



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO  
VECTORIZACIÓN POR CONTROL  
EXTRACORPÓREO**

**Autora: Ángela López Arana**

D.N.I.: 52906538 -Y

Tutora: M<sup>a</sup> Elvira Franco Gil

Convocatoria: Junio 2016

# ÍNDICE

<b>1. RESUMEN – ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Justificación del uso de la vectorización en clínica .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Uso de la vectorización extracorpórea de fármacos, agentes terapéuticos y         agentes de diagnóstico.....</b>	<b>4</b>
<b>2.3 Aplicación en terapia oncológica .....</b>	<b>5</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
<b>4. METODOLOGÍA.....</b>	<b>5</b>
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>6</b>
<b>5.1 Sistemas de control extracorpóreo.....</b>	<b>6</b>
<b>5.1.1 Sonoporación, fonoforesis.....</b>	<b>6</b>
<b>5.1.2 Electroporación.....</b>	<b>6</b>
<b>5.1.3 Regulación de la liberación por luz.....</b>	<b>7</b>
<b>5.1.4 Liberación de fármacos por acción de un campo magnético.....</b>	<b>8</b>
<b>5.2 Vectorización extracorpórea mediante campo magnético.....</b>	<b>9</b>
<b>5.2.1 Conceptos de magnetismo: comportamiento magnético.....</b>	<b>9</b>
<b>5.2.2 Nanopartículas magnéticas .....</b>	<b>10</b>
<b>5.2.3 Nanopartículas magnéticas de óxido de hierro: estructura, recubrimiento,                 fabricación y metabolismo.....</b>	<b>10</b>
<b>5.3 Aplicaciones de las nanopartículas magnéticas.....</b>	<b>15</b>
<b>5.3.1 Aplicaciones terapéuticas .....</b>	<b>15</b>
<b>5.3.2 Aplicaciones diagnósticas.....</b>	<b>18</b>
<b>5.4 Caso particular.....</b>	<b>18</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>18</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>18</b>

## 1. RESUMEN – ABSTRACT

El proceso de vectorización supone la liberación del fármaco una vez que el vector llega a biofase. El uso de un campo magnético externo permite la vectorización de nanopartículas magnéticas funcionalizadas y su acumulación en tejidos tumorales. Gracias a sus propiedades pueden dar lugar al efecto de hipertermia, que ocasiona la destrucción selectiva de las células cancerosas. Todo ello permite la reducción de efectos adversos y el incremento de la eficacia del tratamiento antitumoral.

*Drug targeting processes enable the release of the drug once the carrier is in biophase. Functionalized magnetic nanoparticles can be delivered to cancer tissues by means of an external magnetic field. Due to their properties hyperthermia effect can take place, causing the selective destruction of cancer cells. As a result, adverse effects decrease while the efficacy of the anticancer treatment increases.*

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 Justificación del uso de la vectorización en clínica

En la actualidad, el uso de sistemas de liberación modificada de fármacos (SLM) es de gran importancia en terapéutica. Esto es debido a que se evitan muchos de los problemas causados por los sistemas de liberación convencional. Entre dichas desventajas, podemos destacar las siguientes:

1. Acusados efectos secundarios por distribución del principio activo en exofase: la distribución no selectiva permite que una fracción del principio activo (PA) se distribuya por otros órganos y no todo llegue a biofase.
2. Concentraciones plasmáticas no estables (fluctuaciones).
3. Breve duración de efectos y consiguiente necesidad de repetir la administración de la dosis con frecuencia (intervalos de dosificación estrechos).

Frecuentemente, y debido a estos problemas, no se cumple el régimen posológico. Como resultado hay un fracaso terapéutico<sup>[1]</sup>. Se distinguen dos tipos de SLM: aquellos cuya modificación atañe a la velocidad de liberación y aquellos otros cuya modificación atañe al lugar donde se realiza dicha liberación. Los primeros alargan la duración de los efectos terapéuticos, y los segundos (conocidos como vectores o sistemas de vectorización de fármacos) minimizan la distribución del PA en exofase y los correspondientes efectos secundarios<sup>[2]</sup>. En este trabajo se va a desarrollar únicamente un tipo de vectores.

El proceso de vectorización consiste en el desplazamiento de todo el sistema de liberación a biofase donde, una vez allí, se libera el principio activo<sup>[1,2]</sup>. Por lo tanto, la distribución (del

vector) es un proceso previo a la liberación (del PA) en el tejido diana. Como resultado, se acentúa el efecto terapéutico, a la vez que se disminuyen los efectos secundarios, de forma que estos sistemas dan solución a los problemas de los sistemas convencionales.

Los sistemas de vectorización se administran por vía parenteral y para ello tienen que cumplir una serie de requisitos <sup>[1]</sup>:

1. Tamaño y forma adecuados.
2. Biocompatibilidad y biodegradabilidad.
3. Asociación PA- transportador y almacenamiento estables.
4. Elaboración en condiciones de esterilidad.

Existen diferentes mecanismos de vectorización. Este trabajo se va a centrar en los mecanismos de vectorización por control extracorpóreo, en especial se profundizará en la vectorización mediante la aplicación de un campo magnético externo.

## **2.2 Uso de la vectorización extracorpórea de fármacos, agentes terapéuticos y agentes diagnósticos**

En la vectorización mediante campo magnético externo se utilizan las nanopartículas magnéticas como vectores, ya que ofrecen numerosas posibilidades. El uso de nanopartículas, tanto en técnicas terapéuticas como diagnósticas se conoce como teranosis <sup>[4]</sup>.

Así pues, combinando nanotecnología y vectorización pueden utilizarse nanopartículas como vectores de diversas sustancias, tales como: agentes quimioterapéuticos, ácidos nucleicos, anticuerpos, radionúclidos...

Conviene, en este punto, recordar el concepto de “nanotecnología” como la ciencia que interviene en el diseño, la producción y el empleo de estructuras y objetos cuyas dimensiones se encuentran entre 1-100 nm<sup>[3]</sup>

## **2.3 Aplicación en terapia oncológica**

Los tratamientos de quimioterapia tradicionales presentan importantes limitaciones relativas a la reducida especificidad de los agentes quimioterapéuticos por las células tumorales, el rápido aclaramiento *in vivo* debido a la corta vida media de los fármacos y la resistencia a muchos fármacos por parte de las células tumorales. En consecuencia, es urgente el desarrollo de un nanotransportador que permita vectorizar y liberar de manera eficaz y selectiva la dosis adecuada del fármaco citotóxico en las células cancerosas. Esto permite mejorar la eficacia y reducir la dosis de fármaco administrado así como los efectos secundarios que surgen como consecuencia de una distribución en exofase.

