



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**Aplicaciones de la nanomedicina para el
diagnóstico y tratamiento del cáncer de mama**

Autor: Almudena Fernández Sanchidrián

Tutor: Ana Isabel Torres Suárez

Convocatoria: Junio 2017

1. RESUMEN.

El cáncer es una de las patologías más frecuentes en los países desarrollados. En España supone la segunda causa de muerte en el caso de las mujeres, siendo los tumores más frecuentemente diagnosticados entre ellas el cáncer de mama, el colorectal y el de cuerpo uterino. Este trabajo se centra en el primero de ellos.

Existen numerosos fármacos comercializados para el tratamiento del cáncer, para el cáncer de mama un ejemplo son los taxanes o las antraciclinas. Sin embargo, en un alto porcentaje de casos se producen resistencias a dichos tratamientos y, además, los efectos adversos son comunes y muy graves. Por ello, es necesario el uso de alternativas como es la nanotecnología.

Gracias a la nanotecnología se han desarrollado nanosistemas que portan los fármacos y ofrecen una gran cantidad de ventajas frente a los sistemas clásicos como la posibilidad de dirigir el fármaco al lugar de acción o disminuir su degradación sistémica.

Estos nanosistemas se pueden utilizar tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de los tumores y se puede llevar a cabo a través de distintas vías como son la vectorización activa, pasiva o bien, la liberación mediada por estímulos externos como puede ser el calor. Son varios los nanosistemas ya comercializados como son el Abraxane®, el Doxil® o el ThermoDox®.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

La palabra “cáncer” está definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un término genérico que engloba a un grupo muy amplio de enfermedades, más de 100, perfectamente diferenciadas, que puede afectar a cualquier parte del organismo.

Globalmente una de cada siete muertes es debida al cáncer. En España, los tumores son la primera causa de muerte en el caso de los hombres y la segunda causa en el caso de las mujeres.⁽¹⁾ Existe una diferenciación en los tumores más frecuentes en función del sexo, los cánceres más comúnmente diagnosticados en mujeres son el cáncer de mama, el colorectal y el de cuerpo uterino, siendo el primero de ellos el objeto de estudio de este trabajo.⁽²⁾

El cáncer de mama es el cáncer más diagnosticado entre las mujeres de, prácticamente, todo el mundo (140 de 184 países). Existen numerosos tipos de cáncer de mama, por lo que cada uno de ellos difiere en su presentación y respuesta al tratamiento.

Gracias a las técnicas para su detección y tratamiento la mortalidad de este tipo de cáncer se ha visto reducida ampliamente en los últimos años. Sin embargo, tanto los sistemas de detección como los agentes quimioterapéuticos presentan inconvenientes; como son los artefactos que

pueden interferir en las técnicas diagnósticas, o los efectos adversos producidos por los fármacos; que hace que se tengan que buscar alternativas más eficaces.⁽³⁾

Para ello, se utiliza la nanomedicina, a través de las nanopartículas, que ofrecen grandes posibilidades para mejorar tanto el diagnóstico como el tratamiento del cáncer de mama, y así poder disminuir la mortalidad y mejorar el pronóstico, aumentando la calidad de vida de las pacientes.

2.1. Epidemiología del cáncer de mama.

Como ya se ha dicho, el cáncer de mama es el tumor más frecuente en las mujeres a nivel mundial. En el caso de las mujeres europeas se estima que el riesgo de presentar un cáncer de mama antes de los 75 años es del 8%.⁽⁴⁾

En España, el cáncer de mama es el responsable de más del 25% de todos los casos de tumores en mujeres. En el año 2015 el total de tumores nuevos diagnosticados fue de 98.944, siendo 27.747 casos de cáncer de mama (excluyendo los tumores cutáneos no melanomas).⁽¹⁾

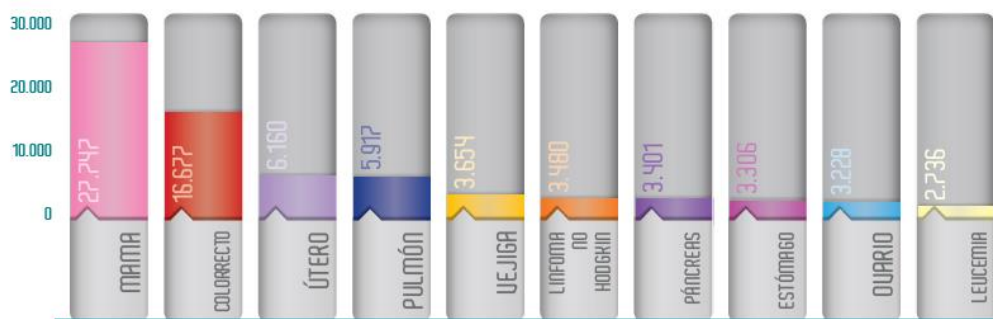


Figura 1. Estimación de la incidencia de los tumores más frecuentes en mujeres en España en el año 2015.⁽¹⁾

Esto hace que la tasa de mortalidad más elevada también sea la del cáncer de mama, sin embargo, se ha observado un descenso en esta cifra de mortalidad de casi el 2% anual desde el año 1993, pudiéndose atribuir a la mejora en los criterios diagnósticos y en los tratamientos.

2.2. Tipos de cáncer de mama.

Existen distintos tipos de cánceres de mama, que difieren en su expresión molecular, respuesta al tratamiento y comportamiento clínico, por lo que es muy importante conocer en cada caso el tipo de tumor para su tratamiento.

En líneas generales, este tipo de cáncer se puede dividir en función de si la proliferación no traspasa la membrana basal del conducto mamario (carcinoma “in situ”) o bien sí que la traspasa (carcinoma “invasivo”), produciéndose una invasión del tejido adyacente. Además, ambos tipos

pueden dividirse en función de si la proliferación se produce en el interior de un ducto o bien de un lobulillo de la glándula mamaria. También existen otros tipos como son el medular, coloide, el tubular o el inflamatorio; pero su frecuencia es mucho menor.⁽⁵⁾

Con respecto a la clasificación molecular, el cáncer de mama se divide en grupos en función de la expresión del receptor de estrógenos (RE), ya que se ha observado que es el mejor factor para diferenciarlos.^(6, 7) Esta clasificación es la que permite conocer las características de cada tipo de cáncer, para así poder actuar de acorde a lo necesario en función de sus características.

De manera práctica, al hablar de los distintos tipos de cánceres de mama a lo que se suele referir es:

- **Receptor de hormonas positivo:** estos tumores expresan receptores de estrógenos y receptores de progesterona. Corresponden al 60-75% del total y mayoritariamente se dan en mujeres postmenopáusicas.
- **HER2 positivo:** HER2 es el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano. Es un tumor de peor pronóstico que el anterior, ya que tiende a crecer rápidamente. Corresponde al 20-25% del total de casos.
- **Triple negativo:** en este caso, no expresa receptor de estrógenos, ni de progestágenos y tampoco HER2. Corresponde al 15% del total, siendo más frecuente en mujeres con mutaciones en el gen BRCA1.

