



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

## **GRADO EN MEDICINA**

### **TRABAJO FIN DE GRADO**

**Nanotransportadores de fármacos en el tratamiento  
contra el cáncer.**

*Nanodelivery of drugs in the treatment of cancer.*

**Autor: Ana López Garrido**

**Director/es: Mónica López Fanarraga**

**Codirectora: Eloisa González Lavado**

**Santander, Junio 2017**

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	3
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	5
1.1 Cáncer.....	5
1.2 Nanomedicina.....	6
1.3 Nanomateriales.....	7
1.4 Ventaja del uso de nanomateriales en la terapia contra el cáncer....	7
1.5 Nanotransportadores.....	8
<b>2. SISTEMA DE TRANSPORTE DE NANOPARTÍCULAS</b> .....	9
2.1 Passive targeting.....	9
2.2 Active targeting.....	10
2.3 Sistemas de respuesta a los estímulos/liberación activada.....	10
<b>3. NANOTRANSPORTADORES DE FÁRMACOS</b> .....	13
3.1 Nanopartículas virales para la terapia del cáncer.....	14
3.2 Nanotransportadores orgánicos para la terapia del cáncer.....	15
3.2.1 Fármacos conjugados en nanopolímeros.....	15
3.2.1.1. Conjugados polímero proteína.....	16
3.2.1.2. Conjugados polímero fármaco.....	16
3.2.2 Dendrímeros.....	16
3.2.3 Nanotubos de carbono.....	18
3.2.4 Nanotransportadores basados en lípidos.....	19
3.2.5 Polímeros naturales: Nanotransportadores basados en proteínas y péptidos.....	21
3.2.6 Nanotransportadores basados en polímeros sintéticos.....	22
3.3 Nanotransportadores inorgánicos para la terapia del cáncer.....	22
<b>4. MULTIFUNCIONALIDAD/TERANÓSTICO</b> .....	23
<b>5. DESAFÍOS Y LIMITACIONES ACTUALES</b> .....	24
5.1 Caracterización fisicoquímica de nanomateriales.....	24
5.2 Preocupaciones de seguridad.....	24
5.3 Asuntos reglamentarios.....	25
5.4 Problemas de caracterización.....	26
<b>6. RETOS DE LA MEDICINA</b> .....	26
6.1 Las siete prioridades.....	27
6.2 Aprovechar los recursos.....	28
<b>7. EL FUTURO DE LA NANOMEDICINA</b> .....	29
<b>8. CONCLUSIONES</b> .....	30
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	32

## RESUMEN

El cáncer es una enfermedad provocada por células que comienzan a multiplicarse sin control e invaden otros tejidos. El sistema inmunológico es capaz de detectar y eliminar las células cancerígenas, sin embargo, en algunas ocasiones éstas son capaces de evadirlo mediante numerosos mecanismos de resistencia. En los últimos años, están en investigación nuevas terapias que solventen los problemas que resultan de los tratamientos convencionales contra el cáncer, tales como la destrucción indiscriminada de células sanas y la toxicidad producida por la quimioterapia.

El uso de nanomateriales se ve justificado gracias a propiedades químico-físicas ventajosas que permiten un mayor control sobre el lugar de acción del tratamiento. Mediante diversos sistemas de transporte, dirigidos con ligandos, aprovechando la distribución y la farmacocinética del medio o bien respondiendo a diferentes estímulos, el nanotransportador consigue llegar a su diana y liberar el fármaco.

El uso de diferentes materiales en la síntesis de estos nanotransportadores, permite que los clasifiquemos en tres grupos principales; virales, orgánicos e inorgánicos, siendo los orgánicos los que muestran avances más prometedores. Sin embargo, los grandes costes en la producción, las dudas respecto a la toxicidad y la dificultad de su caracterización fisicoquímica, hacen que la terapia con nanotransportadores aún no sea un hecho a día de hoy.

En lo sucesivo, el trabajo cooperativo de las diferentes disciplinas científicas resultará indispensable para poder avanzar en el desarrollo de estas nano-estructuras.