Las nanopartículas magnéticas han demostrado ser especialmente eficaces en terapia oncológica. Gracias a sus propiedades, cuando son sometidas a un campo magnético alterno externo pueden dar lugar al fenómeno de hipertermia o ablación térmica.

### 3. OBJETIVOS

1. Conocer:
  - los distintos sistemas de vectorización por control extracorpóreo.
  - lo que se puede vectorizar dentro de los sistemas.
  - las limitaciones de la vectorización por control extracorpóreo.
2. Describir los métodos de elaboración de los sistemas.
3. Aprender sobre la funcionalización de los sistemas: estructura, formulación y diseño.
4. Profundizar en las nanopartículas magnéticas como transportadores en la vectorización por control extracorpóreo.

### 4. METODOLOGÍA

Para desarrollar este trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica en las siguientes **bases de datos**: PubMed, ScienceDirect y Scopus.

Además, se obtuvo información de artículos publicados en las siguientes **revistas**: International Journal of Nanomedicine, Journal of Biomaterials and Nanotechnology, International Journal of Molecular Sciences.

También se consultó la **página** del National Institute of Health (NIH) y **libros** especializados en nanotecnología farmacéutica.

Los artículos empleados fueron publicados en el intervalo de años 2001 – 2015.

### 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### **5.1. SISTEMAS DE CONTROL EXTRACORPÓREO**

##### **5.1.1 Sonoporación, fonoforesis.** <sup>[5]</sup>

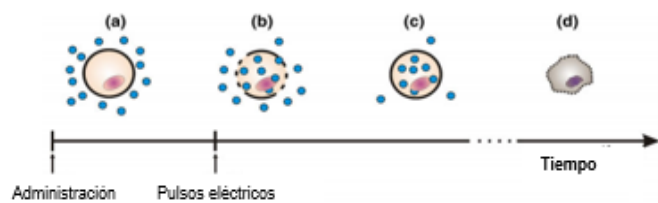
Es una técnica de liberación de fármacos en biofase mediante el uso de ultrasonidos. Se define ultrasonido como la transmisión de ondas no ionizantes con una frecuencia superior a 20.000 Hz, que supera el umbral auditivo humano.

Es un proceso que permite la formación reversible y temporal de poros en membranas celulares y paredes vasculares permitiendo así el paso de agentes terapéuticos a su través. Es un método seguro y no invasivo. Durante la sonoporación, se forman microburbujas de aire, que dan lugar al fenómeno de cavitación. Estas burbujas se expanden y contraen millones de

veces debido al efecto de los ultrasonidos. En consecuencia, acaban fragmentándose y se promueve la formación de los poros.

### 5.1.2 Electroporación. <sup>[6,7]</sup>

Cuando una célula se expone a un campo eléctrico externo, se induce una diferencia de potencial transmembrana que al superar un valor umbral, aumenta la permeabilidad. Este proceso se conoce como electroporación (Figura 1). Dicho valor umbral depende de numerosos factores: físicos (tamaño y forma celular), biológicos (composición de la membrana y estructura del citoesqueleto) y parámetros eléctricos (amplitud, número y duración de los pulsos y frecuencia). La electroporación es la base de la electroquimioterapia.



**Figura 1.** Fases de la electroporación.

La electroquimioterapia combina la electroporación con la quimioterapia. Es un tratamiento local del cáncer que consiste en aplicar pulsos eléctricos cortos y de elevada intensidad a los nódulos cancerígenos *in vivo* tras haber inyectado previamente el agente quimioterápico. De esta manera, la permeabilidad de la membrana plasmática aumenta. Esto facilita la entrada de agentes citotóxicos en el citosol de las células tumorales. Agentes antitumorales de naturaleza hidrofílica, como la bleomicina, no pueden atravesar fácilmente la membrana plasmática y mediante el proceso de electroporación se evita este problema. Se ha demostrado su eficacia en tumores cutáneos y subcutáneos. Actualmente, se están realizando estudios para aplicar esta técnica en tumores más profundos.

### 5.1.3 Regulación de la liberación por luz.

#### 5.1.3.1 Nanopartículas de oro (AuNPs) y efecto fototérmico. <sup>[8]</sup>

Las AuNPs presentan un gran potencial como agentes fototerapéuticos en el tratamiento del cáncer, así como para la elaboración de nanoestructuras útiles para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas, y en terapia génica. El núcleo de las nanopartículas de oro es inerte, por lo que tienen baja toxicidad y buena biocompatibilidad. Las AuNPs presentan una elevadísima área superficial, pudiendo así ser fácilmente funcionalizadas y bioconjugadas, modificando sus propiedades superficiales. Para la vectorización pasiva hacia células tumorales, la funcionalización de las AuNPs se suele realizar con PEG-tiolado. De esta forma, aumenta el tiempo de vida media en el torrente sanguíneo y mejora la permeabilidad y el efecto de retención en el tumor.

Gracias a sus propiedades, las AuNPs pueden dar lugar al efecto fototérmico cuando son estimuladas con luz láser u otra fuente de calor (microondas, radiofrecuencia, ultrasonidos...). Durante dicha estimulación (por ejemplo en presencia de luz láser) se da el efecto llamado “resonancia localizada de plasmón de superficie”. Se conocen como plasmones de superficie localizados a las oscilaciones colectivas de electrones restringidos en pequeños volúmenes metálicos. El campo eléctrico oscilante de la luz incidente induce un dipolo eléctrico en la partícula, desplazando a una parte de los electrones móviles deslocalizados en una dirección lejos del resto de la partícula metálica. Así, se genera una carga neta negativa en un lado de la partícula. Como el resto de los núcleos y sus electrones internos no se han desplazado, constituyen una carga opuesta positiva (red catiónica).