3. OBJETIVOS.

El objetivo principal de este estudio es la realización de un análisis de las posibilidades que ofrecen la nanomedicina y la nanotecnología para el tratamiento y el diagnóstico del cáncer de mama en la actualidad, así como el estudio de las distintas estrategias que pueden utilizarse. El último objetivo es la descripción de los nanosistemas que se encuentran comercializados.

4. METODOLOGÍA.

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de distintos artículos y revistas científicas encontrados en distintas bases de datos como PubMed o SciELO Citation Index, a las que se ha accedido a través de la plataforma Web Of Science. La búsqueda se limitó en función del tiempo, seleccionándose aquellos estudios publicados desde el 2004 hasta la actualidad; y en función del idioma, seleccionándose publicaciones en español e inglés. Otro de los criterios fue la selección de revisiones sistemáticas, utilizando palabras claves como “breast cancer”, “nanomedicine”, “nanoparticles” o “drug delivery”.

También se han utilizado libros sobre Tecnología Farmacéutica e información recogida de páginas web de Sociedades Científicas (SEOM), Organizaciones (OMS), etc. Todas estas referencias bibliográficas se gestionaron por el programa “EndNote”.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1.LA NANOMEDICINA.

Las células tumorales tienen un crecimiento más rápido que las células sanas, siendo más susceptibles a los tratamientos que se utilizan, como son la quimioterapia y la radiación.⁽⁸⁾ Sin embargo, los agentes quimioterapéuticos que se utilizan tienen una baja especificidad por células cancerosas, distribuyéndose por todo el organismo; además de una gran toxicidad, por lo que se producen una gran cantidad de efectos adversos, siendo éste el mayor inconveniente de estos tratamientos.⁽⁹⁾ Esta gran cantidad de efectos adversos limitan la dosis máxima tolerada, por lo que se limita a su vez su eficacia.⁽¹⁰⁾

Para intentar disminuir esta gran cantidad de efectos no deseados que se producen debido al tratamiento se está investigando en otras posibilidades, y una de ellas es la nanomedicina. Esto permite disminuir mucho la toxicidad y así aumentar la seguridad y eficacia de los fármacos usados.

Según la Plataforma Española de Nanomedicina, la nanomedicina engloba las diversas aplicaciones directas de la nanobiotecnología en el tratamiento, prevención y diagnóstico de enfermedades humanas. La nanobiotecnología es el uso de materiales y estructuras a escala nanométrica (10^{-9} metro) en interacción con materia biológica.

Del diseño y caracterización de los nanosistemas es de lo que se encarga la nanotecnología farmacéutica, haciendo que su tamaño oscile entre 1 y 100 nm, aunque pueden llegar a tener tamaños de hasta 200 nm.

El uso de estas estructuras de tamaño nanométrico tiene una gran cantidad de ventajas con respecto a los fármacos libres, entre las cuales destacan las siguientes:

- Se consigue proteger al fármaco frente a la degradación rápida que se produce en el organismo.
- Se produce una mayor acumulación del fármaco en el tejido tumoral: se puede producir el cambio en las características farmacocinéticas del fármaco, mejorándolas, aumentando así su localización como fármaco libre en biofase.^(9, 11)

- Se le puede otorgar la capacidad de alcanzar el tejido diana donde debe realizar la acción, así como la capacidad de alcanzar compartimentos intracelulares atravesando las barreras biológicas.
- Se puede controlar la liberación del fármaco.⁽¹²⁾

La nanomedicina y nanotecnología son muy útiles para una gran variedad de campos, y uno de ellos es el tratamiento y diagnóstico del cáncer. Existen numerosos tipos de nanosistemas que pueden ser utilizados como son los liposomas, las nanopartículas o las micelas poliméricas.

Estos nanosistemas deben ser biocompatibles y biodegradables, tienen que tener un tamaño de partícula nanométrico, así como poseer una elevada capacidad de incorporación del fármaco además de un prolongado tiempo de circulación.⁽¹³⁾

La investigación sobre estos sistemas se centra en el cáncer para así poder conseguir disminuir la alta toxicidad sistémica que tienen los tratamientos y aumentar la especificidad por los tejidos tumorales. Estos sistemas también pueden ser utilizados para mejorar las técnicas diagnósticas y así poder detectar los tumores de manera más específica en sus primeros estadios.

5.2.LA NANOMEDICINA EN EL TRATAMIENTO Y DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER.

La nanomedicina y la nanotecnología ofrecen múltiples posibilidades ya que permiten que estos sistemas se puedan utilizar para el diagnóstico y tratamiento cáncer e incluso ambos casos a la vez.⁽³⁾ Estas tres posibilidades que nos ofrece la nanomedicina se pueden conseguir mediante diversas estrategias que son la vectorización pasiva, la vectorización activa o la liberación mediada por estímulos externos.

Además, estos sistemas se pueden utilizar para la modificación de la expresión génica, de tal manera que se utilizan genes supresores, o bien se favorece su aparición. Un ejemplo de esto es el uso de nanosistemas liposomales o de nanopartículas como nanotransportadores del ácido nucleico que se necesite, de tal manera que se protege, evitando su degradación en el cuerpo. Un ejemplo es su uso para la modificación de la expresión de la proteína p53, que está implicada en el control de la apoptosis. Un mal funcionamiento de esta proteína p53 podría ser responsable de que los tejidos tumorales no respondieran a los fármacos utilizados.^(14, 15)

5.2.1. Tratamiento del cáncer.

5.2.1.1. Vectorización pasiva.

Los tejidos tumorales tienen unas características fisiopatológicas distintas a un tejido sano, y esto se puede aprovechar para conseguir la vectorización pasiva de los fármacos.⁽¹⁴⁾ La vasculatura sana está perfectamente estructurada y ordenada, y tiene unas separaciones de aproximadamente 20-30 nanómetros. Sin embargo, esta ordenación se pierde en un tejido tumoral, siendo desordenado y estas fenestras pasan a tener un tamaño que puede ir de 100 hasta 200 nanómetros, llegando incluso a fenestraciones de 1000 nm. Esto hace que las moléculas tiendan a atravesar estos tejidos y a acumularse en ellos con mayor facilidad.⁽¹⁶⁾

La vectorización pasiva se basa en el fenómeno de permeabilidad y retención incrementada (efecto EPR), que se produce por las características especiales que tienen los tumores, que son una alta angiogénesis; que se trata del desarrollo de vasos sanguíneos nuevos a partir de la vasculatura