## ABSTRACT

Cancer is a disease caused by cells that begin to multiply uncontrollably and invade other tissues. The immune system is able to detect and eliminate cancer cells, although cancer cells, sometimes evade these controls through various mechanisms. In recent years, various therapies based on nanomedicine have been developed.

The use of nanomaterials is justified thanks to advantageous chemical-physical properties that allow a greater control over the place of action of the treatment. In this way, it is possible to design nanomaterials they can reduce the toxicity and to increase the efficiency with respect to the conventional treatments.

By means of various transport systems directed by ligands to targer cells, the nano-delivery systems can serve to improve the distribution and pharmacokinetics many therapies reaching their targets and releasing the drug *in situ*.

The use of different materials in the design of these nanotransport systems, allows us to classify them into three main groups; natural systems such as viruses, organic and inorganic, being the organic ones those that show more promising advances.

However, the great costs in production, the doubts regarding the toxicity and the difficulty of the physical characterization of the devices, make these nano delivery systems not a reliable to date.

In the future, the cooperative work of the different scientific disciplines is indispensable to advance in the development of these structures.

**Palabras clave:**

**Cáncer:** Proliferación incontrolada de las células tumorales y ausencia de muerte celular, que a excepción de los cánceres hematológicos genera una masa celular anormal o tumor. Puede comenzar de manera localizada y diseminarse a otros tejidos circundantes.

**Nanomedicina:** Aplicación de la nanotecnología a la medicina, es decir, la utilización de nanomateriales para el diagnóstico, prevención y tratamiento de diversas enfermedades así como para adquirir conocimiento de su fisiopatología.

**Nanomaterial:** Aquel que al menos en una de sus dimensiones es inferior a 100 nm.

**Active targeting (Liberación activa):** forma de liberación que se basa en la unión de ligandos específicos a la superficie de los sistemas de transporte y que reconocen de forma específica determinadas células.

**Passive targeting (Liberación pasiva mediada por el efecto EPR):** se refiere a la observación por la que la vasculatura permeable y la membrana basal desorganizada del tejido tumoral conducen a la acumulación de entidades de 10-500 nm de tamaño.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Cáncer

El cáncer es la segunda causa mundial de muerte, superada sólo por las enfermedades cardiovasculares.

La Organización Mundial de la salud (OMS) atribuye 8,2 millones de muertes como consecuencia del cáncer en 2012, correspondientes al 13% del total. En las próximas dos décadas, se espera que la incidencia de cáncer global aumente a unos 22 millones.

Esta enfermedad es debida a la proliferación incontrolada de las células tumorales y la ausencia de muerte celular, que, a excepción de los cánceres hematológicos genera una masa celular anormal o tumor. Este tumor primario crece gracias a una nueva vascularización y con el tiempo, adquiere potencial metastásico y se extiende a otros sitios del cuerpo lo que causa metástasis y finalmente, muerte.

El cáncer es causado por mutaciones en el material genético de las células debido a factores ambientales y/o heredados. La cirugía y radioterapia son el tratamiento primario utilizado para tumores localizados pero no para cánceres metastásicos. Para estas situaciones la elección reside en la quimioterapia, terapia hormonal y biológica.

