



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**NUEVOS SISTEMAS DE LIBERACION
CONTROLADA DE FARMACOS CON
NANOPARTICULAS MAGNETICAS**

Autor: Pablo Mendoza Cediell

Convocatoria: Febrero

1-Resumen:

Los sistemas de liberación controlada de fármacos son una de las líneas de investigación más prometedoras dentro de la tecnología farmacéutica. El uso de nano sistemas supondría un gran avance en el tratamiento de muchas enfermedades, en especial en aquellas en las que se usan para su tratamiento principios activos de alta toxicidad o que por su fisiopatología presentan impedimentos que dificultan la llegada del principio activo allí donde debe ejercer su efecto terapéutico.

En este trabajo se exponen las propiedades de las Nano partículas súper paramagnéticas de hierro (SPIONS por sus siglas en inglés), los fundamentos físicos que las rigen y sus aplicaciones en la liberación controlada de fármacos.

2-Introducción

Las nanopartículas tienen un tamaño de entre 1 y 100 nm. Este rango de tamaño abarca desde las moléculas hasta las estructuras microscópicas. Las nanopartículas debido a su tamaño presentan propiedades físicas muy diferentes a los materiales macroscópicos aunque tengan la misma composición química. Las nanopartículas magnéticas están compuestas de elementos magnéticos (hierro oro cobalto) y de sus óxidos.¹

Actividad magnética

El comportamiento magnético de un material depende de su configuración electrónica en concreto del número de electrones desapareados y el orbital en el que se encuentran. Las partículas con carga eléctrica al moverse generan un dipolo magnético. Cuando se aplica un campo magnético externo al material los dipolos se alinean con el campo magnético externo y forman un momento magnético dentro del material.²

Los electrones presentan dos tipos de momentos: el momento orbital y el momento de spin. Estos dos momentos pueden interactuar y acoplarse y de la naturaleza de este acoplamiento se desprende el comportamiento magnético del material. Existen cinco formas de comportamiento magnético: el superparamagnetismo, el diamagnetismo, el ferromagnetismo, el antiferromagnetismo y el ferromagnetismo.

El diamagnetismo se observa en los materiales con todos sus electrones apareados al encontrarse todos los electrones apareados sus momentos magnéticos se contrarrestan

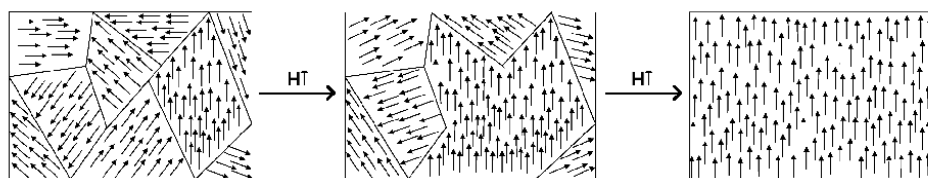
entre sí dando lugar a un momento magnético igual a cero lo que provoca que no sean susceptibles a los campos magnéticos externos.³

El resto de comportamientos magnéticos se observan en materiales que tienen alguno de sus electrones desapareados.

Los materiales con uno de sus electrones desapareados presentan un comportamiento paramagnético. Estos materiales tienen un momento magnético distinto de cero y se magnetizan al aplicarles un campo externo. Al aplicarle un campo externo el momento magnético del material se alinea con el del campo porque este es el estado de menor energía, la magnetización de estos materiales depende de la intensidad de campo y no es remanente ya que cuando el campo magnético cesa los spines de los electrones estos se ordenan aleatoriamente.⁴

Los materiales ferromagnéticos presentan una estructura cristalina. Esta estructura cristalina permite una fuerte interacción entre los momentos magnéticos del material. Estas características provocan que interaccionen fuertemente con el campo externo y que mantengan la magnetización un vez el campo ha cesado.

Si todos los momentos magnéticos del material se orientasen en una misma dirección la energía magnetostática sería muy alta, es por eso que materiales ferromagnéticos tienen lo que denominamos como dominios magnéticos. Los dominios magnéticos son pequeñas regiones dentro del material en las cuales todos los dipolos causados por los spines desapareados están alineados en la misma dirección. En una pieza no magnetizada los diferentes dominios están orientados en distintas direcciones. Cuando a estos materiales se les aplica un campo externo los dominios se alinean causando una magnetización remanente cuando cesa el campo.



En la imagen superior se observa el cambio en la orientación de los momentos magnéticos en una partícula multidominio al verse expuesta a un campo.

Cuando disminuimos el tamaño de partícula de un material ferro magnético disminuye también el número de dominios al reducir el tamaño de una partícula llega un momento

que cada nanopartícula es un mono dominio. En este momento aparece un nuevo tipo de comportamiento magnético conocido como súper paramagnetismo.^{4,5}

En este tipo de comportamiento el material tiene una susceptibilidad al campo magnético elevada, propia de los materiales ferromagnéticos, pero cuando este campo cesa no permanecen magnetizados como en el caso de los materiales paramagnéticos al organizarse sus spines de forma aleatoria.

Las dos propiedades más importantes de las nano partículas súper paramagnéticas en lo que se refiere al magnetismo son la coercitividad y la histéresis.