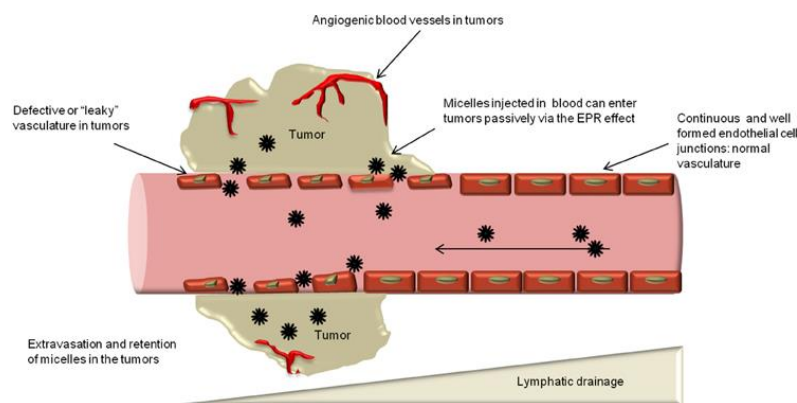


Figura 2. Paso de los fármacos al tejido tumoral por el efecto de permeabilidad y retención incrementada.⁽¹⁷⁾

existente; una vasculatura débil y una baja tasa de flujo linfático.⁽³⁾

Para este tipo de distribución hay que tener en cuenta que cada tumor es distinto, por lo que el tamaño de sus fenestras va a variar y por tanto debe variar el tamaño de los sistemas que se administren.

También hay que tener en cuenta que las partículas con tamaños menores van a penetrar más rápida y uniformemente que las más grandes. Por otro lado, las partículas más pequeñas, menores de 11 nm, van a ser eliminadas con mayor rapidez por el sistema hepático y renal, mientras que las más grandes van a tender a ser eliminadas por el sistema fagocítico mononuclear. Es decir, la elección del sistema debe ser un equilibrio entre encontrar un tamaño que favorezca la penetración pero a su vez que minimice su rápida eliminación.⁽¹⁸⁾

5.2.1.2. Vectorización activa.

La vectorización activa se basa en dirigir el fármaco de manera específica al lugar donde debe realizar su acción. Para ello, se utilizan ligandos de los receptores que se sobreexpresan en el tumor.⁽³⁾

Son muchos los ligandos que se pueden utilizar como moléculas diana para dirigir los nanosistemas en el cáncer de mama. El ligando ideal para ser utilizado debe expresarse en las células tumorales, pero no en las células sanas; no debe haber mutaciones o variaciones; y debe tener alguna función crítica en la célula.⁽¹³⁾

La integrina $\alpha\beta_3$ se trata de un marcador angiogénico que se sobreexpresa en células endoteliales de varios tumores como es el caso de las células tumorales del cáncer de mama; en su dominio extracelular tiene un receptor de análogos de hormonas tiroideas y, por otra parte, cRGD también se une a ella. También se puede utilizar el receptor de folato como ligando, molécula que se sobreexpresa en este tipo de cáncer.^{(19, 20).}

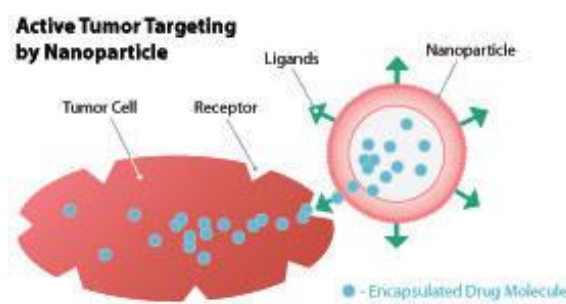


Figura 3. Esquema de vectorización activa.⁽²¹⁾

Otro de los ligandos que se puede utilizar es el HER2 (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano). No todos los casos de cáncer de mama expresan este factor, pero sí un 20-25% de ellos. Para esto, se puede usar el trastuzumab, que se trata de un anticuerpo monoclonal cuyo ligando es el dominio extracelular de HER2.⁽²²⁾ El uso de anticuerpos monoclonales es una buena opción para realizar esta vectorización dirigida.

También se sabe que una característica importante de las células tumorales es que su consumo de glucosa se ve aumentado, así como la expresión de las proteínas transportadoras de glucosa (GLUTs1-14). En concreto, en el caso del cáncer de mama se ha demostrado una asociación entre la sobreexpresión del transportador GLUT1 y la aparición de metástasis. Esto se puede aprovechar como una diana a la hora de la vectorización activa.⁽²³⁾

Esta vectorización se lleva a cabo a través de las cadenas de polietilenglicol (PEG) ya que a ellas se pueden unir numerosos ligandos de distintos tipos como péptidos, proteínas, anticuerpos, aptámeros, o moléculas sencillas.⁽¹³⁾

Este proceso hace que el diagnóstico y el tratamiento sea más específico y así se disminuye más la cantidad de efectos adversos producidos.⁽³⁾

5.2.1.3. Estímulos externos.

La vectorización activa tiene ciertos aspectos negativos ya que no se puede utilizar en todos los pacientes, porque puede que no expresen dichos receptores; y, además, muchas veces los tumores desarrollan resistencias frente a estos tratamientos tan específicos. Por eso, una buena estrategia es el uso de estímulos externos para la liberación local de estos fármacos.⁽¹⁰⁾

Se pueden desarrollar sistemas que sean sensibles a distintos estímulos, es decir, que liberen el fármaco bajo determinadas circunstancias. Esto se basa en que los tejidos tumorales tienen una temperatura mayor y un pH menor que los tejidos normales,

además de poseer sistemas enzimáticos específicos.⁽¹³⁾ Pero también se pueden usar técnicas clásicas que se modifican con el uso de estos nanosistemas como el uso de campos magnéticos.

Temperatura.

Los tejidos tumorales tienen una temperatura superior a la temperatura corporal. Por lo que se puede aprovechar esta característica para conseguir una liberación selectiva del fármaco en el interior tumoral por el cambio de temperatura.

Los sistemas que se utilizan en este caso son estables a temperaturas de 37°C, que es la temperatura corporal, pero tienen una temperatura de transición de fase entre 39°C y 41°C, que es la temperatura aproximada que tienen los tumores. Es decir, a temperaturas de alrededor de 39°C, el sistema se desestabiliza, dejando así libre el fármaco en el interior tumoral. Para conseguir este fenómeno se utilizan lisofosfolípidos en fase gel.⁽¹³⁾

pH.

El tejido normal tiene un pH alrededor de 7,4 mientras que en los tejidos tumorales el pH es de aproximadamente 6, esto es debido a la hipoxia que se produce y el alto metabolismo de lactato que hay en el tumor.⁽¹⁹⁾ Los sistemas utilizados en este caso mantienen su estructura durante su circulación por el torrente sanguíneo. Cuando llegan a los tejidos tumorales se acumulan ahí gracias al efecto EPR y sufren una rotura por el cambio de pH, liberando el fármaco de su interior.

