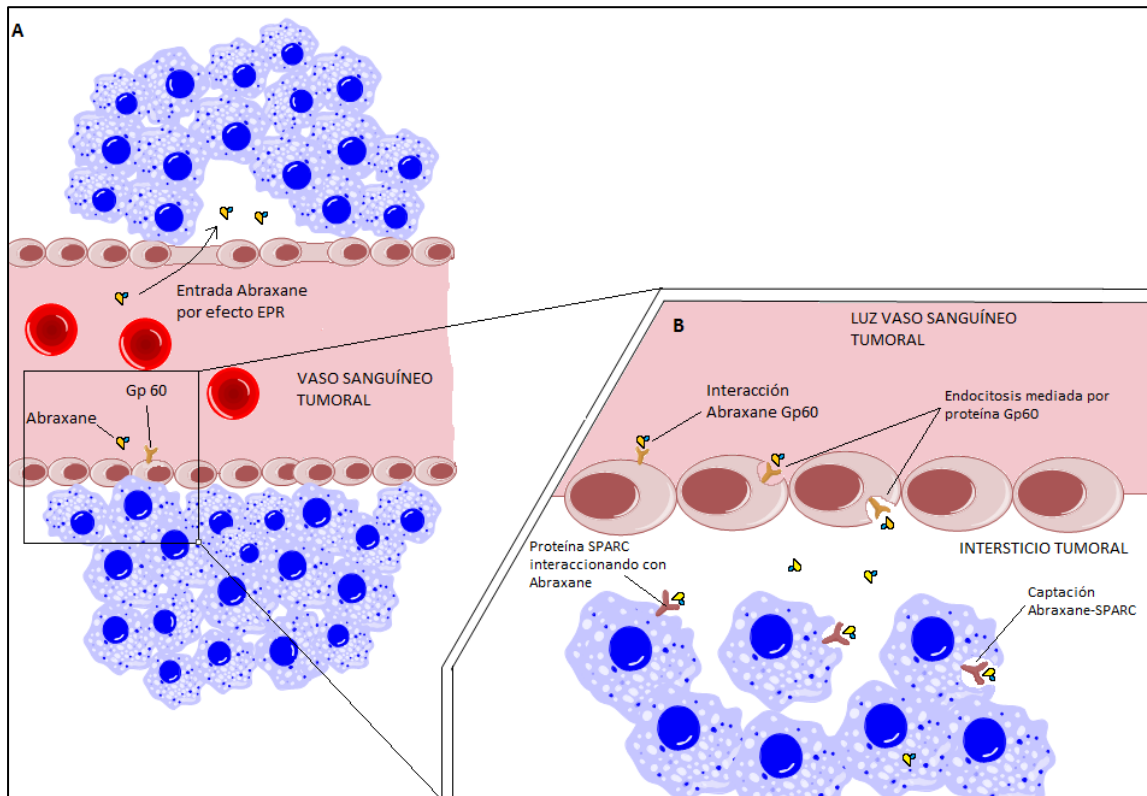
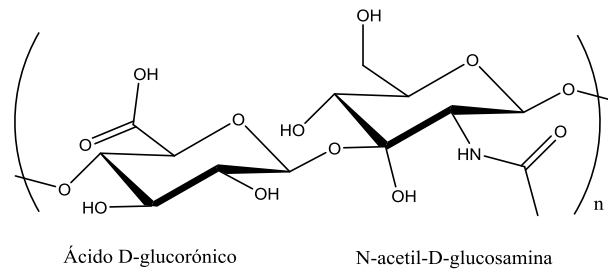


Figura 3: A) Representación de la distribución del Abraxane a los tejidos tumorales mediante el efecto EPR. B) Mecanismo de entrada del Abraxane por endocitosis mediada por la gp 60 y la posterior unión a las proteínas SPARC.

#### 4.2.2. Ácido Hialurónico

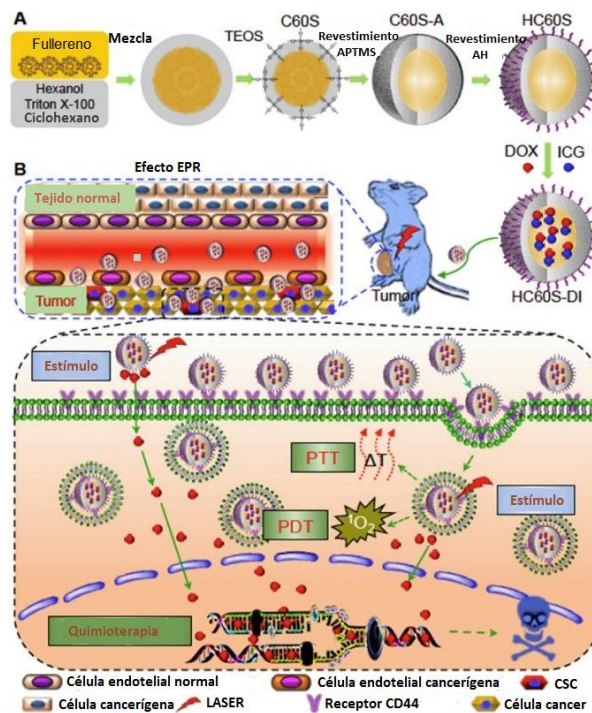
El Ácido Hialurónico (HA) es un mucopolisacárido natural compuesto de unidades disacáridas repetidas de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina (Esquema 1) (Mattheolabakis y cols. 2015) que se puede unir específicamente a varias células cancerosas que sobreexpresan el receptor de la glicoproteína CD44, por lo que se ha estudiado su uso potencial como agente de direccionamiento específico en la terapia del cáncer (Choi y cols. 2010).



*Esquema 1: Estructura del ácido hialurónico.*

Se han desarrollado varios procedimientos para preparar formulaciones de nanopartículas que aprovechan las propiedades de direccionamiento del HA. Los dos procedimientos principales son, por un lado, la conjugación química de HA a nanotransportadores preformados a base de lípidos y nanopartículas poliméricas, y por otro lado, el desarrollo de nanotransportadores de autoensamblaje que utilizan el HA químicamente modificado como polímero de la nanopartícula (Mattheolabakis y cols. 2015).

Wang y colaboradores han desarrollado un sistema de nanopartículas de fullereno-sílice cargadas con doxorubicina y el colorante verde de indocianina, que a su vez presentan en la superficie HA para dirigir el fármaco selectivamente a las células madre del cáncer de mama con sobreexpresión del receptor CD44, obteniéndose resultados significativos en la reducción del número de células cancerosas sin aparición de efectos secundarios adversos en ratones (Figura 4) (Wang y cols. 2016).



*Figura 4: A) Proceso del desarrollo de las nanopartículas decoradas con ácido hialurónico llevadas a cabo por Wang y cols. B) Dispersión de las nanopartículas en el tumor y posterior entrada en las células cancerosas. La liberación de la carga de las nanopartículas estaba controlada por irradiación con Infrarrojo cercano NIR (Wang y cols. 2016).*

Cho y colaboradores desarrollaron nanopartículas autoensambladas compuestas por HA, ceramida y Pluronic 85 para la administración intravenosa de docetaxel con un diámetro medio de 110-140 nm. El bajo diámetro permitió la entrada al intersticio tumoral mediante el efecto EPR y la cubierta de HA permitió la entrada de la nanopartícula en las células tumorales mediante la endocitosis mediada por la glicoproteína CD44. Los estudios *in vivo* de fluorescencia de infrarrojo cercano (NIR) demostraron la selectividad de esta formulación hacia el tejido tumoral sin dar reacciones de toxicidad aparente (Cho y cols. 2011).

Choi y colaboradores también desarrollaron un sistema de nanopartículas autoensambladas de derivados de HA modificados y marcados con Cy5.5 (colorante) de tamaños entre 237 y 424 nm (Figura 5) para observar la acumulación de dichas nanopartículas en tejidos tumorales de ratón. Los resultados establecieron que el direccionamiento de las nanopartículas se debe tanto al efecto EPR como al efecto de direccionamiento activo provocado por la afinidad del HA con el receptor CD44 (Choi y cols. 2010) (Lee y cols. 2015).

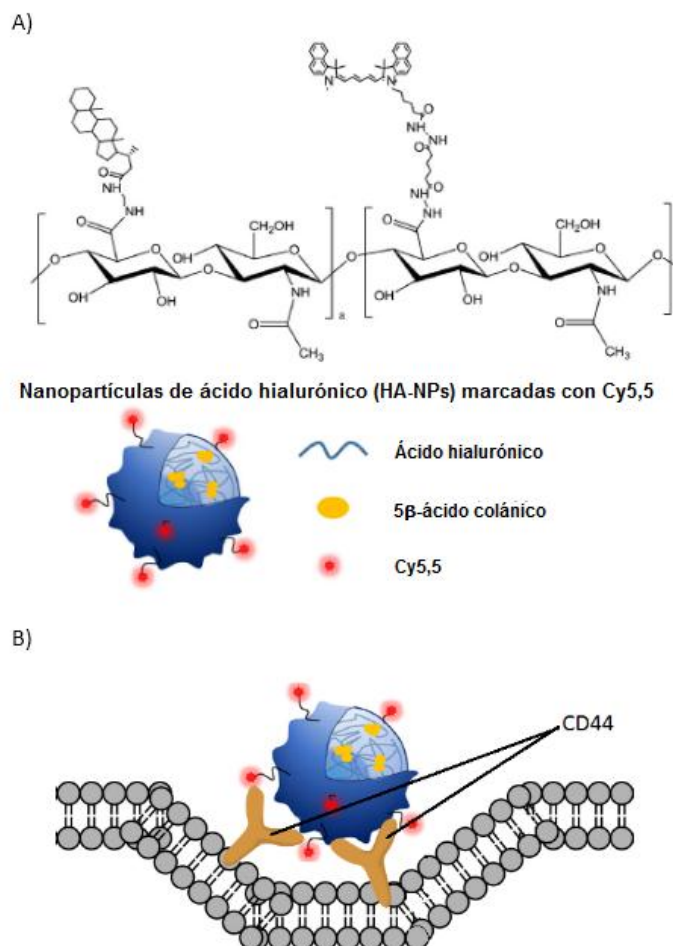


Figura 5: A) Representación estructural de la composición del polímero de autoensamblado de Choi y colaboradores. B) Representación de la interacción de la nanopartícula con el receptor CD44 de la célula tumoral. (Lee y cols. 2015).