La coercitividad es la intensidad de campo necesaria para revertir la magnetización de un material después de que este ha sido magnetizado hasta saturación. En el caso de las partículas súper paramagnéticas es cero. Esto es muy importante para el uso de las nanopartículas en biomedicina pues nos garantiza que las partículas sólo son activas al aplicar un campo externo. Si esto no fuese así las nanopartículas conservarían cierto grado de magnetismo que podría provocar entre otras cosas su agregación suponiendo un problema al formarse depósitos, lo que podría producir obstrucciones de los vasos sanguíneos.^{5,6}

2.2-Hipertermia magnética:

Las nanopartículas magnéticas que se ven sometidas a un campo alterno absorben energía que luego es liberada en forma de calor. La energía es absorbida por las nanopartículas fundamentalmente por cuatro procesos: la generación de corrientes de fuga, la resonancia, la histéresis y la relajación. De estos cuatro los dos primeros se consideran despreciables puesto que no contribuyen en casi al proceso. La relajación y la histéresis son los dos procesos más importantes en la hipertermia.

La anisotropía es una propiedad de algunos materiales por la cual sus propiedades no son homogéneas al ser medidas en las diferentes direcciones del espacio. Las nanopartículas presentan lo que se llama anisotropía magneto cristalina, esta anisotropía es resultado de las diferentes interacciones electrostáticas derivadas de la configuración electrónica de las partículas y de su estructura cristalina. Las interacciones electrostáticas spin-orbital provocan que la distribución de cargas de la nano partícula no sea simétrica (no se distribuyen de forma esférica), esto, unido a la estructura cristalina de la partícula, provoca que no se necesite la misma energía para magnetizar

la partícula en todas las direcciones del espacio creándose así lo que se conoce como ejes de fácil magnetización.

Cuando las nanopartículas magnéticas están suspendidas en un fluido sus momentos magnéticos se encuentran orientados al azar. En ausencia de un campo magnético externo la solución, no presenta una magnetización neta. Cuando se aplica un campo magnético alterno las partículas reciben energía del campo, esto impulsa a los momentos magnéticos de las partículas a rotar para alinearse con el campo. Para esto tienen que vencer la barrera energética creada por la anisotropía de las partículas.

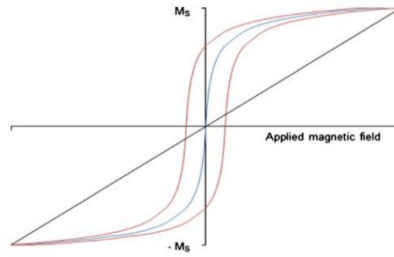
Para alinearse con el campo el momento magnético puede rotar o bien mantener su dirección y que sea la nanopartícula la que rote. El primer mecanismo se llama relajación de Neel y el segundo relajación de Brown. Siempre aparecen ambos aunque uno es prevalente. La prevalencia de uno u otro mecanismo depende fundamentalmente del tamaño de las partículas. Para partículas pequeñas predomina el mecanismo de Neel y para partículas más grandes el de Brown.^{5,6}

El proceso de histéresis es típico de los materiales ferromagnéticos que son multidominio.

Cuando a un material ferromagnético se expone a un campo magnético su magnetización crece desde cero hasta saturación. La saturación se alcanza cuando todos los dominios magnéticos del material están alineados con el campo. Una vez cesa el campo, el material permanece ligeramente imantado aunque haya cesado su exposición al campo algunos de sus dominios continúan alineados.

Cuando el material una vez magnetizado se expone a un campo contrario, su imantación decrece progresivamente hasta anularse para después alcanzar el estado de saturación en el sentido contrario.

A este proceso se le conoce como ciclo de histéresis y está representado por la curva de histéresis en la imagen inferior.



El área encerrada por las dos curvas en la gráfica es la energía que se disipa en el proceso en forma de calor. Este valor de energía es más alto cuanto mayor sea la coercitividad del material.⁷

En cristales superparamagnéticos la magnetización es inestable como resultado de la agitación térmica. Los momentos magnéticos cambian de un eje de imantación fácil a otro muy rápidamente lo que cancela la magnetización. Esta característica nos permite usar estos materiales en biomedicina.

2.3-Nanopartículas para biomedicina.

Las nanopartículas usadas para biomedicina tienen un núcleo metálico y una cubierta.^{1, 4,5}

Uso de recubrimientos:

Los recubrimientos de las nanopartículas sirven para mejorar sus propiedades físicas, para mejorar su biocompatibilidad, para funcionalizar las nano partículas, para proteger a las nano partículas de la oxidación, para evitar la formación de agregados y para evitar su secuestro por el sistema macrófago-fagocítico.^{6,8}

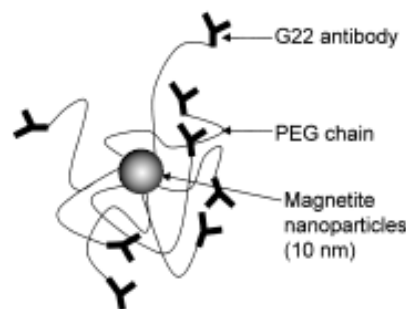
Prevención de la oxidación: Las nanopartículas tienen una superficie específica muy elevada y se oxidan rápidamente al ser introducidas desnudas en una solución acuosa y esto altera sus propiedades.

Evitar la formación de agregados: El recubrimiento reduce las interacciones dipolares entre las nanopartículas. En ausencia de esta cubierta las nanopartículas presentan una superficie hidrofóbica, esto da lugar a la aparición de fuerzas de Van der Waals que desembocan en la formación de agregados que pueden alcanzar el tamaño de micrómetros. Estos agregados no presentan el mismo comportamiento magnético que las nanopartículas de forma individual y pueden causar embolias.