Como resultado de las oscilaciones, las AuNPs son capaces de absorber luz y ésta se transforma rápidamente en calor. De este modo, un conjunto de pequeñas AuNPs puede calentar localmente un área de mil veces su tamaño y las células tumorales son destruidas.

#### 5.1.3.2 Terapia fotodinámica<sup>[9]</sup>.

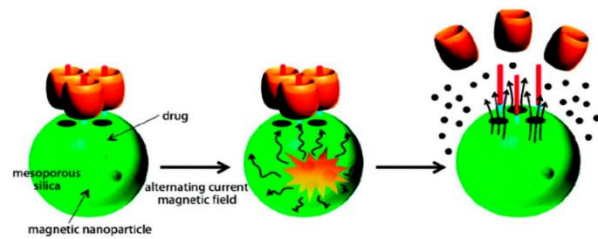
Para la terapia fotodinámica es necesaria la coexistencia de tres factores no tóxicos: luz láser, agente fotosensibilizador y oxígeno. Los agentes fotosensibilizadores son moléculas aromáticas con un cromóforo central. El primer paso consiste en inyectar, por vía intravenosa, dicho agente. Al cabo de 24-72 horas aproximadamente, este agente se acumula en las células tumorales. A continuación, el tumor se expone a la luz (puede usarse luz láser llevada al tumor mediante endoscopia), el fotosensibilizador absorbe la luz y alcanza el estado excitado. Como resultado, en presencia de oxígeno molecular, el fotosensibilizador transfiere energía o electrones para producir especies reactivas de oxígeno (ROS), que destruyen las células cancerosas.

#### **5.1.4 Liberación de fármacos por acción de un campo magnético.**

La energía térmica inherente a las nanopartículas magnéticas (la energía magnética es convertida en térmica al aplicar un campo magnético) puede ser utilizada para controlar, desde el exterior del organismo, la liberación de fármacos vectorizados. Los liposomas son los vectores más utilizados para este propósito. El principal mecanismo de liberación de un fármaco desde un liposoma es la difusión a través de la bicapa lipídica liposomal. La permeabilidad de dicha bicapa influye en el proceso de difusión, el cual aumenta cuando se alcanza una temperatura cercana a la de su fusión. Así pues, el fármaco puede ser totalmente liberado si se excede la temperatura de fusión de la membrana liposomal. El liposoma se diseña para que su temperatura de fusión sea parecida a la temperatura corporal. Sin embargo, durante la circulación de los liposomas no modificados, se puede perder PA por difusión. Esta

pérdida de PA se puede evitar cargando los liposomas con nanopartículas magnéticas. Diversos estudios han demostrado su eficacia [10,11,12,13,14]. Por ejemplo, se encapsuló doxorubicina en liposomas magnéticos y se sometieron a un campo magnético externo. El calor generado resultó en la liberación del PA y no hubo pérdida de PA en exofase.

Por otra parte, es posible conseguir la precipitación de nanopartículas magnéticas en un soporte poroso (sílice). Los poros fueron cubiertos con válvulas moleculares. Al aplicar el campo magnético, se consigue un aumento de presión en el interior de las nanopartículas porosas causando el desprendimiento de las válvulas y permitiendo la salida del PA (figura 2). Estos materiales son útiles para la liberación de fármacos *in vivo*, como se demostró en la liberación de DOX en células



**Figura 2.** Liberación del PA por acción de un campo magnético a través de un soporte poroso

de mama tumorales. Las nanopartículas magnéticas fueron capturadas por las células pero no se liberó DOX hasta la aplicación del campo magnético [15].

## **5.2 VECTORIZACIÓN EXTRACORPÓREA MEDIANTE CAMPO MAGNÉTICO.**

### **5.2.1 Conceptos de magnetismo: comportamiento magnético.**

El comportamiento magnético de un material depende del número de electrones desapareados de cada átomo y del orbital en el que se encuentren. Los efectos magnéticos son causados por los movimientos de las partículas que tienen masa y cargas eléctricas.

Otro concepto a tener en cuenta es la susceptibilidad magnética, que es una constante que indica el grado de magnetización en respuesta a un campo aplicado.

Una partícula cargada eléctricamente, cuando gira, crea un dipolo magnético. Al aplicar un campo magnético externo al material, estos dipolos se ordenan con el campo dando lugar a un momento magnético dentro del material. Los materiales se clasifican según la respuesta a un campo magnético externo en cinco formas de magnetismo (Tabla 1): diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo, antiferromagnetismo y ferrimagnetismo.

Para el uso de las nanopartículas en biomedicina, se requiere que estas sean superparamagnéticas. Se trata de un tipo de magnetismo que aparece en las nanopartículas ferromagnéticas a temperatura casi ambiente. Las nanopartículas se convierten en magnéticas en presencia de un imán externo y vuelven al estado no magnético cuando este imán deja de actuar. Por lo tanto, se evita un comportamiento activo (generación de una gran energía magnetostática) de las nanopartículas cuando no hay ningún campo magnético aplicado.

MAGNETISMO	CARACTERÍSTICAS
<b>Diamagnetismo</b>	Material débilmente magnético. Repelen débilmente un campo magnético aplicado. Momentos magnéticos apareados.
<b>Paramagnetismo</b>	Magnetismo significativo. No magnetización remanente. Momentos magnéticos no apareados.
<b>Ferromagnetismo</b>	Fuertemente magnético. Ordenamiento magnético de todos los momentos magnéticos de una muestra, en la misma dirección y sentido. Magnetización remanente.
<b>Antiferromagnetismo</b>	No magnético aún bajo la acción de un campo magnético inducido.
<b>Ferrimagnetismo</b>	Todos los momentos magnéticos están alineados en la misma dirección pero no en el mismo sentido. Menor grado magnético que los ferromagnéticos.

*Tabla 1. Características de las formas de magnetismo.*

### 5.2.2 Nanopartículas magnéticas. <sup>[4]</sup>

Las nanopartículas magnéticas (NPMs) responden a la influencia de un campo magnético. Están formadas por elementos magnéticos tales como: hierro, níquel, cobalto y sus respectivos óxidos. Las NPMs más frecuentes son las de óxido de hierro (*iron oxide nanoparticles*). Tienen numerosas aplicaciones en biomedicina. Debido a su tamaño nanométrico tienden a reducir la energía asociada con la elevada relación área superficial / volumen y forman aglomerados. Esta agregación se produce preferentemente en fluidos biológicos debido a la presencia de sales y proteínas, que facilitan las fuerzas de atracción de Van der Waals. Por estos motivos, en la mayoría de las aplicaciones es esencial diseñar estrategias de recubrimiento con el fin de estabilizar las nanopartículas y evitar la pérdida de magnetismo. Además, la modificación de la superficie de la NPM permite la conjugación de ligandos. En los siguientes apartados se desarrolla la estructura, diseño, funcionalización, elaboración y aplicaciones de las NPMs.