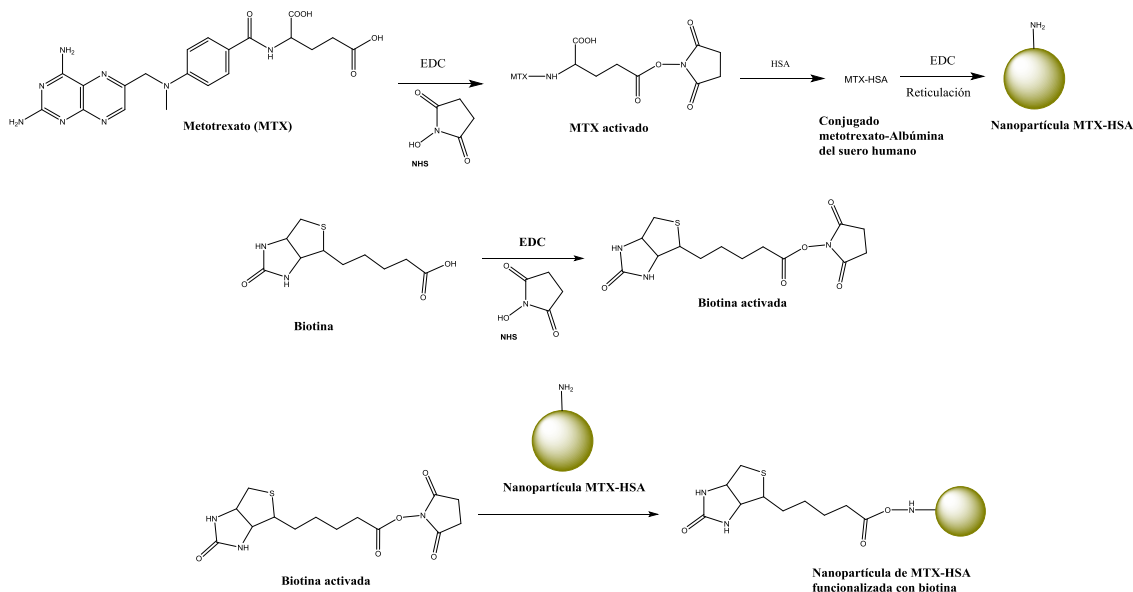
#### 4.2.3. Biotina

La biotina es un micronutriente esencial para las funciones normales, crecimiento y desarrollo celular. Las células que se dividen rápidamente, como las cancerosas, tienen una necesidad extra de esta vitamina y sobreexpresan receptores implicados en su absorción (Yellepeddi y cols. 2009).

Na y colaboradores desarrollaron nanopartículas de acetato de pululano (BPA) de aproximadamente 100 nm cargadas con el fármaco Adriamicina para su posterior evaluación en términos de direccionamiento, internalización de las nanopartículas y liberación del fármaco. Los resultados indicaron que las nanopartículas de BPA podrían ser un potencial vehículo para el tratamiento del cáncer, pudiendo controlarse además la liberación del fármaco con el contenido de biotina de la nanopartícula (Na y cols. 2003).

Yellepeddi y colaboradores desarrollaron dendrímeros de poli (amido) amina (PAMAM) unidos covalentemente en su superficie a biotina para estudiar su captación en células de cáncer de ovario (OVCAR-3) y en células embrionarias de riñón humano (HEK 293T). Los resultados demostraron que los dendrímeros biotinilados tenían una mayor internalización que los mismos dendrímeros sin la biotina superficial, arrojando datos alentadores en el uso de dendrímeros biotinilados como sistemas de direccionamiento de fármacos contra el cáncer (Yellepeddi y cols. 2009).

Taheri y colaboradores elaboraron nanopartículas conjugadas de metotrexato con albúmina humana dirigidas con biotina (esquema 2) y se evaluó su eficacia. Los resultados mostraron una mayor citotoxicidad *in vivo* en ratones, disminuyendo en 21 días el volumen del tumor hasta un 17,6% del volumen tumoral inicial en contraste con el aumento del 250,7% del volumen tumoral de los ratones no tratados. También se redujeron los efectos tóxicos sistémicos, mostrando una bajada de peso corporal de los ratones del 8% con respecto al 27,05% de bajada de peso corporal de los ratones tratados con las mismas nanopartículas sin biotina como agente de direccionamiento (Taeri y cols. 2011).



Esquema 2: Esquema sintético de las nanopartículas conjugadas de metotrexato y HSA funcionalizadas con biotina.

#### 4.2.4. Ácido fólico

El ácido fólico es un compuesto vitamínico de bajo peso molecular que ha demostrado ser eficaz como agente de direccionamiento de nanopartículas contra ciertos tipos de tumores tales como cáncer de mama, pulmón, riñón, ovario y boca (Teow y Valiyaveetil, 2010) que sobreexpresan el receptor de ácido fólico. La sobreexpresión de este receptor, unido a la baja concentración de dicha proteína en las células normales hacen de éste una diana ideal para la vectorización de nanopartículas cargadas con fármacos quimioterápicos (Sriraman y cols. 2016). Además, las nanopartículas marcadas con ácido fólico se retienen normalmente en una vesícula endocítica o se liberan al citoplasma debido a que el ácido fólico es esencial para las funciones celulares (Teow y Valiyaveetil, 2010).

Parveen y colaboradores desarrollaron nanopartículas de quitosano cargadas con doxorubicina funcionalizadas con ácido fólico para el tratamiento selectivo del retinoblastoma, estudiando su eficacia y concentración del fármaco en las células con respecto al fármaco libre y a las mismas nanopartículas sin funcionalizar con ácido fólico. El estudio demostró un efecto citotóxico mayor en las nanopartículas “decoradas” que en las demás presentaciones, posiblemente consecuencia de una mayor concentración de fármaco en los ratones tratados con dichas nanopartículas funcionalizadas, que presentaban una concentración seis veces mayor de fármaco en sus células con respecto a la doxorubicina libre y dos veces mayor con respecto a las nanopartículas sin funcionalizar (Parveen y Sahoo, 2010). En otra estrategia para aumentar la eficiencia de la doxorubicina, Zang y colaboradores diseñaron un nanotransportador de poli-(3-hidroxi-butirato-co-3-hidroxi-octanoato) de 240 nm con ácido fólico como ligando de orientación, para la administración selectiva del fármaco, dando lugar, en estudios *in vitro*, a mayor captación celular

y citotoxicidad que las formulaciones sin el ligando de direccionamiento. En los ensayos *in vivo*, esta formulación también reveló mayor actividad antitumoral (Zhang y cols. 2010).

Patil y colaboradores, describieron una técnica de funcionalización con agentes de direccionamiento en un solo paso utilizando copolímeros de ácido poliláctico y polietilenglicol (PLA-PEG) cargados con paclitaxel y “decorados” con biotina y ácido fólico. La capacidad de las nanopartículas funcionalizadas para dirigir selectivamente hacia las células cancerosas se estudió *in vivo* en ratones con xenoinjertos MCF-7, que se sabe que expresan tanto los receptores de biotina como los de folato. El resultado indicó una mejora de la inhibición tumoral y un aumento de la supervivencia en los grupos tratados con las nanopartículas funcionalizadas con biotina y ácido fólico. Además, se estudió la acumulación de paclitaxel en las células tumorales, siendo mayor en los grupos tratados con las nanopartículas “decoradas” con ácido fólico y biotina simultáneamente que en los grupos tratados con nanopartículas funcionalizadas con uno solo de los ligandos o sin funcionalizar (Patil y cols. 2009).

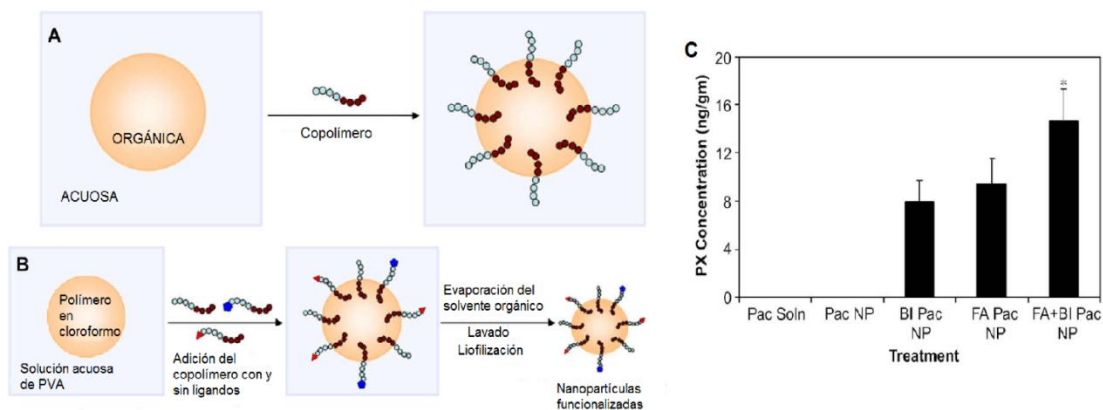
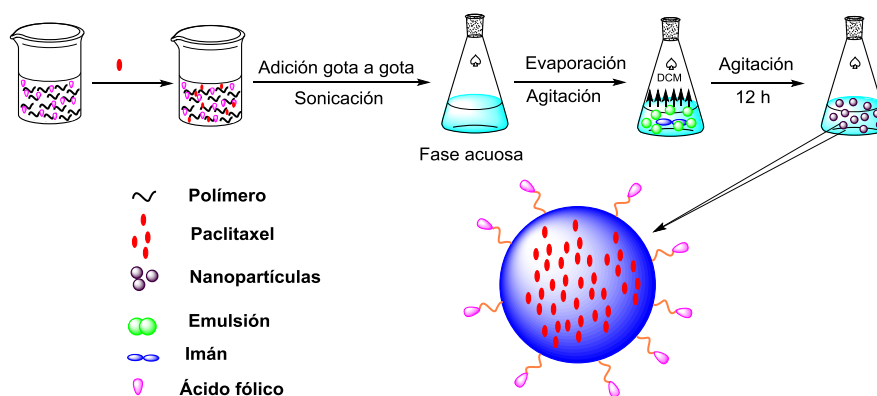


Figura 6: A) Comportamiento del copolímero en anfifílico en un sistema bifásico orgánico/acuoso. B) Introducción de los ligandos del copolímero mediante la técnica descrita por Patil y colaboradores. C) Efecto de la funcionalización del ligando sobre la acumulación de paclitaxel en tumores con diferentes formulaciones (Bi Pac NP: Np. funcionalizadas con biotina; FA Pac NP: Np. funcionalizadas con á. fólico; FA+BI Pac NP: Np. Funcionalizadas con á. fólico y biotina) (Patil y cols. 2009).