Funcionalización: Los grupos funcionales los polímeros pueden usarse para unir enzimas, proteínas y otras biomoléculas que dirigirán posteriormente a nuestras nanopartículas a dianas de interés biológico.

Las nano partículas presentan una superficie específica muy alta que permite la unión de ligandos biológicos lo que asegurara la especificidad de la nanopartícula por su diana.

Si no se funcionaliza la nanopartícula esta va a distribuirse de forma pasiva cuando se introduzcan in vitro, llegando a los lechos vasculares que reciben mayor irrigación de forma fisiológica, y posteriormente, a órganos del sistema retículo endoplasmático al captar los macrófagos las nano partículas.



Nanopartícula funcionalizada con IG anti G22 en este caso la nanopartícula ha sido funcionalizada para su uso como contraste para diagnóstico por imagen ⁹

Tipos de recubrimientos:

Suelen usarse polímeros y liposomas además materiales inorgánicos como el oro y la sílice.

Recubrimientos inorgánicos: se usan mayoritariamente la sílice y el oro. La sílice puede formar recubrimientos de diferente grosor. En medio acuoso se carga negativamente lo que aumenta la dispersabilidad de las nanopartículas. Al recubrir las nanopartículas se producen poros en la estructura que permite atrapar fármacos gracias a la existencia de grupos hidroxilo. El inconveniente de estas uniones es que se trata de enlaces covalentes lo que, llegado el momento, puede dificultar la liberación del fármaco.¹⁰

El oro tiene una estabilidad química por su baja reactividad, además que permite la funcionalización mediante adición de moléculas con grupos tiol. No obstante, no es igual de eficaz al prevenir la aglomeración y, debido a su baja reactividad, a veces es complejo unirlo a la superficie del núcleo de óxido de hierro.^{6,8}

Recubrimientos orgánicos: Su principal ventaja es que presentan numerosos grupos funcionales para interaccionar con el núcleo metálico. Se caracterizan por tener gran biocompatibilidad. El dextrano y el polietilenglicol (PEG) son dos de los más usados así como la policaprolactona.

Núcleo metálico:

El núcleo metálico suele ser de magnetita (Fe_3O_4) o su producto de oxidación la maghemita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Se han hecho nanopartículas con otros materiales metálicos pero estos dos son los más usados en biomedicina por su biocompatibilidad y su buena resistencia a la oxidación.

Los problemas de toxicidad derivados la administración de nanopartículas de estos materiales aparecen tras la ingesta de dosis superiores a los 100 microgramos por mililitro, dosis no usadas en terapéutica.

Tamaño:

En el caso de las nanopartículas su tamaño es uno de los parámetros críticos más importantes.

El tamaño de las nanopartículas condiciona la distribución y el tiempo de permanencia en los organismos vivos. Estos dos parámetros son importantes para el cumplimiento del objetivo terapéutico.

Cuando una partícula entra en el organismo es reconocida por un tipo de proteínas llamadas opsoninas. Estas proteínas se unen a las partículas y sirven de reclamo a las células del sistema macrófago-fagocítico (SMF) que endocitan a estas nano partículas.

Una vez endocitadas acumuladas en los lisosomas donde se cree que son degradadas por encimas hidrolíticas responsables de la metabolización del hierro. El SMF incluye fundamentalmente macrófagos del bazo, del hígado y de los nódulos linfáticos.

Para aumentar el tiempo de permanencia de las nanopartículas en el organismo debemos evitar que sean reconocidas por este sistema. Las partículas con un tamaño inferior a 200nm no son captadas por el sistema, es por eso que las nanopartículas diseñadas para su uso en medicina tienen unas dimensiones menores.^{11, 12}

Las partículas, no obstante, deben tener un tamaño lo suficientemente grande para evitar su filtración directa por el riñón. Para conseguir esto, las nanopartículas deben ser mayores a los 5 nm.

Las nano partículas entre 10 y 100 nm presentan una buena distribución, es por esto que las partículas de acuerdo a esas proporciones son usadas con más frecuencia.⁸

Según el tamaño existen dos tipos de nano partículas SPIONS (superparamagnetic particles iron oxide nanoparticles) y USPIONS (ultra superparamagnetic iron oxide nanoparticles).

Se considera que una nano partícula es un SPIONS por encima de 50 nm, USPIONS por debajo esta medida.¹³

Los SPIONS tienen una menor vida plasmática y una mayor dificultad a la hora de alcanzar el SNC (deben atravesar la barrera hematoencefálica) y los pequeños vasos.

Los USPIONS alcanzan SNC y pequeños vasos, de este modo son más útiles para su uso como contrastes en la resonancia magnética nuclear. Estas nanopartículas, sin embargo, presentan una magnetización total menor más pequeña en comparación con partículas de mayor tamaño.¹

3- Objetivo:

El objetivo de este trabajo es obtener una visión general de los sistemas de liberación controlada de fármacos que incorporan en su estructura nanopartículas magnéticas de magnetita y maghemita así como exponer las características de estas.

4- Métodos:

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica en bases de datos científicas principalmente Google académico y pub med. También se han consultado tesis y trabajos de fin de grado de distintas universidades y se ha hecho uso del material bibliográfico aportado por el profesor Jorge Rubio Retama en la asignatura sistemas de liberación de fármacos.

5 -Resultados y discusión:

Las nanopartículas se están estudiando cada vez más como sistemas de vehiculización y liberación controlada de fármacos. Dichas nanopartículas constituyen en sí mismas una forma de tratamiento de algunas enfermedades como el cáncer gracias a la hipertermia.