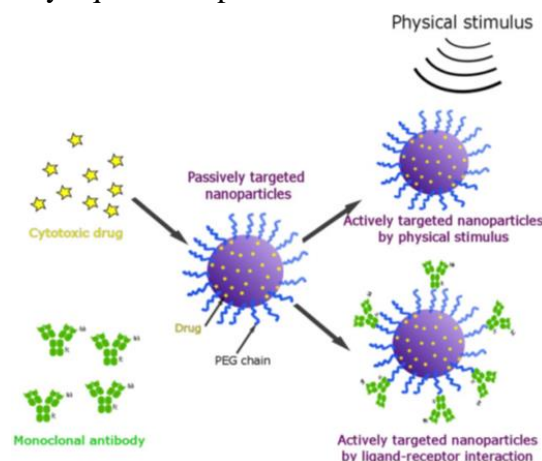


Figura 4. Comparación vectorización activa y liberación mediada por estímulos externos.⁽¹⁰⁾

La liberación del fármaco a pH más bajos se puede conseguir con distintas estrategias. La primera de ellas es usar una unión hidrazona en el sistema, que facilita la liberación del fármaco a pH de en torno a 6.⁽¹⁹⁾ También, se utilizan lípidos ligeramente ácidos, como el DOPE (dioleilfosfatidil etanolamina), ácido oleico, PEG carboxilados o copolímeros de derivados hidrofóbicos de N-isopropilacrilamida. A pH neutro, como es el pH de los tejidos normales, mantienen su estructura, sin embargo, a pH más ácidos, sufren una protonización, desestabilizándose y produciéndose la rotura, liberando así el fármaco de su interior.⁽¹³⁾

Enzimas.

Además de las diferencias de temperatura y pH existentes en los tejidos tumorales, también se produce la sobreexpresión de distintos sistemas enzimáticos, como la fosfolipasa A2 o distintas metaloproteasas. Estos sistemas suelen llevar polietilenglicol (PEG), que hace que su circulación sea más duradera, pero su interacción con las membranas celulares es menor. Por lo tanto, se incorpora un espaciador que se rompe por la acción de estas metaloproteasas presentes en diversos tumores, para así favorecer la interacción con las membranas celulares.⁽¹³⁾

Técnicas externas para la liberación controlada del fármaco.

Existen numerosas técnicas que se pueden utilizar, como son los rayos X, ultrasonidos, ablación térmica o los campos magnéticos para este fin. La técnica ideal debería ser específica del tejido tumoral, sin inducir efectos adversos en el tejido sano de alrededor.⁽¹⁰⁾

La ablación térmica es un método que ha sido mejorado con el uso de estos sistemas. Este método produce la muerte del tejido tumoral pero también del tejido sano de su alrededor. Se caracteriza por la aplicación de temperaturas en torno a 41-47°C, durante 10 minutos, lo que produce un daño irreversible en el tejido.⁽³⁾

	Advantage	Inconvenient
X-rays	Good penetration Very precise Easily tuned	High cost, ionizing radiation
Magnetic field	Accumulation of particles with magnetic field Energy modulation with an alternating magnetic field	Accumulation can lead to embolism or increased cytotoxicity Only for surface tumors High cost
Light	Very precise Easily tuned Low cost	Limited tissue penetration (can be enhanced with NIR light) Invasive for deep zone
Ultrasound	Good penetration (Dependent on frequency) Easily tuned Low cost	Difficulty to target moving organs Homogeneous exposure of large zones remains a challenge
Radiofrequency Hyperthermia	Easily tuned	Invasive, temperature gradient from the heated zone
Microwaves	Easily tuned Homogeneous	Low penetration, only area close to the surface

Figura 5. Comparación de las técnicas externas para la liberación de fármacos.⁽¹⁰⁾

Sin embargo, esta técnica se ha mejorado gracias al uso de nanosistemas que absorben radiación, y al excitarse emiten una radiación que actúa sobre los tejidos tumorales donde se encuentra. Un ejemplo de esto es el uso de nanoshells, que cuando se ven expuestos a la luz adecuada producen tal calor que produce la muerte del tejido.⁽²⁴⁾ La ventaja que tiene es que la energía utilizada

solamente va a afectar al tejido tumoral al que han llegado los sistemas dirigidos, sin afectar al tejido sano de alrededor.⁽¹⁰⁾ A su vez, estas partículas pueden llegar a su zona de actuación bien mediante el proceso de extravasación y retención aumentado en los tumores, o bien mediante una vectorización activa.

También se puede utilizar la hipertermia magnética, usando nanopartículas magnéticas. La liberación se consigue gracias a la producción de calor por las nanopartículas en presencia de un campo magnético. Esto se probó con nanopartículas de óxido de hierro, conjugadas con un anticuerpo específico frente a HER2, bajo la influencia de un campo magnético.⁽²⁴⁾

Con respecto a los ultrasonidos, es una técnica que produce diversos efectos en el cuerpo humano, y uno de ellos es el aumento de la temperatura. Cada tejido tiene una respuesta al cambio de temperaturas distinto, que varía entre los 39°C y los 59°C. Este amplio rango tiene su punto medio en los 43°C.

A temperaturas menores de 43°C (hipertermia media), se produce un aumento de la circulación sanguínea en el tumor por la dilatación de los vasos sanguíneos. Se aumenta la acumulación de los fármacos en dichos tejidos, al producirse un aumento en la permeabilidad vascular.

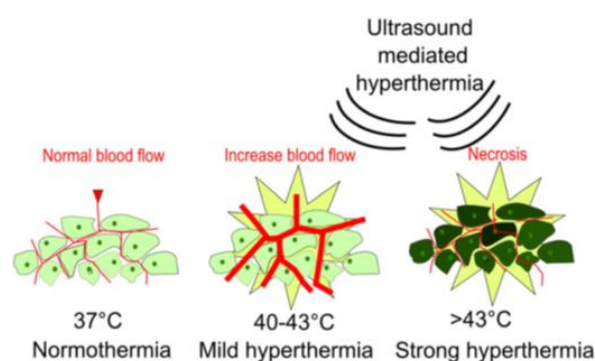


Figura 6. Variación en la respuesta del tejido según la temperatura.⁽¹⁰⁾

Por el contrario, a temperaturas mayores de 43°C (hipertermia fuerte) se produce una rápida necrosis de los tejidos, con desnaturalización irreversible de las proteínas. Esto se aprovecha para producir un aumento de la temperatura de manera localizada y así producir la muerte del tejido tumoral.⁽¹⁰⁾

Esta técnica puede tener efectos adversos debido a la reverberación o refracción de las ondas acústicas, y esto tiene lugar en zonas con burbujas de aire residual como la piel. Esto ocurre en el cáncer de mama, de tal manera, que no se puede tratar con ultrasonidos sin esperar dañar a la piel.