Liang y colaboradores demostraron que unas nanopartículas de 220 nm de ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) y polietilenglicol (PEG) cargadas con paclitaxel y "decoradas" con folato, tienen mayor actividad citotóxica contra el carcinoma endometrial que el fármaco solo, y que dichas nanopartículas sufren captación celular y acumulación en el tumor tanto por mecanismo pasivo como activo. En el esquema 3 se muestra el procedimiento de obtención de dichas nanopartículas funcionalizadas (Liang y cols., 2011).





Esquema 3: Representación esquemática de la formación de las nanopartículas de PEO-b-PMA funcionalizadas con ácido fólico y cargadas con paclitaxel (Liang y cols., 2011).

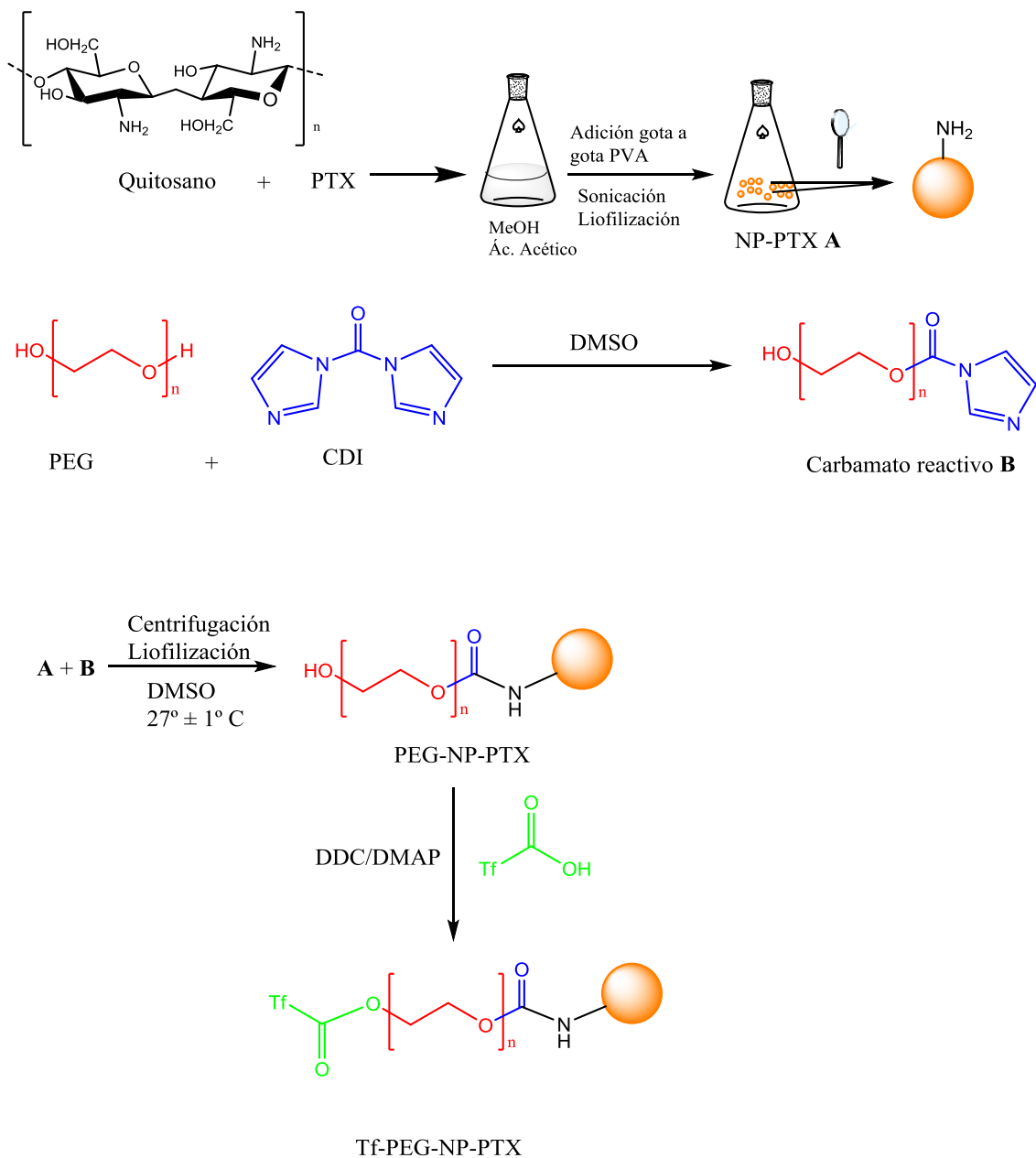
#### 4.2.5. Transferrina

El receptor de la transferrina (TfR) ha sido ampliamente estudiado como diana en la vectorización de nanopartículas debido a los altos niveles de expresión de este receptor en células cancerosas (hasta 100 veces superiores que en células normales) (Nag y cols. 2016). Su distribución en los distintos tipos de tumores (sobrexpresado en el 90% de tumores) (Guo y cols. 2015.) hace que esta proteína sea un objetivo eficaz y atractivo para el transporte selectivo de fármacos para el cáncer. Por ello, se ha estudiado ampliamente en los últimos años el uso de conjugados de transferrina con fármacos, dendrímeros, liposomas modificados y nanopartículas. (Nag y cols. 2016).

Dixit y colaboradores desarrollaron nanopartículas de oro (Au NP) PEGiladas (unidas a polietilenglicol), funcionalizadas en su superficie con transferrina (Tf) como ligando de orientación y ftalocianina 4 (Pc 4) como pro-fármaco fotodinámico anticanceroso para el estudio del tratamiento del glioblastoma multiforme, posteriormente estudiaron su comportamiento en modelos *in vitro* con líneas celulares LN229 y U87. El resultado de dichos estudios determinó un aumento de la captación celular 2-3 veces mayor en las nanopartículas orientadas con Tf que en las no orientadas y un aumento de la eficacia citotóxica de las (Au NP-Tf) a concentraciones más bajas que las no funcionalizadas (Au NP). (Dixit y cols. 2015).

Nag y colaboradores llevaron a cabo un estudio de nanopartículas de quitosano PEGiladas, cargadas con paclitaxel y funcionalizadas con Tf para la administración de fármacos anticancerosos a las células tumorales basada en la endocitosis mediada por el receptor de la Tf. Las nanopartículas cargadas con paclitaxel se prepararon mediante el método de evaporación con disolvente; posteriormente, PEGilaron la superficie acoplando el grupo amina presente en el exterior de las NP con el grupo hidroxilo del PEG; por último, se funcionalizó la superficie con Tf acoplando el grupo carboxílico de la Tf con el grupo hidroxilo del PEG en presencia de DDC/DMAP (Esquema 4) (Nag y cols. 2016).





Esquema 4: Representación esquemática de la preparación de las nanopartículas funcionalizadas en el estudio de Nag y colaboradores.

Sriraman y colaboradores evaluaron la actividad anticancerosa de liposomas cargados con doxorrucina, PEGilados y funcionalizados simultáneamente con ácido fólico y transferrina en células de carcinoma cervical humano (HeLa) en modelos *in vitro* e *in vivo*. En este trabajo se estudió el alcance de la doble orientación, utilizado en otros casos sin mejora significativa de la eficacia tumoral. No obstante, los resultados mostraron un aumento de la asociación de los liposomas con las células 7 veces mayor que cualquiera de las otras nanopartículas funcionalizadas con un ligando solamente o sin funcionalizar, además de un aumento de la citotoxicidad y un aumento de la inhibición tumoral *in vivo* (Sriraman y cols. 2016).

#### 4.2.6. Aptámeros

Los aptámeros son pequeñas hebras de ADN o ARN que se unen a moléculas diana específicas con una alta afinidad (Alibolandi y cols. 2015). Los aptámeros tienen propiedades que hacen que sean buenos vectores de orientación, como su gran afinidad a su diana de unión, su alta estabilidad estructural con la posibilidad de crear estructuras terciarias únicas, la posibilidad de ser sintetizados químicamente, lo que provoca que sean mucho más económicos de sintetizar con respecto a los anticuerpos monoclonales u otros vectores y su baja toxicidad y capacidad antigénica. (Ashrafuzzaman, 2014). Varios aptámeros se han desarrollado para su unión a dianas sobreexpresadas en células cancerosas, incluyendo ligandos extracelulares y proteínas de superficie celular (Ni y cols, 2015).