Estos sistemas normalmente se componen de SPIONS o USPIONS, uno o varios componentes poliméricos, el principio activo y en ocasiones una molécula incorporada en la superficie del sistema cuya función es vectorizar la partícula.

Concepto de vectorización

Cuando un principio activo se administra, se distribuye por el organismo de forma que alcanza otros órganos y tejidos, no solo el lugar donde debe ejercer su efecto terapéutico. Es por esto que aparecen efectos secundarios que tienen diferente gravedad en función de la toxicidad del fármaco.

El objetivo de la vectorización de fármacos es que el principio activo se libere exclusivamente en el lugar donde debe ejercer su acción. Si se consigue este objetivo se reducen los efectos secundarios y el riesgo de que el paciente sufra una reacción adversa a la medicación (RAM).

En patologías en las que los principios activos utilizados tienen una alta toxicidad o presentan un intervalo terapéutico estrecho esta estrategia es especialmente interesante. Por razones obvias, uno de los campos donde el uso de sistemas de liberación controlada tendría una especial importancia es el tratamiento del cáncer. Existen dos tipos de vectorización: la vectorización activa y la vectorización pasiva.

Vectorización pasiva

En la vectorización pasiva no hay ningún mecanismo específico que condicione la distribución de las NMP. Se basa en las propiedades intrínsecas de las NMP y las características fisiopatológicas de los tejidos.

Una de las características más especiales de las NMP es su tamaño. El tamaño de las NMP se ve envuelto en dos procesos de vectorización pasiva: el efecto de permeabilidad y retención aumentada y el secuestro por el sistema retículo endotelial (sistema macrófago-fagocítico).

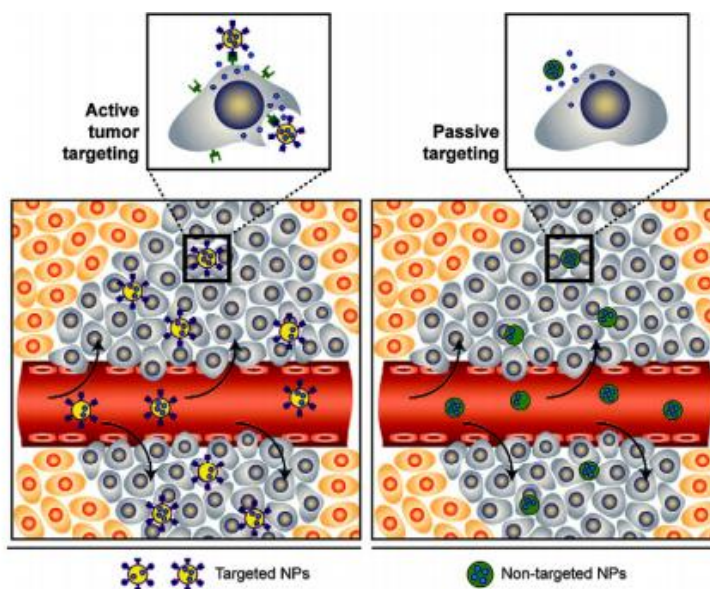
El efecto de permeabilidad y retención aumentada es una característica típica de los tumores. Este efecto se basa en la existencia de capilares fenestrados en los vasos que irrigan el tejido tumoral. Estos capilares tienen unos poros con un diámetro que varía entre los 200 y los 600 nm que permite la extravasación al tumor de las NMP. Los tejidos sanos no presentan este tipo de capilares por lo que las partículas se bioacumulan en los tejidos tumorales.⁶

Para conseguir que las partículas estén en circulación el tiempo suficiente para que se produzca esta acumulación deben ser recubiertas evitando así su secuestro^{11,12}.

Vectorización activa

La vectorización activa consiste en la fijación de una molécula con afinidad específica por un cierto tipo de ligando en la superficie de nuestro sistema. Esta molécula puede ser una inmunoglobulina, un aptámero, una proteína o cualquier otra sustancia que le confiera especificidad al sistema y lo dirija a la zona a tratar.

De esta forma el principio activo se liberará solo en aquel lugar donde vaya a ejercer su efecto terapéutico, minimizando así los efectos secundarios.^{9,11,12}



En la imagen se recogen los dos mecanismos de vectorización. El de derecha corresponde a la vectorización pasiva y el de la derecha a la vectorización activa.

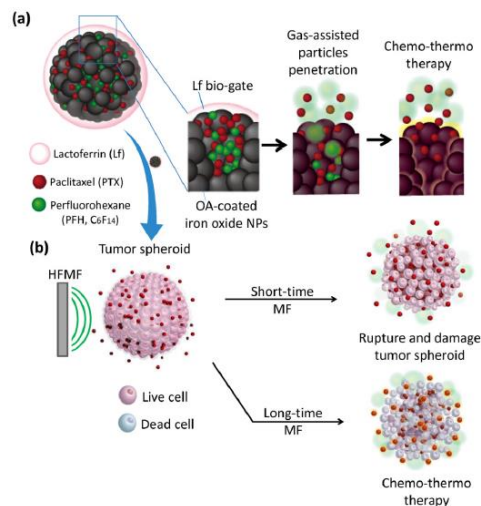
A continuación se expondrán algunos de los sistemas desarrollados para la liberación controlada de fármacos usando NMP. La mayoría de ellos todavía están en desarrollo.