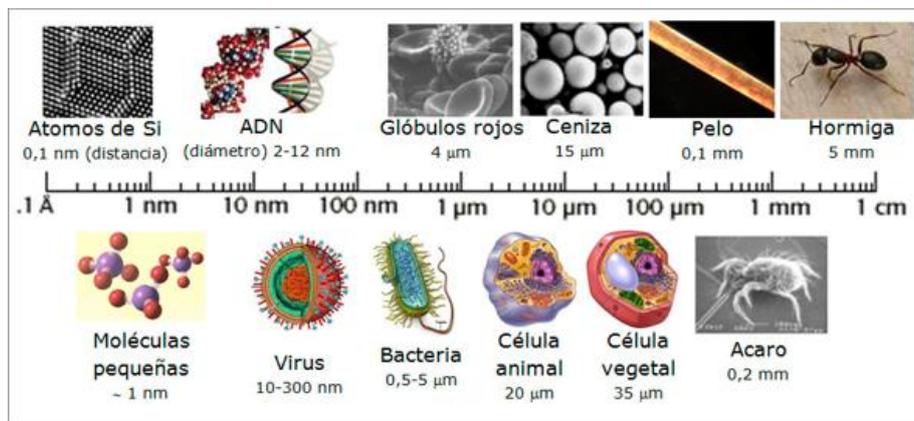
La quimioterapia se basa en la inhibición de la división rápida de las células cancerosas, pero también afecta a las células normales con rápidas tasas de proliferación: folículos pilosos, medula ósea y células del tracto gastrointestinal, generando los efectos secundarios típicos de la quimioterapia. La destrucción indiscriminada de células normales, la toxicidad de los fármacos quimioterapéuticos convencionales así como el desarrollo de resistencia a múltiples fármacos apoyan la necesidad de encontrar nuevos tratamientos eficaces dirigidos.

Durante más de dos décadas, los avances en la comprensión de la biología del cáncer se han traducido en mejoras significativas en el tratamiento del mismo. Una de las principales razones es la falta de respuesta selectiva, siendo la alta exposición sistémica a los agentes antineoplásicos el factor limitante dosis-toxicidad. Por lo tanto, la terapia dirigida específicamente es de suma importancia para superar las limitaciones actuales en terapia del cáncer.

Estas nuevas terapias dirigidas pueden actuar bloqueando las vías de transducción biológica, induciendo la muerte de células cancerosas por medio de apoptosis y estimulación del sistema inmune, o bien, administrando agentes quimioterapéuticos dirigidos minimizando los efectos secundarios indeseables.<sup>1</sup>En este sentido la Nanomedicina juega un papel fundamental en la liberación de fármacos de forma específica en células tumorales.

## 1.2. Nanomedicina

De manera genérica, podríamos definir nanotecnología como el estudio, diseño, síntesis, manipulación y aplicación de materiales funcionales, dispositivos y sistemas a través del control de la materia a escala nanométrica y el uso de las nuevas propiedades en esa escala. Si citamos textualmente la definición de la *National Science Foundation*, un objeto "nano" es aquel que posee en alguna de sus tres dimensiones físicas una escala comprendida entre 1 y 100 nanómetros (un nanómetro es igual a  $10^{-9}$  metros). Como vemos en la siguiente figura (Fig. 1) este tamaño se corresponde con muchas estructuras biológicas como por ejemplo virus, bacterias, glóbulos rojos... Esto facilita considerablemente el uso de este tipo de materiales de cara a evitar resistencias y a su incorporación en la propia célula.



**Figura 1.** Esquema comparativo del tamaño de diferentes organismos y moléculas en relación al nanómetro. Fuente: Nanotecnología y química viva.<sup>2</sup>

La medicina es uno de los principales focos de atención de la nanotecnología. En los últimos años se han desarrollado diversas aplicaciones utilizando estructuras nanométricas para diagnosticar y tratar diferentes tipos de enfermedades. Así, diferentes organismos acuñaron el término de nanomedicina, cuyo objetivo es "el control, la reparación y la mejora integral de todos los sistemas biológicos humanos, trabajando desde el nivel molecular con dispositivos de ingeniería y nanoestructuras para lograr beneficios médicos".<sup>3</sup>

La nanomedicina agrupa 3 áreas principales:

- **El nanodiagnóstico**, consistente en el desarrollo de sistemas de análisis y de imagen para la detección de enfermedades lo más temprano posible, tanto *in vivo* como *in vitro*.
- **La nanoterapia**, que pretende dirigir nanosistemas activos que contengan elementos de reconocimiento para actuar o transportar y liberar medicamentos exclusivamente en las células o zonas afectadas, a fin de conseguir un tratamiento más efectivo y minimizar los efectos secundarios.