Ni y colaboradores desarrollaron nanopartículas de ácido poliláctico-co-glicólico cargadas con salinomicina y conjugadas con el aptámero A15 para su estudio en células madre cancerosas del osteosarcoma. Este aptámero tiene como diana específica la glicoproteína CD133 que está sobreexpresada en las células madre cancerosas del osteosarcoma, implicadas en la metástasis y la resistencia a los quimioterápicos en este tipo de cáncer. Utilizando dos líneas celulares Saos-2, una con sobreexpresión del CD133 y otra sin sobreexpresión, se estudió *in vitro* la captación celular y la citotoxicidad de las nanopartículas. Los resultados demostraron una captación mejorada de las nanopartículas funcionalizadas con el aptámero A15 en las células con sobreexpresión del CD133 y sin relevancia con respecto a nanopartículas sin funcionalizar en las que no tenían la expresión de dicha glicoproteína, lo que indica que el mecanismo de captación es debido a una endocitosis mediada por el receptor. Además, para el ensayo de citotoxicidad se utilizó la concentración inhibitoria 50 ( $IC_{50}$ ), siendo superior a las demás formulaciones (nanopartículas sin vectorizar, nanopartículas vectorizadas sin fármaco y fármaco libre). En los modelos *in vivo* en xenoinjertos en ratones, se estudió la progresión tumoral, siendo significativamente inferior en los grupos tratados con las nanopartículas funcionalizadas (Ni y cols, 2015).

Dhar y colaboradores elaboraron nanopartículas funcionalizadas con el aptámero A10 para la administración de cis-platino en las células de cáncer de próstata que sobreexpresan PSMA, una proteína de membrana tipo II con actividad folato hidrolasa. Para sintetizarlas, usaron ácido poli-D,L-lactoglicólico-b-polietilenglicol como polímero, en el cual encapsulaban un profármaco de platino inactivo y con el aptámero A10 conjugado en su superficie (Figura 7A). Los estudios *in vitro* demostraron que las nanopartículas con el aptámero fueron 80 veces más citotóxicas para las células del cáncer de próstata comparado con el fármaco libre (Dhar y cols. 2008). Basándose en este trabajo, Dhar y colaboradores estudiaron posteriormente estas nanopartículas en modelos *in vivo* usando ratones y ratas. *In vivo*, estas nanopartículas mejoraron la farmacocinética, la

eficacia antitumoral, el índice terapéutico y disminuyeron la acumulación en los riñones, evitando la nefrotoxicidad del cis-platino (Figura 7B) (Dahr y cols. 2011).

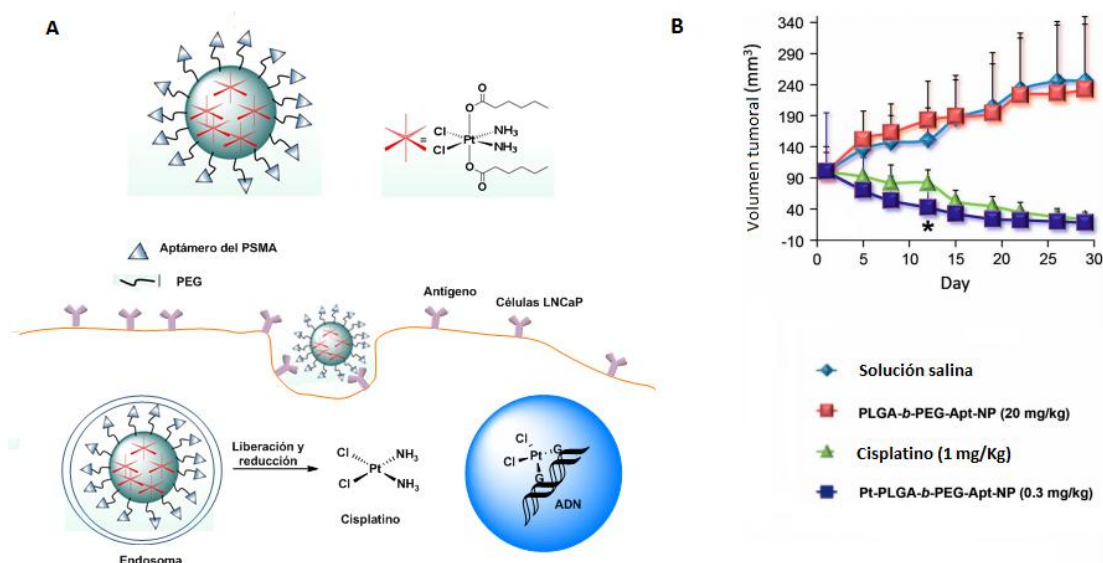


Figura 7: A) Representación esquemática de las nanopartículas de Pt-PLGA-b-PEG-Apt, de la entrada en la célula por endocitosis mediada por antígeno PSMA y la conversión del profármaco a fármaco activo en el interior celular. B) Variación del volumen tumoral con respecto al tiempo con distintas presentaciones (Dahr y cols. 2011).

La nucleonina es una proteína de membrana sobreexpresada en células cancerosas y en células endoteliales de vasos sanguíneos angiogénicos. Guo y colaboradores utilizaron esta proteína como diana de direccionamiento para el tratamiento del cáncer y desarrollaron nanopartículas de PEG-PLGA con paclitaxel encapsulado y decoradas con el aptámero AS1411, un ligando de direccionamiento formado por ADN que se une específicamente a la nucleonina. Posteriormente, las nanopartículas fueron estudiadas *in vitro* e *in vivo* en cultivos celulares C6 de glioma y en xenoinjertos en ratones atímicos desnudos y ratas Wistar. Los estudios determinaron que estas nanopartículas vectorizadas con el aptámero eran las que mayor inhibición tumoral presentaban, así como un mayor incremento de la acumulación del fármaco en las células tumorales en comparación con las nanopartículas no dirigidas y el taxol libre (Guo y cols. 2011).

#### 4.2.7. Anticuerpos monoclonales

La administración selectiva de fármacos con la ayuda de anticuerpos monoclonales (mAb) ha atraído considerable la atención para la terapia del cáncer en los últimos años (Acharya y cols. 2009). Esto se debe en parte a la disponibilidad inmediata y a sus altas propiedades de afinidad con los receptores. Las principales desventajas que presentan son que su uso en algunos casos puede causar problemas de inmunogenicidad así como el aumento excesivo de tamaño de las nanopartículas (Xia y cols. 2014). La vectorización mediante anticuerpos monoclonales puede centrarse en el uso de los anticuerpos completos (mAb) o los fragmentos variables de cadena sencilla (Fab') (Byrne y cols. 2008).

La familia de receptores epidérmicos humanos (HER) son glicoproteínas tirosina quinasas que median una vía de señalización celular para el crecimiento y la proliferación, siendo las más investigadas el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y el receptor epidérmico humano 2 (HER-2). Los sistemas de nanopartículas pueden dirigirse a estos dos receptores mediante la conjugación de anticuerpos monoclonales como el Cetuximab y el Transtuzumab, dos anticuerpos monoclonales aprobados por la FDA para el tratamiento del cáncer que se unen al EGFR y al HER-2 respectivamente asociándose con los dominios extracelulares de estas proteínas (Byrne y cols. 2008).

El receptor EGFR se encuentra sobreexpresado en una gran cantidad de tumores incluyendo el cáncer colorrectal metastásico, carcinoma de piel, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y cáncer de pulmón (Acharya y cols. 2009) (Maya y cols. 2013). Maya y colaboradores, desarrollaron nanopartículas de o-carboximetil quitosano cargadas con paclitaxel y conjugadas con cetuximab y estudiaron *in vitro* su comportamiento de liberación y citotoxicidad en células cancerosas con sobreexpresión de EGFR (A549, A4731 y SKBR3) frente a una línea celular sin sobreexpresión (MIAPaCa-2). Los resultados determinaron que las nanopartículas vectorizadas con cetuximab tenían una mayor penetración en las tres líneas celulares que sobreexpresaban EGFR en comparación con las nanopartículas sin vectorizar, teniendo valores de 75-90% la población de células con nanopartículas vectorizadas dentro con respecto al 20-50% la población de células con nanopartículas sin vectorizar dentro. Con respecto a la línea celular sin sobreexpresión de EGFR, la captación de las dos nanopartículas está en 22% y 32% en cada formulación, lo que nos indica que la entrada de las nanopartículas vectorizadas está mediada por el receptor EGFR y que, además, esta vectorización aumenta la captación por parte de las células tumorales. La actividad anticancerosa *in vitro* también está aumentada en las nanopartículas con el ligando de direccionamiento, siendo el IC<sub>50</sub> en las células con expresión del EGFR de 40 µg/ml en A549 y 25 µg/ml en A431 y SKBR3 frente los ~100 µg/ml en las nanopartículas sin cetuximab. (Maya y cols. 2013). Posteriormente, Maya y colaboradores desarrollaron otro sistema de nanopartículas de PGA cargado con docetaxel y vectorizado con cetuximab para el estudio *in vitro* del tratamiento del cáncer de células pequeñas de pulmón, que también sobreexpresan el EGFR. Como en su trabajo anterior, también se utilizaron dos líneas celulares, una expresaba el EGFR (A549) y otra no (NIH3T3). Los resultados fueron similares al de su anterior trabajo, siendo las nanopartículas direccionadas con anticuerpos las que tenían mayor distribución en las células que expresaban el EGFR y siendo inferior y sin diferencias significativas las nanopartículas vectorizadas en células sin sobreexpresión de la proteína diana y las nanopartículas sin vectorizar en las dos poblaciones de células. La capacidad citotóxica de las partículas vectorizadas era significativamente mayor, siendo 5 veces superior el IC<sub>50</sub>. (Maya y cols. 2014). HER-2 también juega un papel importante en la patogénesis de muchos tipos diferentes de cáncer, y es un objetivo atractivo para las estrategias terapéuticas basadas en mAb (Byrne y cols. 2008).