### 5.2.3 Nanopartículas magnéticas de óxido de hierro: estructura, recubrimiento, fabricación y metabolismo.

Las partículas magnéticas capaces de dar lugar a ferrofluidos con propiedades superparamagnéticas comprenden metales y óxidos de metales tales como: Ni, Co, Fe, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (magnetita) y  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (maghemita). Sin embargo, los metales de transición son muy tóxicos. Además, son muy sensibles a la oxidación pudiendo dar aleaciones (NiO<sub>2</sub>, CoO y FeO) de comportamiento antiferromagnético. Los óxidos de hierro presentan una magnetización más baja pero son más estables.

Se trata del tipo de NPM más utilizada debido a sus excelentes características de biocompatibilidad y estabilidad. La naturaleza superparamagnética implica que las partículas

reducen la tendencia a aglomerarse ya que no se atraen entre sí. Además, el Fe se encuentra de forma natural en nuestro organismo (ferritina) y por tanto las partículas conteniendo hierro pueden utilizarse en el organismo.

El óxido de hierro puede existir en diferentes composiciones químicas, destacando la magnetita y maghemita. La magnetita es el material más magnético de todos los minerales naturales y la maghemita es su producto de oxidación.

Existen dos tipos principales de nanopartículas de óxido de hierro: SPIONs (*SuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles*) y las USPIONS (*UltraSuperParamagnetic Iron Oxide Nanoparticles*) que se diferencian únicamente en el tamaño (USPIONS < 50nm; SPIONs > 50nm).

### **SÍNTESIS / FABRICACIÓN.** [16, 17, 18]

Encontramos los siguientes métodos de elaboración de nanopartículas magnéticas (Tabla 2):

#### 1) Co-precipitación.

Es el método más utilizado. Consiste en alcalinizar (normalmente se utiliza amonio) soluciones mixtas de sales férricas y ferrosas. Puede hacerse a temperatura ambiente o a temperaturas elevadas. El tamaño, la forma, y la composición de las nanopartículas magnéticas depende en gran medida del tipo de sales utilizadas (sulfatos, nitratos, cloratos, percloratos), la relación  $Fe^{2+} / Fe^{3+}$ , la temperatura de reacción, el pH y la fuerza iónica.

#### 2) Descomposición térmica.

Se trata de una reacción a elevada temperatura (265 °C) de Fe (III) acetilacetato en fenileter en presencia de alcohol, ácido oleico y oleilamina. De esta forma obtenemos  $Fe_3O_4$ . Podemos obtener maghemita si aplicamos  $O_2$  durante dos horas a dicha temperatura.

#### 3) Microemulsificación.

Se trata de una dispersión coloidal, termodinámicamente estable, en la que dos fases inmiscibles (agua y aceite) coexisten en una sola fase gracias a un surfactante principal y uno o más cosurfactantes cuyas moléculas forman una monocapa en la interfaz, con las cabezas hidrofílicas en la fase acuosa y las cadenas hidrofóbicas en la fase oleosa. Según su signo, las microemulsiones pueden ser O/A, A/O o bicontinuas. Concretamente, en las microemulsiones inversas (A/O) la fase acuosa es dispersada como microgotículas (de sales de  $Fe^{2+}$  y  $Fe^{3+}$ ) ya que precursores de hierro como el cloruro ferroso o el cloruro férrico precipitan como óxidos en el núcleo acuoso. Así es posible controlar la forma y tamaño de las NPMs de óxido de hierro. Las nanopartículas resultantes han de ser separadas, estabilizadas, lavadas y secadas.

#### 4) Síntesis hidrotermal.

Permite sintetizar nanopartículas magnéticas de pequeño tamaño en medios acuosos dentro de reactores o autoclaves a alta temperatura y presión. Las altas temperaturas aceleran la nucleación y el crecimiento de las partículas recién formadas, lo cual conlleva a la formación de nanopartículas de tamaños pequeños

Método	Complejidad	Tiempo	Solvente	Distribución de tamaños	Morfología	Producción
Coprecipitación	Muy simple	Minutos	Agua	Bueno	Mala	Alta
Descomposición térmica	Compleja	Horas	Orgánico	Muy buena	Muy buena	Alta
Microemulsificación	Compleja	Horas	Orgánico	Buena	Buena	Baja
Hidrotermal	Simple	Horas/días	Agua/ etanol	Muy buena	Muy buena	Media

*Tabla 2. Particularidades de cada método de síntesis de nanopartículas magnéticas.*

#### **RECUBRIMIENTO.**<sup>[18]</sup>

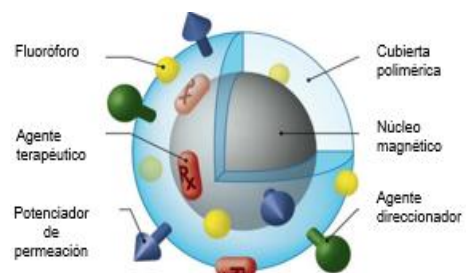
Las nanopartículas recubiertas tienen importantes ventajas frente a aquellas que no lo están: menos toxicidad, mayor biocompatibilidad, mejor conjugación con moléculas bioactivas y mayor estabilidad química y térmica. Existen diversos materiales de recubrimiento que se utilizan para modificar la superficie de las NPM:

- Polímeros orgánicos: dextrano, chitosan, PEG, polisorbato y polianilina
- Surfactantes orgánicos: oleato de sodio, dodecilamina.
- Metales inorgánicos: oro
- Materiales inorgánicos: sílice y carbón.