Uno de los más novedosos es el uso de nanopartículas mesoporosas (MIONS)¹². Este sistema desarrollado por *Su Y y cols*¹² se basa en cargar el principio activo en los pequeños poros de la partícula. En este caso en concreto se diseñaron nanopartículas mesoporosas de óxido de hierro. Los poros fueron cargados de paclitaxel (PTX) y perfluorohexano (PFH) para posteriormente recubrir a los MIONS cargados con lactoferrina. El perfluorohexano es un compuesto orgánico en el cual todos los hidrógenos del hexano han sido sustituidos por átomos de flúor. Estos átomos de flúor consiguen que este compuesto presente una baja temperatura de ebullición y una marcada apolaridad.

La función de la lactoferrina es encapsular a los principios activos para evitar su liberación antes de lo deseado además de aumentar la biocompatibilidad de los MIONS y prevenir su captación por el sistema retículo endotelial. Además, en este caso vectoriza el sistema puesto que el tumor sobre el que se ensaya tiene el receptor de lactoferrina sobre expresado.

Este sistema combina una acción mecánica una acción térmica y una acción quimioterápica.

El funcionamiento del sistema es el siguiente: una vez se encuentren las nanopartículas dentro del tumor se aplica un campo magnético alterno que es el estímulo desencadenante de la liberación del fármaco. Como ya se explicó en el punto 2.2, ante un campo magnético alterno las NMP disipan energía al medio en forma de calor. El calor disipado por las nanopartículas provoca la evaporación del PFH lo cual aumenta la presión dentro del mesoporo hasta un punto en el cual esta presión rompe la cubierta de lactoferrina. La ruptura de la cubierta de lactoferrina (Lf) provoca la salida al medio del PTX y del gas de PFH. El gas aumenta la penetración de PTX en el tumor y además daña las estructuras del tumor disgregándolas.



En la imagen se plasma el efecto descrito en el apartado a) vemos a la mesopartícula cargada antes durante y después de aplicarse el campo magnético alterno y el apartado b) es una recreación del efecto del tratamiento en el tumor

Este tipo de sistema está pensado para ser usado en tumores sólidos en los que los principios activos no penetran con facilidad. La escasa penetrabilidad se debe a que la presión intersticial en el interior es alta y a que a menudo los tumores sólidos están recubiertos de tejido fibrótico lo que complica la penetración de los agentes quimioterapéuticos.

El sistema se ha ensayado en ratones a los cuales se les había inducido previamente un tumor sólido inyectándoles células RG2 (provenientes de una línea celular de cáncer cerebral).

Se hicieron cuatro grupos que recibieron cinco tipos de tratamiento diferente (suero salino, MIONS-PTX, Lf-MIONS-PTX y Lf-MIONS-PTX-PFH). El tratamiento fue administrado a todos los ratones por la vena de la cola y el campo magnético alterno fue aplicado 24 horas después de la inyección durante 10 minutos.

En los 16 días posteriores a la aplicación del campo magnético alterno se realizaron mediciones del volumen y el peso del tumor para valorar los resultados del tratamiento. Solo el grupo que había sido tratado con el sistema desarrollado completo Lf-MIONS-PTX-PFH había conseguido frenar la progresión del tumor.

Otra de las estrategias de vectorización es la unión de nanopartículas a aptámeros. En un estudio publicado en 2016 por *Mosafer J y cols*¹⁴ se diseñó un sistema dirigido a células de glicoma C6.

El glicoma es un tipo de neoplasia que se genera a partir de células gliales en el SNC ya sea en el cerebro o en la médula espinal. Los tumores cerebrales tienen una incidencia relativamente baja pero presentan un mal pronóstico, a menudo son incurables.

El glicoma es el cáncer cerebral más común. Habitualmente es tratado con quimioterapia, radioterapia y, cuando es posible, cirugía. No obstante, el tratamiento quimioterápico tiene una tasa de fallo bastante elevada pues los fármacos tienen que atravesar la barrera hematoencefálica y tienen una especificidad bastante baja por las células del glicoma.

Para lograr un sistema de vectorización y liberación controlada de fármacos para tratar esta patología, se usaron SPIONs que fueron encapsulados junto con doxorubicina en un polímero biodegradable derivado del ácido láctico y el ácido glicólico (PLGA).

Para vectorizar el sistema, las partículas formadas por SPIONs PLGA y doxorubicina fueron conjugadas al aptámero anti nucleolina AS1411. Un aptámero es un ácido nucleico (puede ser ADN o ARN) que gracias a su estructura tridimensional presenta afinidad por un ligando en concreto. Este aptámero hace la misma función que haría un anticuerpo en este caso dirige el sistema hacia tejidos que expresan el receptor de nucleolina.

El receptor de nucleolina se expresa en la superficie de las células epiteliales y está sobre-expresado en las células cancerosas. Este receptor toma parte en diversos procesos celulares como la división, la diferenciación, la adhesión y la angiogénesis. El uso de este receptor como ligando en la vectorización presenta, además, una importante ventaja: se ha estudiado que la unión del aptámero AS1411 al receptor de nucleolina induce un tipo de apoptosis llamada metuosis.