Chen y colaboradores llevaron a cabo el desarrollo de nanopartículas de PLGA cargadas con una inmunotoxina (PE38KDEL) y conjugadas con un fragmento de anticuerpo (Fab') anti HER-2 (rhuMAbHER2) para su posterior estudio tanto *in vitro* como *in vivo*. Los estudios *in vitro* se hicieron en tres líneas celulares de cáncer de mama humano, dos que sobreexpresaban HER2 (MDA-MB-231 y BT-474) y otra que no lo sobreexpresaba (MCF7), y se determinó la internalización de las nanopartículas y la citotoxicidad. Los resultados *in vitro* determinaron que las nanopartículas vectorizadas con el fragmento de anticuerpo tenían una mayor penetración en las células que presentaban sobreexpresión de HER-2 y que las nanopartículas no vectorizadas tenían una mayor penetración en las células que no presentaban sobreexpresión de HER-2. La citotoxicidad *in vitro* se analizó mediante el IC<sub>50</sub>, siendo también significativamente superior en las nanopartículas vectorizadas (tabla 1). Los estudios de toxicidad *in vivo* y de citotoxicidad se llevaron a cabo en ratones desnudos BALB con xenoinjertos de BT-474. El estudio de toxicidad inespecífica se hizo midiendo el nivel de ALT (alanina transferasa) en sangre, debido a la alta hepatotoxicidad de esta inmunotoxina, siendo las formulaciones encapsuladas las únicas que no variaban dicho valor de la normalidad 72 h después de la administración. La eficiencia citotóxica se estudió mediante la inhibición del crecimiento tumoral. Las nanopartículas vectorizadas inhibieron significativamente el crecimiento del tumor, teniendo incluso un mayor efecto inhibitorio del crecimiento a una dosis 3 veces menor que la inmunotoxina conjugada químicamente con el anticuerpo (Figura 8) (Chen y cols. 2008).

Tabla 1: IC<sub>50</sub> (pM) de varias presentaciones en las células del cáncer de mama.

	<b>PE-NPS- HER</b>	<b>PE-HER</b>	<b>PE-NPS + ANTI-HER2 FAB'</b>	<b>PE-NPS- ANTI- CD25</b>	<b>PE38KDEL</b>
<b>BT-474</b>	46B ± 9	99 ± 10	> 1000	> 1000	> 1000
<b>MDA-MB- 231</b>	265 ± 50	327 ± 26	> 1000	> 1000	> 1000
<b>MCF-7</b>	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000

*PE-NPs-HER: Nanopartículas con inmunotoxina vectorizadas; PE-HER: Nanopartículas con inmunotoxina sin vectorizar; PE-NPs + anti-HER" Fab': Nanopartícula con inmunotoxina sin vectorizar y fragmento del anticuerpo en solución; PE-NPs-anti-CD25: Nanopartícula con inmunotoxina vectorizada con fragmento de anticuerpo monoclonal anti CD25; PE38KDEL: Inmunotoxina libre (Chen y cols. 2008).*

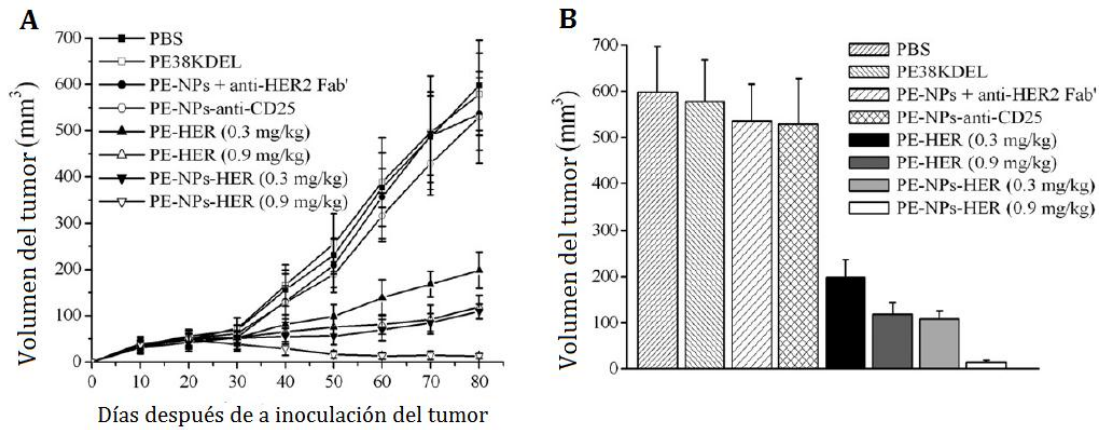


Figura 8: A) Crecimiento del tumor con respecto al tiempo en las distintas presentaciones. Los tumores fueron inoculados y después de 20 días cuando su crecimiento era visible los ratones fueron inyectados con las distintas formulaciones. La medición del volumen se realizó con un calibre cada 5 días. B) Volumen del tumor en el punto final del tratamiento (80 días después de la inoculación del tumor) (Chen y cols. 2008).

Cirstoui-Hapca y colaboradores desarrollaron nanopartículas de ácido poli-D,L-láctico “decoradas” con Herceptin® (Transtuzumab) y cargadas con paclitaxel para actuar contra células tumorales de ovario que sobreexpresan receptores HER-2 en su superficie. Estudios *in vitro* demostraron mejores efectos citotóxicos de estas nanopartículas a concentraciones más bajas de fármaco en comparación con otras formulaciones de paclitaxel (nanopartículas sin direccionamiento y paclitaxel libre) (Cirstoui-Hapca y cols. 2009). En otro estudio, Cirstoui-Hapca y colaboradores probaron estas nanopartículas *in vivo* en xenoinjertos de ratón y comprobando el crecimiento tumoral por bioluminiscencia de imágenes. Los resultados determinaron una mayor eficacia terapéutica de las nanopartículas vectorizadas con el anticuerpo y una menor toxicidad en comparación con el paclitaxel libre (Figura 9) (Cirstoui-Hapca y cols. 2010).

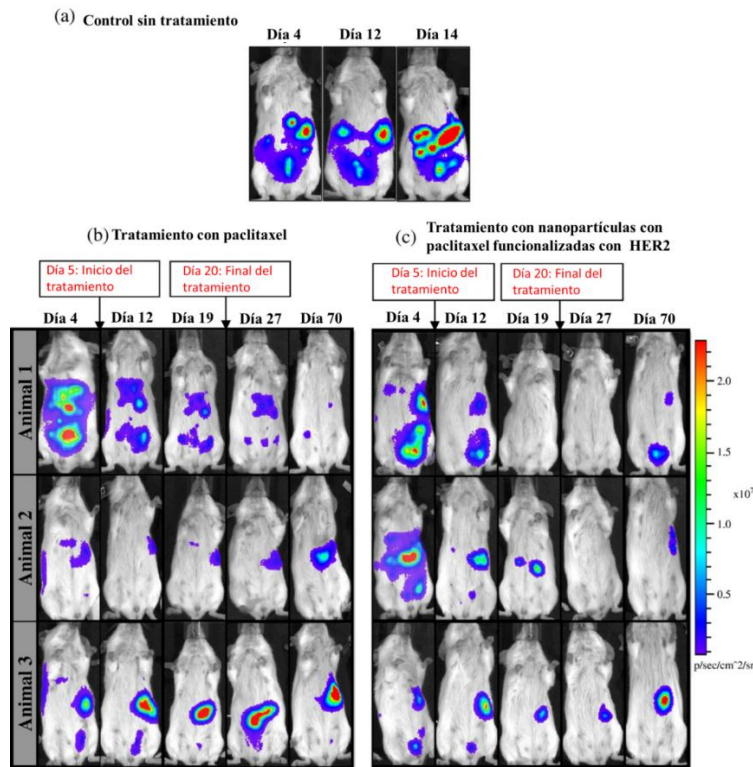


Figura 9: Monitorización in vivo de crecimiento del cáncer de ovario peritoneal utilizando (a) Animales no tratados, (b) Paclitaxel libre y (c) NPs-Tx-HER2. El tratamiento se inició el quinto día y se completó el día 20. Los ratones se visualizaron entre 4 y 70 días después de la inoculación de las células (Cirstoui-Hapca y cols. 2010).

Taheri y colaboradores diseñaron un sistema de nanopartículas de albúmina sérica humana funcionalizadas con trastuzumab y cargadas con metotrexato para su estudio. Diseñaron tres tipos de nanopartículas con distinta concentración de anticuerpos de superficie. Los resultados determinaron que todas las nanopartículas vectorizadas tenían una mayor capacidad de ser absorbidas y presentaban citotoxicidad en células que sobreexpresaban HER-2 con respecto a las nanopartículas no vectorizadas y el fármaco libre. También se observaron diferencias en las nanopartículas vectorizadas, siendo la nanopartícula con la concentración intermedia la mejor absorbida y la que mejores efectos antitumorales presentaba, por lo que se demuestra que la efectividad terapéutica de las nanopartículas dependía de la vectorización, así como su grado de funcionalización (Thaeri y cols. 2012).

#### 4.2.8. Péptidos

Los péptidos como ligando de direccionamiento en el tratamiento contra el cáncer, se han convertido en una herramienta cada vez más útil en la administración selectiva de agentes terapéuticos (David, 2017). Los péptidos representan unos vectores de direccionamiento de características ventajosas, incluyendo su capacidad de penetración en tejidos, su bajo peso molecular, la falta de inmunogenicidad, su facilidad de producción y flexibilidad relativa en los procesos de conjugación química. Una desventaja posible es que a veces los péptidos exhiben una afinidad de unión más baja a los receptores en comparación con los anticuerpos, pero esto puede

compensarse aumentando la densidad de la cubierta peptídica de las nanopartículas (Xia y cols. 2014).

Dos de los péptidos más usados en el direccionamiento de nanopartículas son los péptidos de arginina-glicina-ácido aspártico (RGD) y la asparagina-glicina-arginina (NGR) los cuales pueden dirigirse selectivamente a la vasculatura tumoral (David, 2017).