5.2.2. Diagnóstico del cáncer.

El uso de estos nanosistemas en el diagnóstico del cáncer abre un gran campo al diagnóstico precoz y por tanto a la mejoría del pronóstico.⁽²⁴⁾ Las técnicas de imagen que se utilizan son las mismas que ya existen (resonancia magnética, ultrasonidos, etc.). Pero los compuestos clásicos que se utilizan son poco específicos, tóxicos, inestables y, por lo tanto, rápidamente eliminados.

Se pueden utilizar muchos nanosistemas como agentes de diagnóstico como las nanopartículas o los materiales superparamagnéticos de óxidos de hierro. También se pueden utilizar los quantum dots, que pueden modificarse para conseguir que emitan radiación entre 450 nm y 850 nm, es decir, desde el ultravioleta hasta prácticamente el infrarrojo.⁽¹⁵⁾ Se pueden utilizar para detectar numerosos marcadores y también como agentes de contraste.⁽¹⁴⁾ Sin embargo, suelen contener materiales tóxicos en su núcleo, por lo tanto, su uso clínico se ve muy limitado.

Todos estos sistemas, además, pueden ser modificados en su superficie, añadiéndoles anticuerpos monoclonales o bien aptámeros, de tal manera que se dirijan de forma específica a su lugar de acción.⁽³⁾ Además, con estos sistemas se puede cuantificar la cantidad de marcadores que hay en el tejido tumoral. Esto hace que el tratamiento se pueda personalizar y dirigir de acuerdo al tumor existente.⁽¹⁵⁾

Otra de las opciones que ofrecen los nanosistemas es la posibilidad de monitorizar el tratamiento viendo el estado antes y después utilizando alguno de estos nanosistemas.

5.3. SISTEMAS COMERCIALIZADOS.

Las antraciclinas son uno de los agentes quimioterapéuticos más usados para tratar el cáncer de mama, sin embargo, tienen un uso limitado debido a sus graves efectos tóxicos, incluyendo cardiotoxicidad, nefrotoxicidad y mielosupresión.⁽¹⁹⁾ Para evitar estos problemas se han desarrollado distintos nanosistemas como son los liposomas de doxorubicina.⁽¹⁵⁾

Se han realizado numerosos estudios comparando pacientes con un tratamiento de doxorubicina normal y pacientes bajo tratamiento con liposomas de doxorubicina. La eficacia en ambos grupos no difiere significativamente, pero sí el desarrollo de problemas cardíacos y la posibilidad de desarrollarlos, por lo tanto, se demuestra cómo con los liposomas se disminuye este riesgo. Lo mismo ocurre con los liposomas pegilados (con polietilenglicol).⁽¹⁵⁾

Estos fármacos son más activos en casos de cáncer de mama que son HER2 positivos, por lo tanto, se ha combinado estos liposomas con el anticuerpo monoclonal trastuzumab, específico para HER2, observándose una alta efectividad.⁽¹⁵⁾

Otro grupo de fármacos que se utilizan mucho en el tratamiento del cáncer de mama son los taxanes, como el paclitaxel y el docetaxel, que son altamente hidrofóbicos por lo que se tienen que administrar junto con vehículos sintéticos como son el aceite de castor polietilado y el etanol polisorbato. El paclitaxel concretamente se prepara en conjunto con el Cremophor EL (Taxol®). Estos vehículos son responsables de la mayor parte de los efectos adversos que se producen, como

reacciones de hipersensibilidad, nefrotoxicidad o neurotoxicidad, por lo que desarrollar un sistema alternativo es de gran utilidad.^(15, 25-29)

Estos sistemas alternativos se basan en la sustitución del aditivo Cremophor EL® para obtener así preparaciones más seguras, evitando los efectos adversos asociados.

5.3.1. Liposomas.

Doxil® se trata de una formulación de liposomas de doxorubicina de un tamaño de 80-90 nm, fue el primer nanosistema aprobado por la FDA a mediados de 1900. En un principio se aprobó para el uso en el sarcoma de Kaposi, pero en la actualidad está indicado también para el tratamiento del cáncer de mama y ovario.

Este sistema tiene un tamaño final de unos 100 nm y se acumula en su tejido diana gracias al efecto de retención y acumulación aumentados (efecto EPR).⁽³⁰⁾

La liberación de doxorubicina a través de este nanosistema es muy lenta, menos del 10% en 24 horas.⁽³¹⁾ También su penetración al tejido tumoral es limitada. Además, la tasa de supervivencia no se vio aumentada gracias a esta formulación en el caso del cáncer de mama, pero sí se disminuyó la toxicidad cardiaca asociada a la doxorubicina.⁽¹⁰⁾

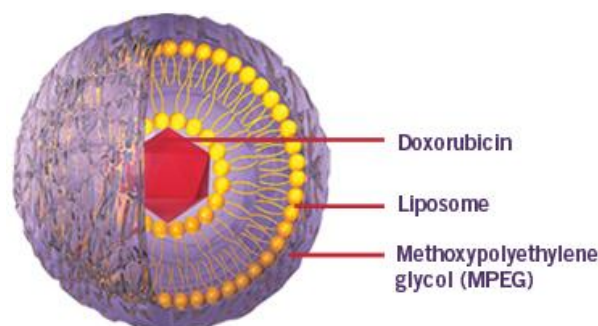


Figura 7. Esquema del sistema Doxil®.⁽³³⁾

Por otra parte, se trata de un sistema pegilado, con PEG en su superficie, lo que hace que se evite el sistema reticuloendotelial, por lo que se aumenta su tiempo de circulación en sangre y se disminuye su rápida eliminación.⁽³²⁾

La presencia de PEG en su estructura hace que se prolongue su circulación, pero también hace que se desarrollen efectos adversos que no aparecían con el fármaco libre como es la eritrodisestesia palma-plantar, que se caracteriza por producir fuertes dolores en las manos y pies.^(34, 35)

Por esto se desarrolló otro liposoma de doxorubicina, pero en este caso se trata de una formulación que responde a estímulos térmicos: **ThermoDox®**. Este sistema contiene tres componentes lipídicos distintos, que son la dipalmitoilfosfatidilcolina, la monoestearoilfosfatidilcolina y el polietilenglicol-2000-diestearoilfosfatidiletanolamina. Este sistema se aprovecha de la diferencia de temperaturas que poseen los tejidos sanos y los tejidos

tumorales, de tal manera que los dos primeros lípidos tienen una temperatura de transición de fase, es decir, que pasan de fase gel a fase líquida, de en torno 41°C, que es la temperatura aproximada que tienen los tejidos tumorales.⁽³¹⁾