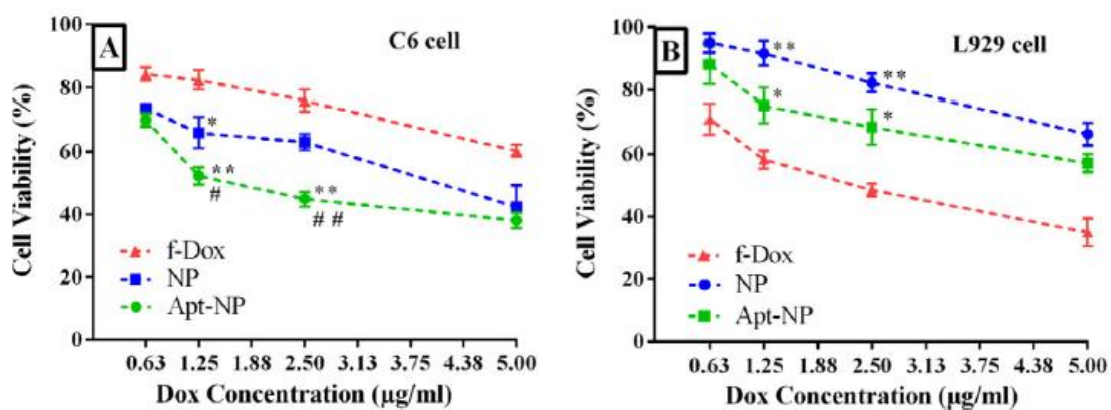
El ensayo del sistema se realizó *in vitro* con dos líneas celulares distintas. La C6 que sobre-expresa el receptor de nucleolina y la L929 (otra línea celular proveniente de un tumor).

Se midió la captación de las nanopartículas en las dos líneas celulares así como su supervivencia celular tras un determinado tiempo de incubación.

Se hicieron tres grupos de cada una de las líneas celulares y se les sometió a tres tratamientos distintos: al primer grupo se le incubo junto con doxorrubicina, el segundo junto con las nanoparticulas sin el aptámero y al tercero al sistema completo.

La captación de nanopartículas era máxima en las células de la línea c9 que entraban en contacto con el sistema completo.

Se estudio también la supervivencia celular de las células cancerosas. El grupo que menor supervivencia presentaba era el grupo que había sido tratado con el sistema NP-aptámero de la línea C9.



En estas graficas sacadas del artículo se observa que el sistema Apt-NP consigue reducir en un 60% la supervivencia celular de la línea C9. En la línea L929 el tratamiento más efectivo es la doxorrubicina siendo los otros dos prácticamente inefectivos.

Aunque el sistema necesita de estudios más completos estos resultados ponen de manifiesto la efectividad de la vectorización para lograr el objetivo terapéutico.

Otro sistema desarrollado por *Hayashi K y cols*¹⁵ permite controlar de forma remota la liberación del principio activo. Este sistema se basa en nanoparticulas poliméricas que atrapan en su interior SPIONs y doxorrubicina.

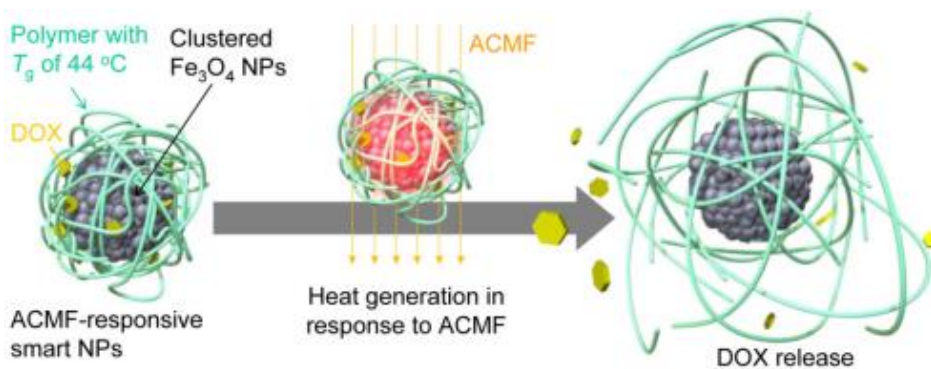
El sistema se basa en la naturaleza del polímero. Las propiedades de los materiales poliméricos cambian con la temperatura. Los polímeros amorfos están compuestos por un amasijo de cadenas entrelazadas. Por encima de una determinada temperatura, como resultado de la agitación de las moléculas, los enlaces entre las diferentes cadenas que conforman el polímero se debilitan lo que provoca un cambio en las propiedades físicas del polímero.^{16,17}

Este cambio en las propiedades físicas del polímero conlleva condiciona la liberación del principio activo. Por debajo de la temperatura de transición vítrea no se libera al estar las cadenas que conforman el polímero muy asociadas lo cual dificulta la difusión pero por encima de esta temperatura al estar las cadenas menos asociadas el coeficiente de difusión del principio activo aumenta y se libera al medio externo.¹⁷

La temperatura por encima de la cual cambian las propiedades de un polímero amorfo se denomina temperatura de transición vítrea. En este sistema se utilizó un polímero con una temperatura de transición vítrea de 44 grados.

Aprovechando la hipertermia producida por los SPIONs al verse expuestos a un campo magnético alterno y las propiedades de este polímero se consigue controlar la liberación del principio activo a voluntad.

Cuando el sistema se ve expuesto a un campo alterno los SPIONs calienta el medio por encima de la temperatura de transición vítrea, esto provoca que la unión entre las cadenas que conforman el polímero sea más débil y por lo tanto que el polímero pierda cohesión lo que a su vez provoca que el principio activo atrapado en el interior de las nano partículas difunda al exterior donde finalmente ejercerá su efecto terapéutico.