El péptido RGD tiene alta afinidad por las integrinas  $\alpha_v\beta_3$ , unas glicoproteínas de superficie que se sobreexpresan en las células endoteliales que recubren el tumor con respecto a las células endoteliales normales (Wang y cols. 2009) (Danhier y cols. 2009). Danhier y colaboradores desarrollaron nanopartículas de PLGA PEGiladas cargadas con paclitaxel y conjugadas en su superficie con RGD y con un péptido mimético al RGD (RGDp). Los estudios *in vitro* e *in vivo*, determinaron que las nanopartículas tenían mejor captación en las células debido a su asociación con las integrinas  $\alpha_v\beta_3$  sobreexpresadas en las células endoteliales tumorales. También se observó una mayor capacidad citotóxica de estas formulaciones con respecto al fármaco libre y las nanopartículas sin direccionar (Danhier y cols. 2009). Wang y colaboradores desarrollaron nanopartículas de PEG y PLGA con el péptido RGD para administrar doxorubicina a tres cultivos celulares que sobreexpresaban integrinas (B16F10, MDA-MB-231 y DU145) y estudiaron su capacidad citotóxica y de captación celular. Los resultados, sin embargo, no fueron en este caso los esperados, consiguiéndose unos efectos citotóxicos menores en las nanopartículas en comparación con el fármaco libre, posiblemente debido a que el estudio *in vitro* no puede aportar datos lo suficientemente representativos cuando comparamos un sistema de nanopartículas con un fármaco que es tan efectivo con las células. No obstante, la captación celular fue buena y más selectiva en las células que expresaban mayor cantidad de integrinas. Además, se mostraron efectos citotóxicos representativos, no tan lejos de los valores del fármaco libre, por lo que puede ser un buen sistema de liberación de fármacos si muestra selectividad por las células cancerosas, evitando efectos citotóxicos en células sanas (Wang y cols. 2009).

Los péptidos NGR (asparagina-glicina-arginina) se unen a la aminopeptidasa N (CD13), una glicoproteína también sobreexpresada en la vasculatura tumoral (David, 2017). Liu y colaboradores diseñaron y desarrollaron un sistema de nanopartículas multifuncionales basadas en un co-polímero de polietilennimina (PEI), polietilenglicol (PEG) funcionalizado en su superficie con NGR y cargados con doxorubicina y ADN para la administración selectiva a células cancerosas. Este método era muy novedoso puesto que atacaba tanto a las células angiogénicas tumorales como a las células tumorales con quimioterápicos y con fragmentos de ADN, obteniéndose un modelo idealizado de fármaco muy selectivo contra el cáncer. Para mejorar la captación del ADN se usó el péptido TAT, un péptido catiónico que facilita la captación celular de una gran variedad de moléculas con cargas electrostáticas. La partícula se diseñó en dos



partes: un núcleo compuesto de TAT-PEI-PEG con doxorubicina y el ADN y una cubierta de NGR-PEG y sulfameracina que protegía el núcleo. Cuando la nanopartícula se internalizaba dentro de la célula, el pH intracelular menor de 7 ionizaba la sulfameracina provocando que la cubierta se desprendiera y que el fármaco pudiera liberarse dentro de la célula. *In vitro* los resultados obtenidos fueron que estas nanopartículas tenían una citotoxicidad menor a la doxorubicina libre, no obstante, las nanopartículas demostraban tener una liberación gradual del anticanceroso, una selectividad alta y un comportamiento esperado en la liberación a distintos pH; por lo que se consideraron resultados positivos. También establecieron que una de las causas de dichos resultados podría ser la hidrofobicidad de la doxorubicina que facilitaba la difusión pasiva. (Liu y cols. 2013). Por otro lado, Chen y colaboradores diseñaron otras nanopartículas de liposoma-polición-ADN (LPD) PEGiladas y direccionadas con el péptido NGR para la administración de doxorubicina y ARN interferente pequeño (ARNsi) que silenciaba el oncogén c-myc, el cual promueve el crecimiento vascular en los tumores. Estas formulaciones se probaron en estudios *in vitro* (en células HT-1080) e *in vivo* (xenoinjertos de células HT-1080 en ratones). Los resultados demostraron una mejor captación de la formulación de las nanopartículas tanto *in vitro* como *in vivo*. La citotoxicidad de las nanopartículas también fue superior, siendo la presentación con doxorubicina y ARNsi mejor que las nanopartículas solo vectorizadas con ARNsi, con lo que se consiguió tener un efecto sinérgico para mejorar la acción terapéutica. (Chen y cols. 2009). Liu y colaboradores desarrollaron nanopartículas de conjugados de carboximetil-quitosano (CMCS) PEGiladas y vectorizadas con NGR cargadas con docetaxel. Estas nanopartículas también presentaron una mayor eficacia antitumoral que el docetaxel solo. La ventaja de estos métodos es que la administración de fármacos tiene un doble objetivo: dirigir a las células endoteliales de los vasos sanguíneos tumorales para la destrucción de estos y evitar el crecimiento de los tumores por falta de nutrientes, y por otro lado el ataque selectivo a las propias células tumorales. Esta estrategia permite maximizar la utilidad de los fármacos anticancerosos (Lui y cols. 2014) (David, 2017).

Otra secuencia peptídica utilizada en el direccionamiento es la Angiopep-2 que se une al receptor de lipoproteína de baja densidad (LRP), que se sobreexpresa en la barrera hematoencefálica (BHE), en el glioblastoma multiforme maligno y en tumores benignos de la glándula pituitaria. El Angiopep-2 se ha acoplado a la superficie de nanopartículas de polietilenglicol-co-poli-ε-caprolactona cargadas con paclitaxel, para alcanzar el glioma cerebral atravesando la BHE. Este estudio, utilizando glioma MG de U87 y rodamina-isocianato como agente de imagen, demostró mayor apoptosis y actividad antiproliferativa, siendo posible comprobar la endocitosis mediada por LRP de las nanopartículas por las células tumorales del glioma. El análisis de imagen de ratones con glioma U87M, mostró la acumulación de las nanopartículas, su eficacia transportadora

y la capacidad del angiopep-2 para facilitar el paso a través de la barrera hematoencefálica (Xin y cols. 2011).

Otro péptido usado en el direccionamiento de nanopartículas es la hormona liberadora de gonadotropina (LHRH) un decapeptido hormonal producido por el hipotálamo. Ha sido muy investigado como vector de orientación debido a la sobreexpresión de los receptores de dicha hormona en cánceres de próstata (90%), ovárico y endometrial (80%) y de mama (50%) (Gilad y cols. 2016) (Li y cols. 2015). Li y colaboradores desarrollaron nanopartículas de dextrano cargadas con cisplatino y funcionalizadas con el péptido LHRH. Se realizaron estudios *in vivo* que compararon las nanopartículas vectorizadas con respecto al fármaco libre. Los resultados dieron una mayor capacidad de tolerancia de las nanopartículas con respecto al fármaco libre (30 mg/kg frente a 4 mg/kg de dosis máxima tolerada), una mayor inhibición del crecimiento tumoral y una mayor captación del cisplatino en las células tumorales (Li y cols. 2015).

Adicionalmente, ciertas secuencias peptídicas, conocidas como señales de localización nuclear (NLS) pueden facilitar que factores citoplásmicos entren específicamente al núcleo de la célula (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). Así, Misra y colaboradores han acoplado un NLS a la superficie de nanopartículas de ácido poli-D,L-lactico-co-glicolico cargadas con doxorrubicina permitiendo la entrada del fármaco al núcleo de células de cáncer de mama (Figura 9). Estudios realizados con la línea celular de cáncer de mama MCF-7 revelaron una liberación sostenida del agente citotóxico, así como una mejor actividad antiproliferativa de las nanopartículas conjugadas con NLS, en comparación con las nanopartículas no funcionalizadas y el fármaco libre, debido a una mayor captación y acumulación del fármaco en el núcleo de las células (Figura 10) (Misra y Sahoo 2010).

Por último, es importante destacar la estrategia activa para el tratamiento de cánceres resistentes a múltiples fármacos (MDR), una enfermedad que a menudo impide el tratamiento clínico y puede conducir a metástasis. Estas células tumorales sobreexpresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico, por lo que pueden vectorizarse fármacos usando un péptido específico de EGFR. Milane y colaboradores desarrollaron un sistema de nanopartículas compuestas de una mezcla de polímeros cargadas con iodoamina, que induce la apoptosis y disminuye el MDR, y paclitaxel, que previene la división celular. Posteriormente estudiaron sus propiedades *in vivo* en modelos de cáncer de mama humano MDR en ratones desnudos con injertos de cáncer de mama humano y en ratones sin injertos. Los estudios determinaron que este sistema nanotransportador tenía una eficacia superior comparado con el tratamiento con un solo fármaco anticanceroso, tanto en disolución como en nanopartículas, y produjo una alteración fenotípica del tumor, disminuyendo la expresión de proteínas asociadas al MDR. Además, la toxicidad fue inferior que en los fármacos en disolución, por lo que se consiguió una formulación más eficaz en el tratamiento y con menos efectos tóxicos sistémicos (Milane y cols. 2011).