Esto quiere decir que, durante su tránsito por el organismo, los liposomas protegen a la doxorubicina de su degradación y liberación, pero cuando llegan al tejido tumoral; bien por vectorización activa o bien por el efecto de retención y acumulación; al aumentar la temperatura, se produce un cambio de estado, liberándose el fármaco de su interior.⁽³¹⁾

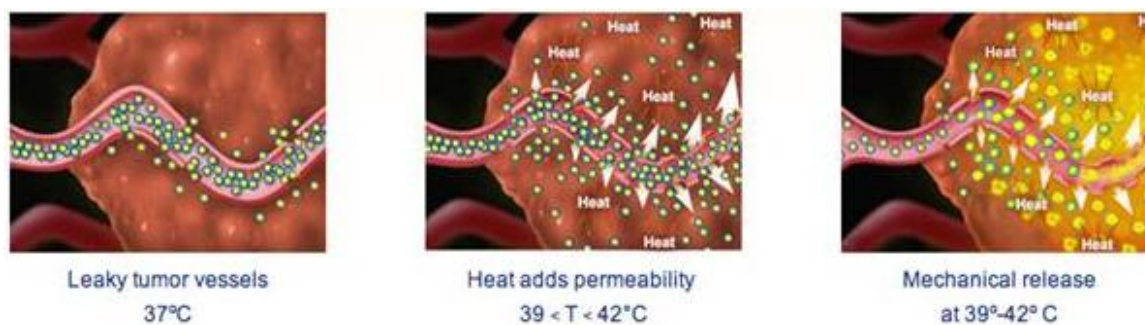


Figura 8. Mecanismo de actuación del sistema ThermoDox®.⁽³⁶⁾

Sin embargo, en nuestra circulación sanguínea existen proteínas que son capaces de disgregar los lípidos utilizados para la formulación del ThermoDox, por lo tanto, aproximadamente el 50% de su contenido se libera en tan solo una hora en ambientes fisiológicos.⁽³¹⁾

Para evitar este problema, un grupo de investigación creó una formulación evitando los lípidos, es decir, se sustituye la monoestearoilfosfatidilcolina por colesterol y además se encapsula bicarbonato amónico. Este bicarbonato a altas temperaturas crea burbujas, produciendo defectos en la permeabilidad de la barrera lipídica, por lo que se produce una rápida liberación, aumentando así la concentración del fármaco en el tejido. Tras esta rápida liberación, el fármaco puede atravesar por difusión pasiva a las células tumorales.⁽³¹⁾

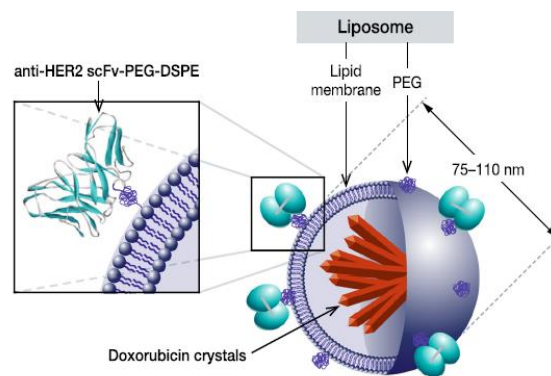
Se han realizado una gran cantidad de ensayos clínicos de este sistema, ya que se estudió en conjunto con técnicas como la ablación por radiofrecuencia (RFA) y ultrasonidos. Se demostró que el ThermoDox® en conjunto con RFA no era efectivo ya que el calor no afectaba a las zonas de alrededor, produciéndose así recurrencias. Los estudios permiten concluir que las desventajas que tiene su uso con RFA se pueden superar utilizando la técnica de ultrasonidos dirigida. Esto es debido a que con los ultrasonidos se pueden tratar tanto tumores superficiales como más profundos y además produce un calor homogéneo.⁽¹⁰⁾

Otro sistema comercializado es **Myocet®**. También es un sistema liposomal que contiene doxorubicina. Está constituido por tres viales, el primero de ellos contiene un liofilizado de clorhidrato de doxorubicina y lactosa, el segundo contiene liposomas formados de fosfatidilcolina de huevo, colesterol, ácido cítrico, hidróxido sódico y agua y el último contiene una solución de carbonato sódico que se usa como tampón.⁽¹³⁾

Estudios sobre este sistema aseguran que se aumenta el índice terapéutico de la doxorubicina debido a que se disminuye mucho su cardiotoxicidad y la neutropenia que produce sola. Tiene una semivida mayor, y una eliminación menor que el fármaco libre.⁽³²⁾

Este nanosistema no se encuentra pegilado, es decir, no tiene PEG en su composición. Esto evita que se produzcan los efectos adversos asociados al PEG, pero también hace que se produzca una fagocitosis mayor disminuyendo así su semivida plasmática en comparación con el Doxil®.⁽³²⁾

Un nanosistema en estudio es el **MM302**. Se trata de una formulación liposomal que contiene doxorubicina. Se ha desarrollado para evitar los efectos cardiacos que produce el fármaco, y para aumentar la eficacia utilizando el efecto de permeabilidad y retención aumentado además del uso de un anticuerpo que se une a los receptores HER-2.⁽³²⁾



DSPE: distearoylphosphatidylethanolamine;
 HER2: human epidermal growth factor receptor 2; PEG: polyethylene glycol;
 scFv: single chain fraction variable.

Figura 9. Esquema del sistema en estudio MM302.⁽³⁷⁾

Este sistema, por lo tanto, se une de manera específica a las células que sobreexpresan el receptor HER-2, lo que hace que se aumente la cantidad de fármaco en el interior celular limitando la exposición de las células sanas al fármaco.⁽³⁷⁾

Por último, **Foslip®** es una formulación liposomal compuesta por mTHPC y una mezcla (9:1) de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG) conteniendo, a diferencia de los anteriores sistemas, paclitaxel.

Este sistema se basa en la utilización de la terapia fotodinámica, que se trata de la administración sistémica de un compuesto fotosensibilizante, seguido de la iluminación del área tumoral con una longitud de onda adecuada. Gracias a esto, y en presencia de oxígeno, se producen especies reactivas de oxígeno que producen un daño tisular en el tumor.^(38, 39) Uno de los compuestos fotosensibilizantes más potentes utilizado para este fin es el meta-tetra hidroxifenil cloro (m-THPC o Foscan®), utilizado en la composición del Foslip. Foscan® ha demostrado producir una

muerte celular masiva con concentraciones bajas de fármaco y dosis bajas lumínicas. Sin embargo, Foscan® es un compuesto altamente hidrofóbico, lo que favorece su localización intracelular pero hace que tenga baja solubilidad por lo que complica la inyección intravenosa. Para superar esta complicación se desarrolló el nanosistema Foslip.^(40, 41) Foslip protege al m-THPC de la formación de agregados en ambientes acuosos y mejora sus propiedades farmacocinéticas, al tener una rápida biodistribución, manteniendo las buenas propiedades del compuesto m-THPC.⁽⁴¹⁾

5.3.2. Nanopartículas.

Abraxane®, se trata de una suspensión de nanopartículas formadas por albumina y paclitaxel utilizado para el tratamiento del cáncer de mama metastásico recurrente. Fue aprobado por la FDA en el 2005.