- La **nanomedicina regenerativa**, cuyo objetivo es la reparación o sustitución de tejidos y órganos dañados mediante el uso de herramientas nanotecnológicas.

### **1.3. Nanomateriales**

Los nanomateriales son materiales con propiedades morfológicas de entre 1 y 100 nm en al menos una de sus dimensiones.

Muchas de las propiedades de los materiales dependen de cómo se comporten los electrones que se mueven en su seno o de cómo estén ordenados los átomos en la materia. En un material nanométrico, el movimiento de los electrones está muy limitado por las dimensiones del propio material. Además la proporción de átomos en la superficie con respecto al interior es mucho más alta que en materiales de tamaño más elevado. Por consiguiente, si se reducen las dimensiones de un material, se modifican sus propiedades y en consecuencia se pueden diseñar materiales con propiedades a la carta.

La Agencia del Medio Ambiente (EPA) de EEUU ha clasificado los nanomateriales actuales en cuatro tipos, según su composición:

**Basados en carbono:** están formados principalmente por carbono y suelen adoptar formas como esferas huecas o elipsoidal (fullerenos), cilíndrica (nanotubos), láminas (grafeno), también podemos encontrar nanofibras, nanohorn, nanoonion, etc.

**Basados en metales:** incluyen puntos cuánticos, nanopartículas de oro y plata y óxidos metálicos como el dióxido de titanio entre otros.

**Dendrimeros:** polímeros de tamaño nanométrico contruidos a partir de unidades ramificadas que se pueden adaptar para desempeñar funciones químicas específicas. Además, contienen cavidades interiores en las que se pueden introducir otras moléculas, pudiendo ser útiles para la administración de fármacos.

**Compuestos:** combinaciones de nanopartículas entre sí o con materiales de mayor tamaño.<sup>4</sup>

### **1.4. Ventaja del uso de nanomateriales en terapia contra el cáncer**

Un material a escala nanométrica presenta unas propiedades muy diferentes del mismo material a escala macroscópica. Es en estas diferencias en las propiedades químico-físicas (propiedades ópticas, eléctricas y estructurales) donde reside el interés creciente en este tipo de materiales.

La reducción del tamaño produce un aumento enorme de la superficie del nanomaterial, lo que mejora la velocidad de disolución y el límite de saturación de la solubilidad. Entre las ventajas de la encapsulación de determinados fármacos en sistemas nanométricos se encuentran:

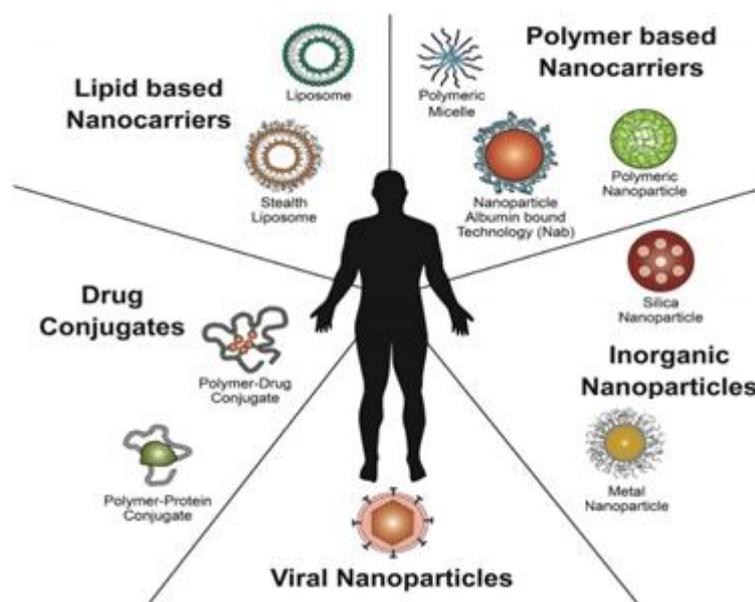
1. Mejor biodisponibilidad.
2. Disminución de la variabilidad de respuesta entre los estados de ayuno y no ayuno.
3. Rápido logro del efecto terapéutico en la administración oral.
4. Protección del principio activo incorporado contra la degradación química.
5. Mayor flexibilidad en la modulación de la liberación de los fármacos (en algunos casos incluso pudiendo dirigir el fármaco hasta el órgano diana donde se quiere actuar de una manera más efectiva).<sup>5</sup>