#### **FUNCIONALIZACIÓN: ¿QUÉ SE PUEDE VECTORIZAR?**

Idealmente, una NPM funcionalizada (Figura 3) debería cumplir alguno de los siguientes requisitos:

1. Tener efectos antitumorales: mediante la conjugación de sustancias como agentes quimioterapéuticos, radionúclidos y ácidos nucleicos.
2. Superar resistencias: anticuerpos o inhibidores de las proteínas ABC.
3. Permitir investigación a nivel diagnóstico y terapéutico: las NPM funcionalizadas deberían presentar un agente que facilite el diagnóstico (resonancia magnética por imagen) así como un componente con actividad terapéutica.



*Figura 3. NPM recubierta y funcionalizada.*

De esta forma, podemos funcionalizar las NPM con <sup>[17]</sup>:

### 1) Biomoléculas

En el diseño de las NPM pueden acoplarse a la superficie biomoléculas tales como: enzimas, anticuerpos (herceptina), proteínas (biotina, albúmina, avidina). Esto permite a la NP mejorar su biocompatibilidad y unirse a la diana de forma específica.

Estas biomoléculas pueden tener fines muy distintos: activación de mecanismos de apoptosis celular, estimulación de la respuesta inmune, interferencia con la adhesión celular y con receptores de membrana, inhibición de kinasas...

### 2) Agentes quimioterapéuticos

La vectorización de NPM de óxido de hierro con agentes quimioterapéuticos es una novedosa manera de tratar el cáncer. La mayoría de los agentes quimioterapéuticos no presentan especificidad celular y por tanto pueden dar lugar a efectos no deseados. Su integración en nanopartículas permite su concentración en el sitio diana, disminuyendo los efectos secundarios. Existen numerosas estrategias que permiten la integración de estos agentes con las NP: formación de complejos con compuestos hidrofóbicos, enlaces covalentes... La suspensión de nanopartículas resultante se denomina ferrofluido, que se inyecta en la arteria principal que riega el órgano donde se localiza el tumor. El uso de un campo magnético externo, como veremos más adelante, permite la concentración de dichas NPM en el tumor. Se han utilizado agentes quimioterapéuticos como la doxorubicina, mitoxantrona, etopósido, metotrexato...

### 3) Radionúclidos

Los radionúclidos (especialmente los emisores beta) pueden funcionar como agentes terapéuticos. Dan lugar a radicales libres que dañan el DNA y finalmente inducen la apoptosis. En comparación con los agentes quimioterapéuticos los radionúclidos plantean un reto en cuestiones de diseño ya que están continuamente en proceso de desintegración y tienen una escasa especificidad, pudiendo dañar prácticamente casi cualquier célula del cuerpo. Para limitar este problema, el complejo radionúclido-SPION debe permanecer intacto durante la emisión de radiación incluso después de haber entrado en la célula tumoral. En la actualidad, hay isótopos radioactivos como el <sup>188</sup>Re conjugados con SPIONs.

### 4) Ácidos nucleicos: terapia génica

La transfección génica es un proceso que presenta varias limitaciones: corta semivida *in vivo*, falta de especificidad y una difusión pobre a través de las membranas celulares. Se ha desarrollado un proceso que consiste en el transporte de ácidos nucleicos conjugados a NPM bajo la influencia de un campo magnético externo. Este campo se coloca debajo de la placa de

crecimiento celular. El complejo partícula-gen es introducido en el medio de crecimiento y el campo magnético rápidamente fuerza a las partículas a contactar con las células en crecimiento en el fondo de la placa. La eficacia de este método ha sido demostrada puesto que se facilita la transfección.

### METABOLISMO DE NPM [28]

En el desarrollo de NPM, uno de los grandes objetivos es conseguir un tiempo de permanencia de las NPM en la sangre que permita su acumulación en tejidos diana. El **tamaño** (figura 4) desempeña un papel clave en la biodistribución *in vivo*, ya que el tiempo de permanencia en el organismo depende del tamaño de la partícula. En general, el tamaño de la NP ha de ser lo suficientemente pequeño para evadir la filtración esplénica pero lo suficientemente grande como para evadir el aclaramiento renal. Las NP mayores de 200 nm son secuestradas por células fagocíticas del bazo, mientras que las partículas menores de 10nm son rápidamente extravasadas y eliminadas por el riñón. El tamaño óptimo para la administración intravenosa de las NPM es de 10-100 nm. Además del tamaño, la **forma** y la **flexibilidad** de las nanopartículas son dos parámetros que requieren investigación para su utilización *in vivo* de las NPM.

Aquellas partículas que escapan de la filtración son susceptibles de ser opsonizadas por las proteínas plasmáticas y, por tanto, se facilita su reconocimiento por las células del sistema macrófago-fagocítico (SMF) que provocan la internalización vía endocitosis de las NPMs. Estas son agrupadas en los lisosomas donde, presumiblemente, son degradadas a bajo pH por enzimas hidrolíticas a iones hierro. Después de metabolizarse, los iones de hierro se añaden a los depósitos de hierro de los eritrocitos y finalmente son incorporados por los eritrocitos como parte de la hemoglobina.

Por otra parte, la **carga superficial** de la nanopartícula también juega un papel importante. Se ha constatado que las partículas con carga superficial neutra permanecen más tiempo en el

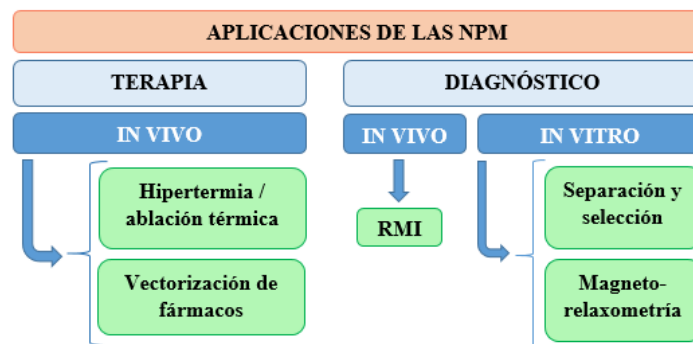


Figura 4. Tiempo de permanencia en sangre en función del tamaño de la nanopartícula

torrente sanguíneo. Como se ha comentado anteriormente, se han desarrollado recubrimientos como el PEG para evitar el reconocimiento de las NPM por el sistema SMF. También se pueden encapsular en liposomas o micelas.