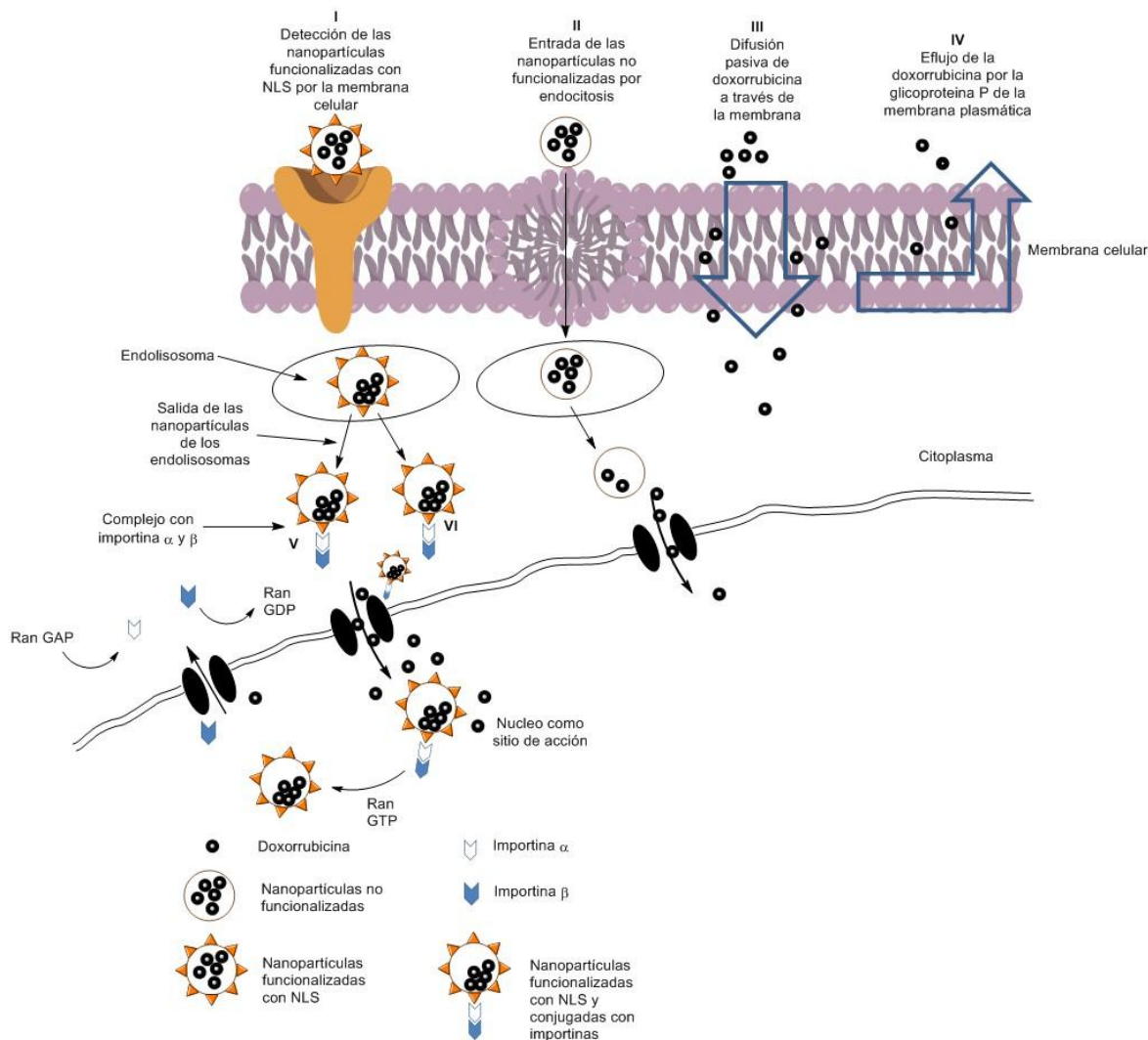


Figura 10: Representación esquemática que muestra la entrada celular rápida y escape endolisosómico de NPs conjugadas con NLS (I), internalización celular de NPs no conjugadas por endocitosis, escape endolisosómico de NPs y liberación del fármaco al citosol (II), difusión de doxorubicina a través de la membrana plasmática (III) y eflujo del fármaco por glicoproteínas P presentes en la membrana plasmática debido al efecto MDR en las células cancerosas (IV). Tras el escape endolisosomal de las NP conjugadas con NLS, estas formulaciones entran en el núcleo por transporte activo del complejo NLS conjugado con importinas lo que conduce a la liberación sostenida de fármaco. Esta mejora de la acumulación de doxorubicina dentro del núcleo conduce a un aumento de su eficacia terapéutica. (Misra y Sahoo, 2010).

## 5. Conclusiones y perspectivas futuras

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica sobre la capacidad de direccionamiento de fármacos anticancerosos mediante el uso de nanotransportadores en el tratamiento selectivo del cáncer.

El uso de las tiene Existen dos estrategias en el uso nanopartículas como transportadores de fármacos para el tratamiento selectivo del cáncer: la estrategia pasiva y la activa. La orientación pasiva consiste en el direccionamiento de nanotransportadores al intersticio tumoral aprovechando el efecto EPR (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). La orientación activa consiste en la fijación de ligandos específicos a la superficie de las nanopartículas permitiendo el reconocimiento selectivo por las células tumorales que a menudo sobreexpresan proteínas

específicas, tales como receptores del factor de crecimiento o receptores relacionados con mayor necesidad de nutrientes (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015) (Cirstoui-Hapca y cols. 2009). La unión del ligando de orientación con su receptor provoca un posicionamiento periférico de la nanopartícula en la célula o una respuesta de endocitosis de la nanopartícula por parte de la misma (Acharya y cols. 2009), demostrando ser útil para promover la captación de las nanopartículas por las células tumorales sin dañar los tejidos sanos (Li y cols. 2017) y aumentando la efectividad terapéutica de los fármacos asociados (Lollo y cols. 2011). Los ligandos incluyen anticuerpos, transferrina, ácido fólico, ácido hialurónico, albúmina, biotina, aptámeros y péptidos (Acharya y cols. 2009) (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015).

A pesar de los impresionantes progresos alcanzados hasta la fecha, aún quedan varios desafíos por abordar antes de poder aplicar estos sistemas de forma generalizada. Por ejemplo, un obstáculo fundamental radica en el desarrollo de métodos para la incluir de forma óptima el fármaco en las nanopartículas y que a su vez permita una adecuada liberación del mismo. Además de los esfuerzos en el desarrollo de las propias nanopartículas, es de enorme importancia desarrollar ensayos *in vitro* realistas, que puedan evaluar eficazmente el rendimiento de los sistemas de administración de fármacos basados en nanopartículas (Xia y cols. 2014).

En un futuro, podrían convertirse en prometedores tratamientos contra el cáncer, los llamados nanotransportadores multifuncionales que combinan el diagnóstico así como la terapia dirigida contra el cáncer ya que contienen agentes terapéuticos y de imagen, de forma que podrían permitir detectar selectivamente células cancerosas y destruirlas con efectos secundarios mínimos mientras se monitorizan los efectos producidos por el tratamiento en tiempo real. Las nanopartículas magnéticas son ejemplos claros de nanosistemas de este tipo, ya que son portadores de fármacos anticancerosos y tienen además un núcleo inorgánico de materiales magnéticos que actúan como agentes de contraste en resonancia magnética de imagen (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015).

Los recientes avances técnicos, junto con los conocimientos acumulados en las últimas décadas hacen indicar que todas estas nanopartículas “inteligentes” revolucionarán el campo de la terapia contra el cáncer, mejorando significativamente tanto la calidad de vida del paciente como la duración de esta (Xia y cols. 2014).

## **6. Bibliografía**

- Acharya S, Dilnawaz F, Sahoo S. Targeted epidermal growth factor receptor nanoparticle bioconjugates for breast cancer therapy. *Biomaterials*. 2009; 30: 5737-5750.
  
- Alibolandi M, Ramezani M, Abnous K, Sadeghi F, Atyabi, Asouri M, Ahmadi A, Hadizadeh F. In vitro and in vivo evaluation of therapy targeting epithelial-cell adhesion-molecule aptamers for non-small cell lung cancer. *J Control Release*. 2015; 209: 88-100.
  
- Ashrafuzzaman M. Aptamers as Both Drugs and Drug-Carriers. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 1-21.
  
- Baberjee D., Harfouche R., Sengupta S. Nanotechnology-mediated targeting of tumor angiogenesis. *Vasc cell* 2011; 3: 3-15
  
- Bazak R., Hourri M., El Achy S., Kamel T., Refaat T. Cancer active targeting by nanoparticles: a comprehensive review of literature. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2015; 141 (5): 769-784.
  
- Blair H, Deeks E. Albumin-Bound Paclitaxel: A Review in Non-Small Cell Lung Cancer. *Drugs*. 2015; 75: 2017-2024.
  
- Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnostic. *Adv. Drug Delivery Rev*. 2012; 64: 24-36
  
- Byrne J, Betancourt T, Brannon-Peppas L. Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2008; 60: 1615-1626.
  
- Chabner BA, Roberts TG. Chemotherapy and the war on cancer. *Timeline*. 2005; 5: 65-72.
  
- Chen H, Gao J, Lu Y, Kou G, Zhang H, Fan L, Sun Z, Guo Y, Zhong Y. Preparation and characterization of PE38KDEL-loaded anti-HER2 nanoparticles for targeted cancer therapy. *J Control Release*. 2008; 128: 209-216.
  
- Chen Y, Wu J, Huang L. Nanoparticles Targeted With NGR Motif Deliver c-myc siRNA and Doxorubicin for Anticancer Therapy. *Mol. Ther*. 2009; 4: 828-834.
  
- Cho H, Yoon H, Koo H, Ko S, Shim J, Lee Ju, Kim K, Kwon, Kim D. Self-assembled nanoparticles based on hyaluronic acid-ceramide (HA-CE) and Pluronic® for tumor-targeted delivery of docetaxel. *Biomaterials*. 2011; 32: 7181-7190.
  
- Cho K, Wang S, Nie S, Chen Z, Shin D. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clin. Cancer Res*. 2008; 14: 1310-1316.