### 1.5. Nanotransportadores

Los nanotransportadores (NT) pueden ser de dos tipos. Los formados principalmente por agentes poliméricos en los que el fármaco está unido covalentemente, o los conjuntos moleculares de diversas estructuras que contienen el fármaco atrapado físicamente en su interior o pegado a su superficie.

Un nanotransportador ideal debe ser biodegradable y biocompatible, capaz de ser dirigido eficazmente, con la mayor parte del agente terapéutico localizado en el sitio diana, diseñado con las características biofísico-químicas óptimas del fármaco, la semivida de la circulación y la liberación sostenida del mismo a través de tiempos de administración infrecuentes y susceptibles de una ampliación rentable para la comercialización.

Como veremos a lo largo del trabajo, existen diferentes tipos de nanotransportadores utilizados en la terapia del cáncer. En la figura 2 podemos observar una clasificación general de los mismos que se desarrollará más adelante.<sup>6</sup>



**Figura 2.** Ilustración esquemática de las plataformas nanoterapéuticas establecidas. Los diferentes tipos de nanotransportadores como conjugados de fármacos, nanotransportadores basados en lípidos, nanotransportadores basados en polímeros, nanotransportadores inorgánicos y nanopartículas virales. Fuente: *Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities and clinical applications*.

## 2. SISTEMAS DE TRANSPORTE DE NANOPARTÍCULAS

En cualquier terapia del cáncer, hay un equilibrio entre el beneficio y el daño potencial del tratamiento. El objetivo de cualquier nano-aplicación de un medicamento es cambiar este equilibrio en favor de los beneficios. Las estrategias generales para mejorar el índice terapéutico del fármaco se describen a continuación:

### 2.1. Passive targeting

La mayoría de los tratamientos oncológicos basados en nanotransportadores que están disponibles en el ámbito clínico corresponden a nanofármacos de primera generación *passively targeted*. Ésta depende principalmente de controlar la farmacocinética y la biodistribución de un compuesto mediante la modulación de sus propiedades físico-químicas. Por ejemplo, la doxorubicina liposomal pegilada (Doxil® / Caelyx®) y el nab-paclitaxel (Abraxane®) son nanofármacos de primera generación basados en la focalización pasiva.

Las características fisiopatológicas de los cánceres y su entorno han sido la base del estudio en el *passive targeting*. En concreto, el efecto EPR (*Enhanced Permeability and Retention Effect*) promueve la acumulación de nanofármacos en el tumor. Este efecto se basa en la presencia de vasos sanguíneos intratumorales con fugas, cuyo endotelio está fenestrado con espacios entre 100 nm y 780 nm de tamaño. Por ejemplo, el sarcoma de Kaposi es un tipo de tumor con vasos sanguíneos fenestrados; por tanto, mediante procedimientos de convección y difusión, los nanofármacos pueden penetrar de manera pasiva en tumores sin ningún ligando específico unido a su superficie.

La creación de un "depósito" en las inmediaciones del tumor puede ser suficiente para inducir un efecto farmacológico. Sin embargo, se ha aceptado ampliamente que el *passive targeting* basado en el efecto EPR no es suficiente para controlar los efectos secundarios de los fármacos citotóxicos y aprovechar plenamente los beneficios de la acción dirigida.

La heterogeneidad del tumor y su estroma, tal como un gradiente hipóxico, puede afectar gravemente a la eficacia de los fármacos administrados mediante *passive targeting*. Esto puede resultar en la reducción del transporte del compuesto en el tumor. Investigaciones recientes se han centrado en la normalización de la vasculatura tumoral antes de iniciar el tratamiento del cáncer y el análisis guiado por imágenes del efecto EPR.