### **5.3 APLICACIONES DE LAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS.**

Las NPM tienen numerosas aplicaciones en terapia y en diagnóstico. En el siguiente esquema se resumen las principales:



*Figura 5. Esquema de las aplicaciones de las nanopartículas magnéticas.*

#### **5.3.1 APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LAS NPMs.** [15,16,19,20,28]

Las aplicaciones terapéuticas de las NPMs cobran especial relevancia en el tratamiento de determinados tumores<sup>[16]</sup>. La mayoría de las NPMs se encuentran en fase de estudio en ensayos clínicos para el tratamiento de glioblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, tumor cerebral...

##### **Hipertermia - ablación térmica**

La hipertermia magnética es un fenómeno que se presenta al exponer una zona corporal que contiene NPMs a ondas magnéticas de frecuencia igual a varios centenares de MHz. Esta interacción genera calor en la zona por disipación de energía y permite alcanzar temperaturas entre 42-45°C durante un periodo mínimo de 30 minutos<sup>[28]</sup>. La energía liberada al medio dependerá de la cantidad, tamaño de las NPMs utilizadas y de la fuerza del campo magnético aplicado. Como resultado de este aumento de temperatura, se produce la muerte celular en dicha zona. Las células tumorales son más sensibles al incremento de temperatura que las células sanas. En consecuencia, una de las principales ventajas de esta técnica es que permite restringir el calentamiento al área tumoral.

La hipertermia se utiliza para complementar otros tratamientos antitumorales actualmente disponibles como la quimioterapia, radioterapia, cirugía, terapia génica e inmunoterapia.

Además de las ondas magnéticas, la radiofrecuencia o los ultrasonidos son métodos que pueden dar lugar a un calentamiento localizado<sup>[19,20]</sup>. Sin embargo, estos métodos de hipertermia convencionales tienen sus desventajas: daño en tejido sano, penetración limitada de calor (por láser o microondas) en el organismo y dosis térmica insuficiente en la zona tumoral lo que resulta en un crecimiento recurrente de células tumorales.

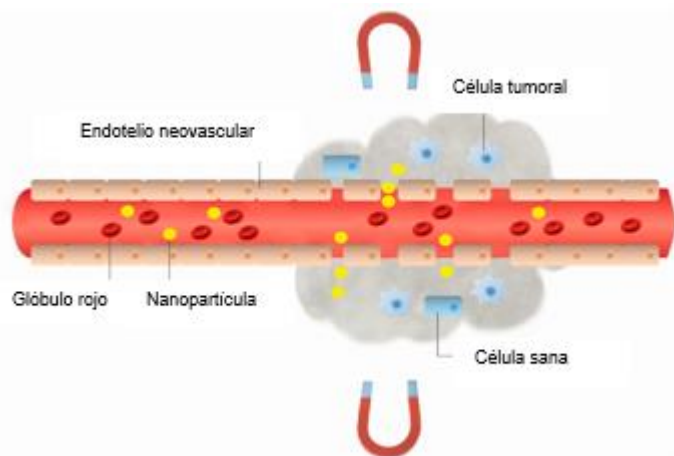
La hipertermia llevada a cabo con NPMs tiene numerosas ventajas en comparación con los tratamientos convencionales de hipertermia:

1. Las células tumorales absorben las NPMs y por tanto aumenta la efectividad ya que el calor se genera directamente en el tumor.
2. Las frecuencias de los campos magnéticos oscilantes atraviesan el organismo sin dañarlo y generan calor únicamente en tejidos que contienen las NPMs.
3. Las NPMs pueden atravesar la barrera hematoencefálica y pueden usarse para el tratamiento de tumores cerebrales
4. Comparados con los implantes macroscópicos, el calor que generan las NPMs es más homogéneo.
5. Se puede inducir inmunidad antitumoral.
6. La hipertermia también puede utilizarse para la liberación controlada de fármacos, como veremos más adelante.
7. La ablación térmica se consigue cuando el incremento de temperatura llega alrededor de 50°C. Se ha empleado como terapia de rescate (tratamiento empleado cuando fracasan otros tratamientos) tras fallos post-radioterapia.

### Vectorización de fármacos <sup>[15]</sup>

El método de la vectorización de fármacos bajo la influencia de un campo magnético externo implica:

1. La inmovilización o conjugación del fármaco en la NPM.
2. Inyección intravenosa o intraarterial.
3. Aplicación de un campo magnético externo de alto gradiente.
4. Concentración de las NPMs en el lugar afectado.
5. Liberación del fármaco por acción enzimática, cambios en el pH o temperatura.



*Figura 6. Vectorización de fármacos mediante campo magnético externo.*

La investigación y desarrollo de las NPMs (FluidMAG<sup>®</sup>) ha permitido que éstas puedan acumularse en tumores y en lugares inflamados e infectados. Estas patologías se caracterizan por anomalías estructurales en la vasculatura. Así, los vasos sanguíneos en estos casos son más permeables (Figura 6) y menos firmes, permitiendo que las nanopartículas puedan

extravasarse y acumularse más fácilmente. Este es el efecto conocido como EPR (Enhanced Permeability and Retention effect).

Como norma general, los estudios indican que cuando las fuerzas magnéticas superan los valores de flujo sanguíneo en arterias (10cm/s) o capilares (0,05cm/s), Las NPMs serán retenidas en el sitio deseado y podrán ser internalizadas por las células endoteliales del tejido diana.

#### Limitaciones de la vectorización por control magnético

El gradiente magnético disminuye a medida que aumenta la distancia entre la fuente externa de campo magnético y la zona objetivo. Por ello, la principal limitación de esta técnica reside en la fuerza del campo magnético que puede ser aplicada para alcanzar el gradiente magnético necesario para controlar el tiempo de permanencia de las NPMs en el área deseada.

Otra limitación hace referencia al pequeño tamaño de las NPs, requisito para el superparamagnetismo. Un tamaño pequeño implica una respuesta magnética de fuerza reducida, dificultando el direccionamiento de las NPMs así como su resistencia al flujo sanguíneo de la zona diana.

La vectorización es más eficaz en regiones con flujo sanguíneo de baja velocidad y, concretamente, cuando la fuente del campo magnético está cerca del tejido diana.