- Choi K, Chung H, Min K, Yoon H, Kim K, Park J, Kwon I, Jeong S. Self-assembled hyaluronic acid nanoparticles for active tumor targeting. *Biomaterials*. 2010; 31: 106–114.
- Cirstoiu-Hapca A, Buchegger F, Bossy L, Kosinski M, Gurny R, Delie F. Nanomedicines for active targeting: Physico-chemical characterization of paclitaxel-loaded anti-HER2 immunonanoparticles and in vitro functional studies on target cells. *Eur J Pharm Sci*. 2009; 38: 230-237.
- Cirstoiu-Hapca A, Buchegger F, Lange N, Bossy L, Gurny R, Delie F. Benefit of anti-HER2-coated paclitaxel-loaded immuno-nanoparticles in the treatment of disseminated ovarian cancer: Therapeutic efficacy and biodistribution in mice. *J Control Release*. 2010; 144: 324-331.
- Coccolini F, Acocella F, Morosi L, Brizzola S, Ghiringhelli M, Ceresoli M, Davoli E, Ansaloni L, D'Incalci M, Zucchetti M. High Penetration of Paclitaxel in Abdominal Wall of Rabbits after Hyperthermic Intraperitoneal Administration of Nab-Paclitaxel Compared to Standard Paclitaxel Formulation. *Pharm Res*. 2017; 34: 1180-1186.
- Danhier F, Feron O, Pr at V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *J Control Release*. 2010; 148 (2): 135-146.
- Danhier F, Vroman B, Lecouturier N, Crockart N, Pourcelle V, Freichels H, J r me C, Marchand-Brynaert J, Feron O, Pr at V. Targeting of tumor endothelium by RGD-grafted PLGA-nanoparticles loaded with paclitaxel. *J Control Release*. 2009; 140: 166-173.
- David A. Peptide ligand-modified nanomedicines for targeting cells at the tumor microenvironment. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2017; Accepted.
- Dhar S, Gu F, Langer R, Farokhzad O, Lippard S. Targeted delivery of cisplatin to prostate cancer cells by aptamer functionalized Pt(IV) prodrug-PLGA-PEG nanoparticles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 2008; 106 (45): 17356-17361.
- Dhar S, Kolishetti N, Lippard S, Farokhzad O. Targeted delivery of a cisplatin prodrug for safer and more effective prostate cancer therapy in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 2011; 108 (5): 1850-1885.
- Dimova I., Popivanov G., Djonov V. Angiogenesis in cancer- general pathways and their therapeutic implications. *J BUON* 2014; 19 (1): 15-21
- Dixit S, Novak T, Miller K, Zhu Y, Kenney M, Broome A. Transferrin receptor-targeted theranostic gold nanoparticles for photosensitizer delivery in brain tumors. 2015; 7(5): 1782-1790.
- Gilad Y, Firer M, Gellerman G. Recent Innovations in Peptide Based Targeted Drug Delivery to Cancer Cells. *Biomedicines*. 2016; 4 (2): E11

- Guo J, Gao X, Su L, Xi Ha, Gu G, Pang Z, Jiang X, Yao L, Chen J, Chen H. Aptamer-functionalized PEG–PLGA nanoparticles for enhanced anti-glioma drug delivery. *Biomaterials*. 2011; 32: 8010-8020.
- Guo Y, Wang L, Lv P, Zang P. Transferrin-conjugated doxorubicin-loaded lipid-coated nanoparticles for the targeting and therapy of lung cancer. *Oncol Lett*. 2015; 9: 1065-1072.
- IARC. Globocan [en línea]. [Consultado en julio de 2017]. Disponible en: [http://globocan.iarc.fr/Pages/summary\\_table\\_pop\\_sel.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/summary_table_pop_sel.aspx)
- Lee G, Kim J, Choi K, Yoon H, Kim K, Kwon I, Choi K, Lee B, Park J, Kim I. Hyaluronic acid nanoparticles for active targeting atherosclerosis. *Biomaterials*. 2015; 53: 341-348.
- Li B, Li Q, Mo J, Dai H. Drug-Loaded Polymeric Nanoparticles for Cancer Stem Cell Targeting. *Front Pharmacol*. 2017; 8: 51.
- Li M, Tang Z, Zhang Y, Lv S, Li Q, Chen X. Targeted delivery of cisplatin by LHRH-peptide conjugated dextran nanoparticles suppresses breast cancer growth and metástasis. *Acta Biomater*. 2015; 18: 132-143.
- Liang C, Yang Y, Ling Y, Huang Y, Li T, Li X. Improved therapeutic effect of folate-decorated PLGA–PEG nanoparticles for endometrial carcinoma, *Bioorg. Med. Chem*. 2011; 19: 4057–4066.
- Liu C, Liu F, Feng L, Li M, Zhang M, Zhang N. The targeted co-delivery of DNA and doxorubicin to tumor cells via multifunctional PEI-PEG based nanoparticles. *Biomaterials*. 2013; 34: 2547-2564.
- Liu F, Li M, Liu C, Liu Y, Liang Y, Wang F, Zhang N. Tumor-Specific Delivery and Therapy by Double-Targeted DTX-CMCS-PEG-NGR Conjugates. *Pharm. Res*. 2014; 31: 475- 488.
- Lollo G., Rivera-Rodríguez G., Torres D., Alonso M. Nanoterapias oncológicas: aplicaciones actuales y perspectivas futuras. *An Real Acad Farm*. 2011; 77 (4): 76-98
- Mattheolabakis G, Milane L, Singh A, Amiji M. Hyaluronic acid targeting of CD44 for cáncer therapy: from receptor biology to nanomedicine. *J Drug Target*. 2015; 23 (7-8): 605-618.
- Maya S, Kumar L, Sarmiento B, Rejinold N, Menon D, Nair S, Jayakumar R. Cetuximab conjugated O-carboxymethyl chitosan nanoparticles for targeting EGFR overexpressing cancer cells. *Carbohydr Polym*. 2013; 93: 661-669.
- Maya S, Sarmiento B, Lakshmanan V, Menon D, Seabra V, Jayakumar R. Chitosan cross-linked docetaxel loaded EGF receptor targeted nanoparticles for lung cancer cells. *Int. J. Biol. Macromol*. 2014; 69: 532-541.

- Milane L, Duan Z, Amiji M. Therapeutic Efficacy and Safety of Paclitaxel/Lonidamine Loaded EGFR-Targeted Nanoparticles for the Treatment of Multi-Drug Resistant Cancer. PLoS ONE. 2011; 6 (9).
- Misra R, Sahoo S. Intracellular trafficking of nuclear localization signal conjugated nanoparticles for cancer therapy. Eur J Pharm Sci. 2010; 39:152-163.
- Moghimi S, Hunter A, Murray J. Long-circulating and target specific nanoparticles: theory to practise. Phamacol. Rev. 2001; 53: 283-318
- Na K, Bum, T, Park K, Shin E, Lee Y, Choi H. Self-assembled nanoparticles of hydrophobically-modified polysaccharide bearing vitamin H as a targeted anti-cancer drug delivery system. Eur J Pharm Sci. 2003; 18: 165-173.
- Nag M, Gajbhiye V, Kesharwani P, Jain N. Transferrin functionalized chitosan-PEG nanoparticles for targeted delivery of paclitaxel to cancer cells. Colloids Surf B Biointerfaces. 2016; 148: 363-370.
- Ni M, Xiong M, Zhang X, Cai G, Chen H, Zeng Q, Yu Z. Poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles conjugated with CD133 aptamers for targeted salinomycin delivery to CD133+ osteosarcoma cancer stem cells. 2015; 10: 2537-2554.
- OMS. Cáncer [en línea]. [Consultado en julio de 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
- Parveen S. y Sahoo S. Evaluation of cytotoxicity and mechanism of apoptosis of doxorubicin using folate-decorated chitosan nanoparticles for targeted delivery to retinoblastoma. Cancer Nanotechnol. 2010; 1: 47-62.
- Patil Y, Toti U, Khdair A, Mac L, Panyam J. Single-step surface functionalization of polymeric nanoparticles for targeted drug delivery. Biomaterials. 2009; 30: 859-866.
- Pérez-Herrero E. y Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. Eur J Pharm Biopharm. 2015; 93: 52-79.
- Sriraman S, Salzano G, Sarisozen C, Torchilin V. Anti-cancer activity of doxorubicin-loaded liposomes co-modified with transferrin and folic acid Eur J Pharm Biopharm. 2016; 105: 40-49.
- Taheri A, Dinarvand R, Atyabi F, Ghahremani M, Ostad S. Trastuzumab decorated methotrexate–human serum albumin conjugated nanoparticles for targeted delivery to HER2 positive tumor cells. Eur J Pharm Sci. 2012; 47: 331-340.
- Teow Y. y Valiyaveetil S. Active targeting of cancer cells using folic acid-conjugated platinum nanoparticles. Nanoscale. 2010; 2: 2607-2613.



- Thaeri A, Dinarvand R, Nouri F, khorramizadeh M, Borougeni A, Mansoori P, Atyabi F. Use of biotin targeted methotrexate–human serum albumin conjugated nanoparticles to enhance methotrexate antitumor efficacy. *Int J Nanomedicine*. 2011; 6: 1863-1874.
- Wang H, Agarwal P, Zhao S, Yu J, Lu X, He X. Combined cancer therapy with hyaluronan-decorated fullerene-silica multifunctional nanoparticles to target cancer stem-like cells. *Biomaterials*. 2016; 97: 62-73.
- Wang Z, Chui W, Ho P. Design of a Multifunctional PLGA Nanoparticulate Drug Delivery System: Evaluation of its Physicochemical Properties and Anticancer Activity to Malignant Cancer Cells. *Pharm. Res*. 2009; 26: 1162-1171.
- Xia Y., Sun T., Shrike Y., Pang B., Choon D. y Yang M. Engineered nanoparticles for drug delivery in cancer therapy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. 2014; 53: 12320-12364.
- Xin H, Jiang X, Gu J, Sha X, Chen L, Law K, Chen Y, Wang X, Jiang Y, Fang X. Angiopep-conjugated poly(ethylene glycol)-co-poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanoparticles as dual-targeting drug delivery system for brain glioma. *Biomaterials*. 2011; 32: 4293-4305.
- Yellepeddi V, Kumar A, Palakurthi S. Biotinylated Poly(amido)amine (PAMAM) Dendrimers as Carriers for Drug Delivery to Ovarian Cancer Cells In Vitro. *Anticancer Res*. 2009; 29: 2933-2944.
- Zhang C, Zhao L, Dong Y, Zhang X, Lin J, Chen Z. Folate-mediated poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyoctanoate) nanoparticles for targeting drug delivery. *Eur J Pharm Sci*. 2010; 76: 10-16.
- Zhao M, Li H, Ma Y, Gong H, Yang S, Fang Q, Hu Z. Nanoparticle abraxane possesses impaired proliferation in A549 cells due to the underexpression of glucosamine 6-phosphate N-acetyltransferase 1 (GNPNAT1/GNA1). *Int J Nanomedicine*. 2017; 12: 1685-1697.