Otro factor que limita el acceso de los medicamentos en nanomedicina al tumor es el aumento de la presión del líquido intersticial del órgano tumoral. Además, la matriz extracelular de ciertas neoplasias malignas, como el cáncer de páncreas, limita la penetración de fármacos en el tumor.<sup>7</sup>

## 2.2. Active targeting

En el caso del *active targeting*, un ligando de alta afinidad se une a la superficie de un nanotransportador. El ligando se une selectivamente a un receptor en la célula diana. La acción dirigida está garantizada por la alta especificidad del ligando con su receptor celular. Se ha utilizado una amplia gama de ligandos para tales propósitos incluyendo moléculas pequeñas como ácido fólico y carbohidratos, o macromoléculas como péptidos, proteínas, anticuerpos, aptámeros y oligonucleótidos.

Un ejemplo en ensayos clínicos son los inmunoliposomas cargados con doxorrubicina dirigidos contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). El ligando debe elegirse de manera que permita la unión a las células diana al tiempo que minimiza la unión a células sanas. Para una unión eficiente, los nanotransportadores deben ser lo suficientemente estables para evitar la liberación prematura y la degradación del fármaco en la circulación.

En casos específicos, la captación celular puede conducir a efectos farmacológicos mejorados (como se demuestra para inmunoliposomas) o incluso puede ser un requisito cuando se trata de la implementación de enfoques de terapia génica. Sin embargo, la internalización de los nanotransportadores no siempre es necesaria. Por ejemplo, las moléculas pequeñas como la doxorrubicina pueden atravesar la membrana celular por difusión pasiva.

Las trampas como las barreras anatómicas y fisiológicas tienen que tenerse en cuenta para el desarrollo de nanotransportadores dirigidos contra las células cancerígenas. Tales barreras pueden prevenir la interacción directa entre el nanotransportador y su célula diana o pueden obstaculizar la penetración profunda en el tejido neoplásico (fenómeno de barrera del sitio de unión).<sup>8</sup>

## 2.3. Sistemas de respuesta a los estímulos / liberación activada

Los mecanismos que se han diseñado para la liberación de las terapias *in situ* responden a los estímulos locales del tumor, a desencadenantes físicos, químicos o biológicos. Éstos promueven la liberación de fármacos al interferir con la fase, la estructura o la conformación del nanotransportador funcionando como los mecanismos de retroalimentación de los sistemas biológicos, donde los procesos de señalización bioquímica modulan parámetros físico-químicos. La ventaja de usar sistemas sensibles a los estímulos es obvia: el fármaco se libera a través de un efecto desencadenante sólo presente en el tejido neoplásico, minimizando así la exposición sistémica al compuesto.

Los desencadenantes se pueden dividir en estímulos internos (patofisiológicos/patógenos) y externos (estímulos físicos como temperatura, luz, ultrasonido, fuerza magnética y campos eléctricos).

Los estímulos internos incluyen cambios en el pH, redox, fuerza iónica y tensión de cizallamiento en los tejidos diana. Por ejemplo, en los tumores sólidos, debido a la

glicolisis anaerobia, el pH extracelular es típicamente más ácido que el pH sistémico. De forma similar, el pH de orgánulos intracelulares (por ejemplo, endosomas y lisosomas) es también más ácido que el pH del citoplasma o sangre. Estas condiciones se pueden utilizar para desencadenar la liberación localizada de fármacos del nanotransportador. Por ejemplo, se usan liposomas que responden al pH para activar la liberación del fármaco y por lo tanto aumentar la eficacia terapéutica.

Además, existen otros sistemas de liberación basados en la sobreexpresión de ciertas biomoléculas que se expresan diferencialmente en células normales y células cancerosas, como enzimas, incluyendo proteasas y glucuronidasas que son útiles para los sistemas sensibles.