En cuanto a las aplicaciones biomédicas, existen limitaciones relativas a la extrapolación de modelos animales a modelos humanos. Hay numerosos parámetros fisiológicos a considerar: peso, volumen sanguíneo, ritmo cardíaco, tiempo de circulación hasta el tumor... Relacionado con esto, los estudios de toxicidad en muchos casos son insuficientes.

#### Otras aplicaciones biomédicas <sup>[15]</sup>

La vectorización por control magnético es un proceso que está siendo estudiado para su implantación en terapias antiinflamatorias. Además podrían ser sistemas útiles en la enfermedad de Alzheimer, Parkinson, encefalitis y meningitis. Por último, se han realizado estudios sobre la utilización de la vectorización magnética para destruir trombos. Glóbulos rojos autólogos cargados con un coloide ferromagnético y con aspirina fueron administrados de forma intravenosa y bajo el efecto del campo magnético revirtieron la trombosis.

### **5.3.2 APLICACIONES DIAGNÓSTICAS DE LAS NPMs.** <sup>[24,28]</sup>

#### **Resonancia Magnética de Imagen**

La Resonancia Magnética de Imagen (RMI) es una de las técnicas más utilizadas en la actualidad como herramienta diagnóstica no invasiva. Se basa en la diferencia de las relajaciones magnéticas nucleares de los protones del agua entre los fluidos biológicos y los

tejidos sólidos. Un agente de contraste modifica la velocidad de relajación magnética nuclear de los protones de su entorno y cambia el contraste de la señal. En la actualidad existe un creciente interés en diseñar nuevos tipos de agentes de contraste que permitan un diagnóstico sensible y satisfactorio de patologías específicas. El mayor inconveniente es que la mayoría de las pruebas de imagen que se emplean actualmente en clínica utilizan compuestos de bajo peso molecular que en último término tienden a ser inestables, poco específicos, tóxicos y rápidamente eliminados. Mediante el empleo de NPMs funcionalizadas adecuadamente (Feridex<sup>®</sup>, Resovist<sup>®</sup>) y el uso de un campo magnético externo se disminuyen estos problemas. Las NPMs se acumulan preferentemente en tejidos tumorales.

### **Separación y selección**

La extracción en fase sólida es un método utilizado para aislar y preconcentrar los componentes deseados de una muestra analítica. Sin embargo, cuando se tratan volúmenes muy grandes de muestra, esta técnica consume mucho tiempo. El uso de adsorbentes magnéticos o magnetizables, formados por NPMs, se denomina extracción en fase sólida magnética. Consiste en añadir el adsorbente magnético a la disolución que contiene la sustancia a separar, que se adhiere a la superficie de la NPM y con un separador magnético se recupera dicha sustancia.

### **Magneto – relaxometría**

Es un método de evaluación de inmunoensayos. Se mide la relajación del momento magnético neto de un sistema de NPMs después de quitar el campo magnético. Permite distinguir entre conjugados unidos y libres.

### **5.4. CASO PARTICULAR: Combinación de hipertermia magnética y liberación de agentes antitumorales con nanopartículas magnéticas en el tratamiento de cáncer de mama.** <sup>[14]</sup>

Un estudio llevado a cabo en 2015 en el *Jena University Hospital* en Alemania demuestra la eficacia del tratamiento antitumoral mediante el uso de las NPMs. Se utilizaron unas NPMs a las que denominaron MF66. El método de síntesis fue la co-precipitación. Estas NPMs fueron funcionalizadas electrostáticamente con Nucant (pesudopéptido multivalente; MF66-N6L), doxorubicina (DOX; MF66-DOX) o ambos (MF66-N6LDOX). La eficacia terapéutica se analizó en tumores subcutáneos en ratones.

Se estudiaron dos grupos de ratones; el grupo “a” fue tratado con hipertermia mientras que el grupo “b” no. En ambos grupos se usaron los ligandos (N6L y DOX) libres, cada uno de los ligandos, por separado, conjugados a la NPM así como ambos conjugados a la vez. Además hay un grupo control (ddH<sub>2</sub>O) en cada grupo que no se expone al campo magnético alterno.

En la Figura 8 se recogen los resultados obtenidos en cada grupo en cuanto al tamaño relativo del tumor. Como se puede observar, se obtuvo una reducción significativa del volumen tumoral en aquellos animales que fueron tratados con hipertermia frente a aquellos que no.

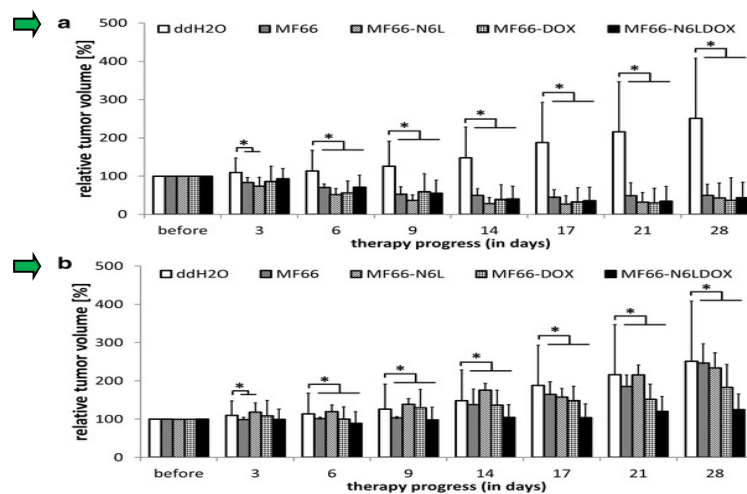


Figura 7. Resultados del tratamiento con hipertermia magnética en los grupos a y b de ratones.

## 6. CONCLUSIONES

Podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. Existen **diversos sistemas de control extracorpóreo**, destacando la luz, campo eléctrico, sonido y campo magnético.
2. Encontramos **cuatro métodos principales de síntesis de NPMs**: co-precipitación (más frecuente), descomposición térmica, microemulsificación y síntesis hidrotermal.
3. Los sistemas de control extracorpóreo, como las NPMs, pueden ser **funcionalizadas con diversas sustancias**: biomoléculas, agentes quimioterapéuticos, radionúclidos y ácidos nucleicos.
4. Las NPMs ofrecen **numerosas aplicaciones terapéuticas y diagnósticas**. Son especialmente eficaces en el tratamiento antitumoral puesto que, gracias a sus propiedades, pueden producir hipertermia o ablación térmica al ser sometidas a un campo magnético externo. Como resultado, se destruyen selectivamente las células cancerosas y se evitan en gran medida la aparición de efectos indeseados.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Rabasco, A.M. Nuevas formas de administración de medicamentos. En: Vila Jato JL (Ed). Tecnología farmacéutica. Vol.2. Madrid. Síntesis. 2001. p 383-434.
- [2] Rabasco AM, González ML. Formas farmacéuticas innovadoras y formas de liberación sostenida. En: Fernández Herrero G (comp). Tratado de Medicina Farmacéutica. Madrid. Editorial Panamericana; 2010. p 123-140.