En la formulación de este sistema no se utiliza el aditivo Cremophor EL, lo que disminuye en gran cantidad sus efectos adversos. Además, su administración se puede realizar en periodos de tiempo cortos, aproximadamente 30 minutos, y se tolera mucho mejor que la formulación de paclitaxel con Cremophor EL.

Se ha demostrado que es más efectivo que la formulación de paclitaxel sola. Este aumento en la efectividad es debido al efecto de permeabilidad y retención aumentados que sufren los tumores, por lo que las nanopartículas se concentran en el tejido tumoral. Además de esto, la albumina utilizada interacciona con dos proteínas (gp60 y BM40) que dirigen el sistema hacia las células tumorales, produciendo un aumento en su concentración local.⁽¹³⁾ Esto es debido a que la proteína gp60, que se localiza en la superficie de las células endoteliales, activa la caveolina-1 que desencadena la formación de vesículas iniciando la transcitosis endotelial.⁽⁴²⁾

Sin embargo, se produce una rápida eliminación de la circulación sanguínea del fármaco con el Abraxane®, por lo que no se mejoran las características farmacocinéticas del Taxol® inicial.⁽²⁹⁾

Para mejorar sus características se han realizado estudios combinando el Abraxane junto con otros fármacos quimioterapéuticos como es el cisplatino. En este caso, los estudios demostraron que la combinación produce una respuesta al tratamiento rápida y además tiene una eficacia mejor a corto plazo que el uso de estos fármacos por separado.⁽⁴³⁾

5.3.3. Micelas poliméricas.

El **Genexol-PM®** es otro nanosistema formulado con paclitaxel. Se trata de micelas poliméricas liofilizadas con paclitaxel. Este sistema libera el paclitaxel en altas dosis en el tejido tumoral

evitándose los efectos adversos de sus complementos. En este caso se utiliza como solubilizante el mPEG-PDLLA, una molécula de bajo peso molecular, biodegradable y anfifílica.⁽²⁵⁾

Este tipo de nanosistemas, las micelas poliméricas, ofrecen una buena alternativa para fármacos poco solubles en agua o inestables. Las micelas se forman por una agregación propia de polímeros anfifílicos al superar su concentración crítica micelar.⁽²³⁾

Esta formulación se basa en el efecto de retención y permeabilidad aumentado, por vectorización pasiva. Por esto, se han realizado estudios utilizando como base este sistema y añadiéndole residuos de glucosa, para aprovechar así la sobreexpresión de transportadores GLUT1 en las células del tejido de mama tumoral. Estos estudios demuestran que utilizando residuos de glucosa se aumenta la actividad citotóxica con respecto al sistema inicial.⁽²³⁾

Se ha demostrado que el Genexol-PM tiene una liberación sostenida del paclitaxel a pH 7,4 y 36°C, sin sufrir “efecto burst”, por lo que su acumulación es del 56% durante 96 horas.⁽²³⁾

Con este sistema se evita la toxicidad asociada al Cremophor EL, pero también tiene efectos adversos relacionados con la dosis que incluyen neutropenia, mialgia y neuropatía. Si bien es cierto que el uso de un solvente distinto al Cremophor EL hace que se limite la alta toxicidad, pudiendo administrarse dosis más elevadas del fármaco.⁽²⁵⁾

6. CONCLUSIONES.

El cáncer de mama es una de las enfermedades más frecuentes en mujeres en los países desarrollados, siendo su mortalidad elevada también. Por ello, la investigación en alternativas que mejoren el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes es clave para intentar controlar la magnitud de esta patología.

La nanotecnología abre un gran campo de posibilidades que pueden mejorar los aspectos negativos de la terapia clásica. Gracias a esto se pueden realizar técnicas diagnósticas menos invasivas, utilizando un nanosistema y una fuente de calor externa, por ejemplo, y, por lo tanto, más aceptadas por los pacientes.

También, la nanotecnología permite dirigir el fármaco al tejido tumoral, mediante distintas alternativas, de manera pasiva o bien activa, por lo que se disminuyen drásticamente los efectos adversos derivados de la concentración sistémica del fármaco.

Se han realizado una gran cantidad de estudios que muestran resultados positivos del uso de estos nanosistemas, lo que ha permitido comercializar seis nanosistemas que contienen doxorubicina

y paclitaxel. Se observa que la mayoría de ellos se tratan de formulaciones liposomales, que portan el fármaco en su interior protegiéndolo de su degradación sistémica.

Actualmente existen una gran cantidad de líneas de investigación en torno a la nanotecnología, lo que nos sugiere que en un futuro habrá una mayor cantidad de nanosistemas comercializados, no solo para el tratamiento del cáncer de mama, sino para otros tipos de cáncer y patologías, lo que mejorará su pronóstico y facilitará el tratamiento personalizado.

7. BIBLOGRAFÍA.

1. (SEOM) SEOM. Las Cifras del Cáncer en España 2017. 2017.
2. Society. AC. Global cancer facts & figures, 3rd edition.; 2015.
3. Falagan-Lotsch P, Grzincic E, Murphy C. New Advances in Nanotechnology-Based Diagnosis and Therapeutics for Breast Cancer: An Assessment of Active-Targeting Inorganic Nanoplatfoms. *Bioconjugate Chemistry*. 2017;28(1):135-52.
4. Galceran J, Ameijide A, Carulla M, Mateos A, al e. Estimaciones de la incidencia y la supervivencia del cáncer en España y su situación en Europa. *REDECAN.*; Octubre 2014.
5. www.aecc.es
6. Zepeda-Castilla EJ, Recinos-Money E, Cuéllar-Hubbe M, Robles-Vidal CD, Maafs-Molina E. Clasificación molecular del cáncer de mama. 2008.
7. Society AAC. Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014. 2013.
8. Brannon-Peppas L, Blanchette J. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. 2004.
9. Braga Vieira D, Fernel Gamarra L. Advances in the use of nanocarriers for cancer diagnosis and treatment. 2016.
10. Boissenot T, Bordat A, Fattal E, Tsapis N. Ultrasound-triggered drug delivery for cancer treatment using drug delivery systems: From theoretical considerations to practical applications. *Journal of Controlled Release*. 2016;241:144-63.
11. Farrell D, Ptak K, Panaro N, Grodzinski P. Nanotechnology-Based Cancer Therapeutics-Promise and Challenge-Lessons Learned Through the NCI Alliance for Nanotechnology in Cancer. *Pharmaceutical Research*. 2011;28(2):273-8.
12. Bertrand N, Wu J, Xu X, Kamaly N, Farokhzad OC. Cancer nanotechnology: The impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. 2014.
13. Vila Jato JL. Nanotecnología Farmacéutica: Realidades y Posibilidades Farmacoterapéuticas. XXVIII. *IdERANdFM*, editor2009.
14. Sahoo S, Parveen S, Panda J. The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*. 2007;3(1):20-31.
15. Yezhelyev M, Gao X, Xing Y, Al-Hajj A, Nie S, O'Regan R. Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer. *Lancet Oncology*. 2006;7(8):657-67.