El microambiente tumoral también puede servir como desencadenante de la liberación del fármaco es el área hipóxica de los tumores, que presentan baja presión de oxígeno y niveles de nutrientes bajos. Un ambiente de este tipo es rico en agentes reductores, que pueden ser utilizados para la liberación desencadenada de los fármacos contenidos en nanotransportadores redox-reactivo. Los nanotransportadores que contienen disulfuro son la tecnología de respuesta redox más estudiada. El aumento de los niveles de glutatión conduce a una rotura de los puentes disulfuro y desencadena la liberación de fármacos en el tejido tumoral.

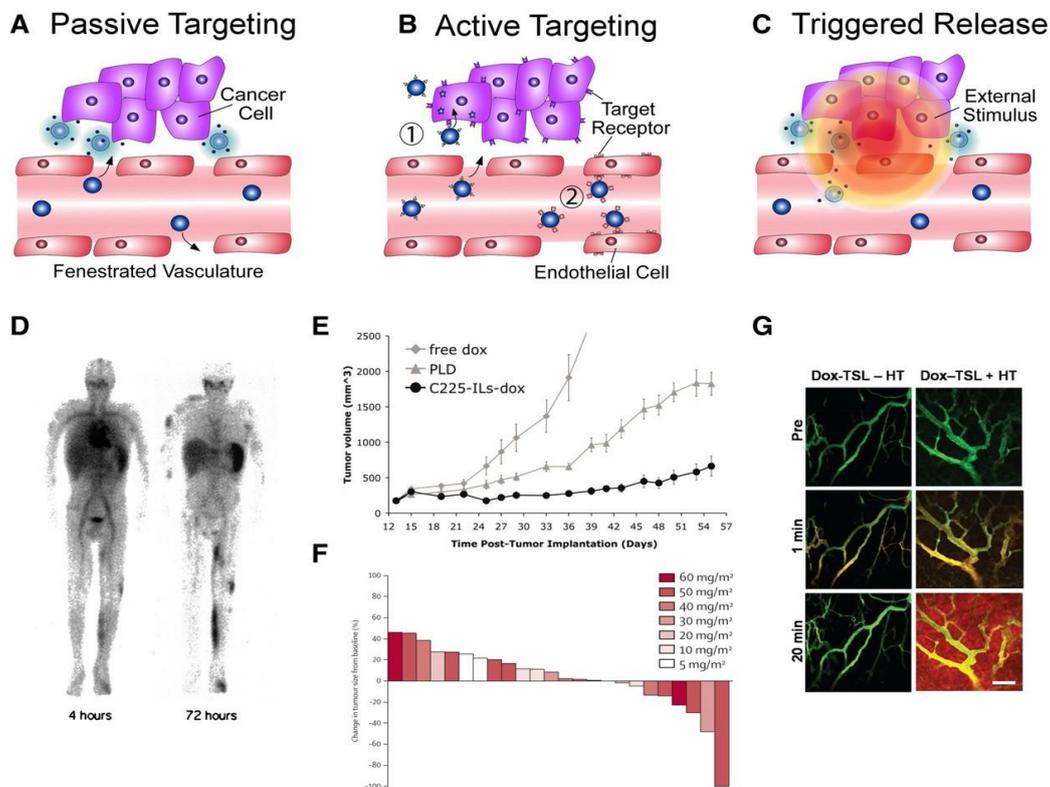
Los estímulos físicos se aplican generalmente externamente para activar la liberación de fármacos. La hipertermia local puede inducir la liberación de fármacos a partir de nanotransportadores termosensibles como *ThermoDox*. Además, la hipertermia aumenta la permeabilidad vascular, facilitando así la entrega de los agentes anticancerígenos profundamente en el tumor. El rango de temperatura para la hipertermia se encuentra entre la temperatura normal, 37 ° C, y un máximo de 42 ° C.<sup>9</sup>