- [3] Ratner M, Ratner D. Nanotechnology. A gentle introduction to the next big idea. Indianápolis. Prentice Hall. 2002.
- [4] V.I. Shubayev et al. Magnetic nanoparticles for theragnostics. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009; 61: 467-477.
- [5] Liang H.D, Tang J, Halliwell M. Sonoporation, drug delivery, and gene therapy. *ResearchGate.* 2009; 224: 343-361.
- [6] Santra T, Wang P, Tseng F. Electroporation Based Drug Delivery and Its Applications. *InTech.* 2013; 3.
- [7] Miklavcic D, Mali B, Kos B, Heller R, Sersa G. Electrochemotherapy: from the drawing board into medical practice. *Biomedical Engineering OnLine.* 2014; 13: 1-20.
- [8] Al-Qadi S, Remuñán López C. Nanopartículas metálicas: oro. *Nanotecnología farmacéutica. Realidades y Posibilidades Farmacoterapéuticas.* Madrid; 2009. p.223-247.
- [9] Lakshmanan S, Gupta G, Avci P et al. Physical Energy for Drug Delivery; Poration, Concentration and Activation. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014; 98-114.
- [10] Immordino ML, Dosio F, Cattell L. Stealth liposomes: Review of the basic science, rationale and clinical applications, existing and potencial. *Int.J. Nanomed.* 2006. 1: 297-315.
- [11] Tai LA, Tsai PJ, Wang YC, Wang JC, Lo LW, Yang CS. Thermosensitive liposomes entrapping iron oxide nanoparticles for conrollable drug release. *Nanotechnology.* 2009; 20: 135101.
- [12] Chen Y, Bose A, Bothun DG. Controlled release from bilayer-decorated magnetoliposomes via electromagnetic heating. *ACS Nano.* 2010; 6: 3215-3221.
- [13] Thomas CR, Ferris DP, Lee JH, Choi E, Cho MH, Kim ES et al. Noninvasive remote-controlled release of drug molecules in vitro using magnetic actuation of mechanized nanoparticles. *J.Am.Chem.Soc.* 2010; 132 (31): 10623-10625.
- [14] Kossatz S, Grandke J, Couleaud P, Latorre A, Aires A, Crosbie-Staunton K et al. Efficient treatment of breast cancer xenografs with multifunctionalized iron oxide nanoparticles combining magnetic hyperthermia and anti-cancer drug delivery. *Breast Cancer Research.* 2015; 17-66.
- [15] Estelrich J, Escribano E, Queralt J, Busquets M. Iron Oxide Nanoparticles for Magnetically- Guided and Magnetically- responsive Drug Delivery. *Int.J.Sci.* 2015; 16: 8070-8101.

- [16] Tietze R, Zaloga J, Unterweger H, Lyer S, Friedrich R, Janko C et al. Magnetic nanoparticle-based drug delivery for cancer therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015; 468: 463-470.
- [17] Dürr S, Janko C, Lyer S, Tripal P, Schawarz M, Zaloga J et al. Magnetic nanoparticles for cancer therapy. *Nanotechnol Rev*. 2013; 2(4): 395-409.
- [18] Veiseh O, Gunn J, Zhang M. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 62: 284-304.
- [19] Arruebo M, Fernández-Pacheco R, Ibarra MR, Santamaría J. Magnetic nanoparticles for drug delivery. *Nano Today*. 2007; 2: 22–32.
- [20] McCarthy J.R, Weissleder R. Multifunctional magnetic nanoparticles for targeted imaging and therapy. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008; 60: 1241- 1251.
- [21] Kumar A, Jena P, Behera S, Lockey R, Mohapatra S, Mohapatra S. Multifunctional magnetic nanoparticles for targeted delivery. *Nanomedicine*. 2010; 6: 64-69.
- [22] Wahajuddin, Arora S. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. *International Journal of Nanomedicine* 2012; 7: 3445–3471.
- [23] Singh D, McMillan J, Liu X, Hemant V, Kabanov A, SokolskyPapkov M et al. Formulation design facilitates magnetic nanoparticle delivery to diseased cells and tissues. *Nanomedicine*. 2014; 9(3): 469–485.
- [24] Lee J, Kim J, Cheon J. Magnetic Nanoparticles for Multi-Imaging and Drug Delivery. *Mol. Cells*. 2013; 35: 274-284.
- [25] Mok H, Zhang M. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticle-Based Delivery Systems for Biotherapeutics. *Expert Opin Drug Deliv*. 2013; 10(1): 73–87.
- [26] Kumar C, Mohammad F. Magnetic Nanomaterials for Hyperthermia-based Therapy and Controlled Drug Delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2011; 4: 63(9): 789–808.
- [27] Markides H, Rotherham M, ElHaj A. Biocompatibility and toxicity of magnetic nanoparticles in Regenerative Medicine. *Journal of Nanomaterials*. 2012; 2012: 1-11.
- [28] García Jimeno, S. Nanopartículas magnéticas para aplicaciones biomédicas [tesis doctoral]. Universitat de Barcelona. Barcelona; 2012.
- [29] Wang T, Wilson K, Machtaler S, Willmann J. Ultrasound and Microbubble Guided Drug Delivery: Mechanistic Understanding and Clinical Implications. *Curr Pharm Biotechnol*. 2014; 14(8): 743–752.
- [30] Miklavc D, Sers G, Breclj E, Gehl J, Soden D, Bianchi G et al. Electrochemotherapy: technological advancements for efficient electroporation-based treatment of internal tumors. *Med Biol Eng Comput* .2012; 50:1213–1225.