16. Kim K. Nanotechnology platforms and physiological challenges for cancer therapeutics. *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*. 2007;3(2):103-10.
17. Jhaveri AM, Torchilin VP. Multifunctional polymeric micelles for delivery of drugs and siRNA. . 2014.
18. Chauhan V, Jain R. Strategies for advancing cancer nanomedicine. *Nature Materials*. 2013;12(11):958-62.
19. Luo W, Wen G, Yang L, Tang J, Wang J, Wang J, et al. Dual-targeted and pH-sensitive Doxorubicin Prodrug-Microbubble Complex with Ultrasound for Tumor Treatment. *Theranostics*. 2017;7(2):452-65.
20. Sudha T, Bharali D, Yalcin M, Darwish N, Coskun M, Keating K, et al. Targeted delivery of paclitaxel and doxorubicin to cancer xenografts via the nanoparticle of nano-diamino-tetrac. *International Journal of Nanomedicine*. 2017;12:1305-15.
21. www.understandingnano.com
22. Bullock K, Blackwell K. Clinical efficacy of taxane-trastuzumab combination regimens for HER-2-positive metastatic breast cancer. *Oncologist*. 2008;13(5):515-25.
23. Moreton M, Bernabeu E, Grotz E, Gonzalez L, Zubillaga M, Chiappetta D. A glucose-targeted mixed micellar formulation outperforms Genexol in breast cancer cells. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;114:305-16.
24. Kawasaki ES, Player A. Nanotechnology, nanomedicine, and the development of new, effective therapies for cancer. 2005.
25. Park IH, Sohn JH, Kim SB, Lee KS, Chung JS, Lee SH, et al. An open-label, randomized, parallel, phase III trial evaluating the efficacy and safety of polymeric micelle-formulated paclitaxel compared to conventional cremophor EL-based paclitaxel for recurrent or metastatic HER2-negative breast cancer. 2016.
26. Markeb AA, El-Maali NA, Sayed DM, Osama A, al e. Synthesis, structural characterization, and preclinical efficacy of a novel paclitaxel-loaded alginate nanoparticle for breast cancer treatment. . 2016.
27. Dorkoosh FA, Dehghankelishadi P, Samimi S. Paclitaxel Delivery Systems; From A Stubborn Undruggable To an Efficient Chemotherapeutic In Clinic. 2015.
28. Bhattacharyya J, Bellucci J, Weitzhandler I, McDaniel J, Spasojevic I, Li X, et al. A paclitaxel-loaded recombinant polypeptide nanoparticle outperforms Abraxane in multiple murine cancer models. *Nature Communications*. 2015;6.
29. Bernabeu E, Helguera G, Legaspi MJ, Gonzalez L, Hocht C, Carlos T, et al. Paclitaxel-loaded PCL-TPGS nanoparticles: *In vitro* and *In vivo* performance compared with Abraxane ®. 2013.
30. Kibria G, Hatakeyama H, Sato Y, Harashima H. Anti-tumor effect via passive anti-angiogenesis of PEGylated liposomes encapsulating doxorubicin in drug resistant tumors. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016;509(1-2):178-87.

31. Chen K, Chaung E, Wey S, Lin K, Cheng F, Lin C, et al. Hyperthermia-Mediated Local Drug Delivery by a Bubble-Generating Liposomal System for Tumor-Specific Chemotherapy. *Acs Nano*. 2014;8(5):5105-15.
32. AlphanDéry E, Grand-Dewyse P, Lefèvre R, Mandawala C, Durand-Dubief M. Cancer therapy using nanoformulated substances: scientific, regulatory and financial aspects. 2015.
33. www.doxil.com
34. Collier M, Bachelder E, Ainslie K. Electrosprayed Myocet-like Liposomes: An Alternative to Traditional Liposome Production. *Pharmaceutical Research*. 2017;34(2):419-26.
35. Luo R, Li Y, He M, Zhang H, Yuan H, Johnson M, et al. Distinct biodistribution of doxorubicin and the altered dispositions mediated by different liposomal formulations. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;519(1-2):1-10.
36. Focused Ultrasound Foundation www.fusfoundation.org
37. Miller K, Cortes J, Hurvitz S, Krop I, Tripathy D, Verma S, et al. HERMIONE: a randomized Phase 2 trial of MM-302 plus trastuzumab versus chemotherapy of physician's choice plus trastuzumab in patients with previously treated, anthracycline-naive, HER2-positive, locally advanced/metastatic breast cancer. *Bmc Cancer*. 2016;16.
38. Lassalle H, Dumas D, Grafe S, D'Hallewin M, Guillemin F, Bezdetnaya L. Correlation between in vivo pharmacokinetics, intratumoral distribution and photodynamic efficiency of liposomal mTHPC. *Journal of Controlled Release*. 2009;134(2):118-24.
39. D'Hallewin M, Kochetkov D, Viry-Babel Y, Leroux A, Werkmeister E, Dumas D, et al. Photodynamic therapy with intratumoral administration of lipid-based mTHPC in a model of breast cancer recurrence. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2008;40(8):543-9.
40. Lassalle H, Wagner M, Bezdetnaya L, Guillemin F, Schneckenburger H. Fluorescence imaging of Foscan (R) and Foslip in the plasma membrane and in whole cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*. 2008;92(1):47-53.
41. Kachatkou D, Sasnouski S, Zorin V, Zorina T, D'Hallewin M, Guillemin F, et al. Unusual Photoinduced Response of mTHPC Liposomal Formulation (Foslip). *Photochemistry and Photobiology*. 2009;85(3):719-24.
42. Ciruelos E, Jackisch C. Evaluating the role of nab-paclitaxel (Abraxane) in women with aggressive metastatic breast cancer. 2014.
43. Sun X, Yang L, Yan X, Sun Y, Zhao D, Ji Y, et al. DCE-MRI-Derived Parameters in Evaluating Abraxane-Induced Early Vascular Response and the Effectiveness of Its Synergistic Interaction with Cisplatin. *Plos One*. 2016;11(9).