Esta imagen adaptada del artículo de hayashi¹⁵ es una recreación del proceso. La partícula cargada con DOX enclaustrada en el polímero termo sensible se libera al aplicarse un campo alterno que hace que las cadenas que componen el polímero pierdan cohesión.

Para aumentar la selectividad del sistema se fijó a la superficie del polímero que recubre la nano partícula ácido fólico. El ácido fólico es un cofactor necesario en la replicación celular. Las células tumorales tienen una tasa de replicación muy alta por lo que sobre expresan el receptor de folatos en su superficie. La expresión de ácido fólico en la superficie de las nano partículas aumenta la captación de las mismas por las células tumorales¹⁸.

Este sistema se ensayó in vivo en ratones a los que se les implantaron tumores provenientes de una línea celular de mieloma múltiple. Se hicieron seis grupos cada uno de ellos recibió un tratamiento diferente.

El grupo uno no recibió tratamiento, el grupo dos fue tratado con DOX inyectada directamente en el tumor, el grupo tres fue expuesto a un campo magnético alterno, al grupo cuatro se le inyectó el sistema desarrollado directamente en el tumor, al grupo quinto se le inyectaron las nanopartículas sin DOX y posteriormente se le expuso a un campo magnético y al sexto grupo se le trató con el sistema completo (SPIONs-polímero-DOX) y después se le expuso a un campo magnético alterno. La duración de la exposición al campo fue en los dos casos de 20 minutos.

Se realizó un seguimiento a los ratones durante 200 días para evaluar el resultado del tratamiento.

En los grupos 1,3 y 4 el tratamiento administrado no pudo parar la progresión del tumor. En los grupos 2 y 5 el tratamiento consiguió frenar la progresión del tumor pero no consiguió eliminarlo.

En el grupo tratado con el sistema completo, el grupo 6, el tumor desapareció el día 12 después del tratamiento y no volvió a aparecer.

Existen otros sistemas de liberación controlada que se basan en el uso de puertas magnéticas. Existen varios tipos de puertas magnéticas, en un estudio realizado por Ruiz-Hernández E y cols ¹⁹ se utilizaron puertas magnéticas compuestas por ADN.

La sílice mesoporosa puede ser cargada de principios activos y otros agentes terapéuticos gracias a su estructura. Además puede modificarse su superficie para fijar en ella diferentes moléculas como el ADN.

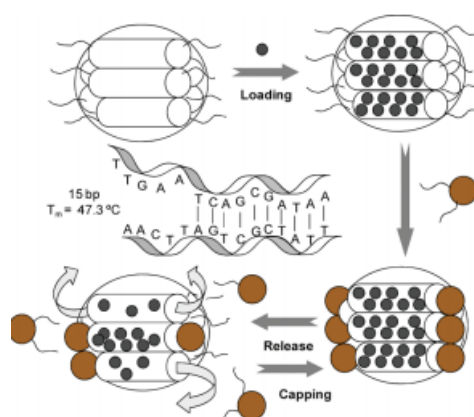
Se ha descrito que cuando se une un SPION a una doble hélice de ADN y se expone a un campo magnético alterno la temperatura desprendida en el proceso provoca la desnaturalización de la doble hélice y la separación de las dos hebras.

La temperatura a la que se produce la desnaturalización depende de la secuencia de nucleótidos que compone la cadena; principalmente, depende de su contenido en guanina y citosina. Estas son dos bases complementarias y establecen entre sí tres puentes de hidrógeno frente a los dos que se establecen entre la adenina y la timina. Si

una doble hélice tiene mucha G-C, la temperatura a la cual la hélice se desnaturaliza (temperatura de melting) será mayor.

Este sistema se basa en la creación de puertas magnéticas formadas por hebras de ADN unidas a SPIONs. Estas puertas impedirían la difusión de los principios activos hasta el momento en el que aplicásemos un campo alterno, en ese momento, la desnaturalización de las hebras de ADN permitiría la liberación del principio activo.

Se fijó una hebra a las partículas de sílice mesoporosa y la complementaria se fijó por separado a los SPIONs. La sílice se cargó con el principio activo y, una vez cargado, se añadió a la solución el duplo hebra-SPION. Una vez juntas en solución, las hebras se unen formando la tapadera magnética que permanecerá en su lugar hasta que se aplique un campo magnético alterno. Un vez aplicado el campo la temperatura liberada provoca la desnaturalización de la doble cadena y así desaparece el impedimento para que el principio activo difunda al medio externo lo cual desencadena la liberación del fármaco.



En la imagen superior se observa el proceso descrito. Las partículas de sílice son cargadas con el principio activo que queda posteriormente encapsulado en su interior al añadir la hebra complementaria unida al SPION. Cuando se aplica el campo alterno el calor resultante deshace esta unión liberándose el principio activo.

Este sistema no ha sido probado in vivo todavía, los investigadores usaron como principio activo en el estudio la fluoresceína para facilitar la caracterización del proceso de liberación.

El sistema se expuso a un campo alterno y se midió la liberación de fluoresceína por el sistema a medida que iba aumentando la temperatura. Se observó una liberación gradual de fluoresceína. El aumento de temperatura del sistema mediante hipertermia magnética solo se ensayó hasta los 47 °C, a esta temperatura se había liberado solamente alrededor de un 20% de la fluoresceína cargada en el sistema.

La temperatura necesaria para liberar el principio activo puede regularse cambiando la secuencia de la tapadera magnética.

6-Conclusion

Los sistemas que contienen SPIONs están siendo ampliamente estudiados actualmente. Los SPIONs pueden ser utilizados como contrastes en resonancia magnética nuclear, como tratamiento hipertérmico y como mecanismo de control de liberación de fármacos usando materiales que respondan a estímulos térmicos. ^{1, 5,6}

La posibilidad de vectorizar y controlar la liberación de principios activos muy tóxicos como los citostáticos supondría una ventaja importante en la lucha contra enfermedades como el cáncer puesto que minimizaría los efectos secundarios y facilitaría el cumplimiento del objetivo terapéutico. Usando estos sistemas podríamos reducir la dosis de principio activo administrada, facilitar la posología y, de esta forma, el cumplimiento terapéutico por parte del paciente, reducir los efectos adversos e incluso usar principios activos hoy inútiles en terapéutica por su toxicidad.

Los sistemas de liberación controlada de fármacos que usan nano partículas magnéticas esta aún en una fase de temprano desarrollo. No he podido encontrar ningún estudio que probase en humanos algún sistema de liberación controlada de fármacos que contuviese SPIONs, no obstante, los ensayos en animales de laboratorio sitúan a estos sistemas como una buena línea de investigación donde seguir trabajando.

El uso de estos sistemas en enfermedades como el cáncer tiene además un ventaja añadida, esta es el efecto sinérgico de la hipertermia junto con la radio terapia y la quimioterapia. La hipertermia aumenta la perfusión del tejido tumoral, esto provoca que al tejido le llegue más oxígeno y así que se generen más radicales libres que combinados con la radioterapia potencian la toxicidad sobre las células tumorales de este tipo de tratamientos.⁵

Un inconveniente de este tipo de sistemas es la escasa información acerca de su toxicidad a largo y medio plazo y la dificultad a la hora de optimizar los procesos de síntesis de los SPIONs así como para desarrollar sistemas reproducibles a gran escala.

De momento estos sistemas no constituyen una alternativa terapéutica aunque a medida que avancen las investigaciones podrían llegar a serlo.

7-Bibliografía:

1. García Jimeno S. Nanopartículas magnéticas para aplicaciones biomédicas [Tesis Doctoral]. Universitat de Barcelona, Facultat de Farmàcia; 2012.
2. Alonso M, Finn E, Heras C, Barreto Araujo. J.Física. México [etc.]: Fondo Educativo Interamericano; 1981.
3. Burbano de Ercilla S, Gracia Muñoz. Física general. Madrid Tébar, 2003.
4. Chamé Fernández K. Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas [Tesis Doctoral]. Centro de Investigaciones en Óptica; 2013.
5. Mojica Piscioti M. Estudio del proceso de calentamiento de nanopartículas con campos magnéticos para su utilización en el tratamiento de tumores por hipertermia. Universidad Nacional de Cuyo, Comisión Nacional de energía atómica; 2009.
6. Colombo M, Carregal-Romero S, Casula M, Gutiérrez L, Morales M, Böhm I et al. Biological applications of magnetic nanoparticles. Chemical Society Reviews. 2012;41(11):4306.
7. Laboratorio de Materiales Magnéticos Ciclo de histéresis de materiales ferromagnéticos. Curso 2015/2016 UCM.
8. Sun C, Lee J, Zhang M. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews. 2008;60(11):1252-1265.
9. Ito A, Shinkai M, Honda H, Kobayashi T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2005;100(1):1-11.
10. Gupta A, Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. Biomaterials. 2005;26(18):3995-4021.
11. Santa C.F., B.L. López Osorio. Materiales poliméricos en nanomedicina: transporte y liberación controlada de fármacos. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 37 (142): 115-124, 2013. ISSN 0370-3908.

12. Su Y, Fang J, Liao C, Lin C, Li Y, Hu S. Targeted Mesoporous Iron Oxide Nanoparticles-Encapsulated Perfluorohexane and a Hydrophobic Drug for Deep Tumor Penetration and Therapy. *Theranostics*. 2015;5(11):1233-1248.
13. Vallet-Regi M, Arcos Navarrete D. Magnetic Nanoceramics for Biomedical Applications. In: Vallet-Regi M, Arcos Navarrete D, ed. by. *Nanoceramics in Clinical Use: From Materials to Applications*, 2nd Edition. Madrid: RSC Nanoscience & Nanotechnology; 2016. p. 275-312.
14. Mosafer J, Teymouri M, Abnous K, Tafaghodi M, Ramezani M. Study and evaluation of nucleolin-targeted delivery of magnetic PLGA-PEG nanospheres loaded with doxorubicin to C6 glioma cells compared with low nucleolin-expressing L929 cells. *Materials Science and Engineering: C*. 2017;72:123-133.
15. Hayashi K, Nakamura M, Miki H, Ozaki S, Abe M, Matsumoto T et al. Magnetically Responsive Smart Nanoparticles for Cancer Treatment with a Combination of Magnetic Hyperthermia and Remote-Control Drug Release. *Theranostics*. 2014;4(8):834-844.
16. Benavente R. (2007). *Polímeros amorfos, semicristalinos, polímeroscristales líquidos y orientación*. Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros.
17. Mura S, Nicolas J, Couvreur P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nature Materials*. 2013;12(11):991-1003.
18. Yu MK, Park J, Jon S. Targeting strategies for multifunctional nanoparticles incancer imaging and therapy. *Theranostics*. 2012; 2: 3-44.
19. Ruiz-Hernández E, Baeza A, Vallet-Regí M. Smart Drug Delivery through DNA/Magnetic Nanoparticle Gates. *ACS Nano*. 2011;5(2):1259-1266.