La combinación de nanopartículas cargadas con quimioterapia y terapia con fotohipertermia permite además administrar fármacos anticancerosos y calor a las regiones tumorigénicas, demostrando un claro efecto sinérgico en comparación con la quimioterapia o la hipertermia sola. Así, Park y col. desarrollaron nanopartículas del polímero biodegradable PLGA (ácido poli láctico-co-glicólico) cargadas de doxorubicina y recubiertas de una película de oro. Las nanopartículas multifuncionales fueron endocitadas y acumuladas dentro de las células humanas de cáncer cervical, donde se degradaron liberando la doxorubicina, y el calor se generó con irradiación de infrarrojo cercano (NIR) sobre la capa de oro. La irradiación con NIR, además de producir el tratamiento hipertérmico, generó un suministro fototérmico controlado de doxorubicina que aumentó la velocidad de liberación del fármaco citotóxico. El tratamiento quimioterápico y fototérmico combinado obtenido con estas nanopartículas generó efectos citotóxicos incrementados, disminuyendo los tiempos de tratamiento.<sup>10</sup>

El uso de la luz como estímulo externo es prometedor debido a la simplicidad de la aplicación, al control preciso de la exposición espacial y a la biocompatibilidad. Las fuentes de luz incluyen los rayos ultravioleta o un infrarrojo cercano. Con el aumento de la longitud de onda, la luz penetra más profundamente en el cuerpo. Hay

dispositivos especiales como catéteres de fibra óptica que pueden ayudar a superar la limitación de la absorción de la luz por el tejido superficial.

Además, la resonancia magnética también se ha utilizado para activar la liberación de fármacos (principalmente agentes de contraste) de los sistemas de respuesta para el diagnóstico de cáncer. A este tipo de nanomateriales que sirven para el diagnóstico y tratamiento se los denomina “teragnósticos”. La liberación de agentes de contraste en el sitio del tumor contribuye a la especificidad de una técnica de formación de imágenes. Los campos magnéticos y eléctricos son otros de los posibles estímulos externos. Las nanopartículas inorgánicas y paramagnéticas (como por ejemplo las nanopartículas de óxido de hierro) responden a un campo magnético aplicado. De este modo, el nanotransportador puede ser guiado al tumor con alta especificidad y liberar su carga útil en el lado objetivo mediante un efecto hipertérmico.



**Figura 3.** Ilustración esquemática de estrategias de selección de fármacos (A-C) y ejemplos de terapias de nanomedicina en el cuidado clínico del cáncer (D-G). (A) La extravasación de los nanotransportadores a través de la vasculatura fenestrada conduce a la *passive targeting* del tejido tumoral. (B) El objetivo activo de células cancerosas o endotelio tumoral utilizando nanotransportadores modificados con ligandos. (C) Los nanotransportadores sensibles a los estímulos liberan su carga útil por desencadenantes internos o externos (D-G). Se ilustran tres estrategias de orientación diferentes para los liposomas cargados de doxorubicina. (D) Escintigrafía de un paciente con sarcoma de Kaposi (pierna izquierda, brazo derecho y cara) después del tratamiento con liposomas pegilados radiomarcados. Se muestra la acumulación típica de liposomas de circulación larga como el Doxil en tejido neoplásico con vasculatura fenestrada (E). El objetivo activo de células cancerosas utilizando inmunoliposomas contra EGFR (anti-EGFR-ILs). Efecto terapéutico superior de los ILs anti-EGFR (C225-ILs-dox) en un modelo de xenoinjerto resistente a múltiples fármacos en comparación con la doxorubicina libre (dox libre) o liposomas pegilados (PLD) (F). Cascada que representa el cambio en el tamaño del tumor en pacientes

tratados con anti-EGFR-ILs en un ensayo clínico de fase 1 (G). Liberación intravascular de doxorubicina (rojo) a partir de liposomas termosensibles (TSL), como termodox después de hipertermia leve. La liberación del fármaco se observó usando microscopía confocal intravital. Fuente: *Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications*.

### 3. NANOTRANSPORTADORES DE FÁRMACOS EN EL TRATAMIENTO ONCOLÓGICO.

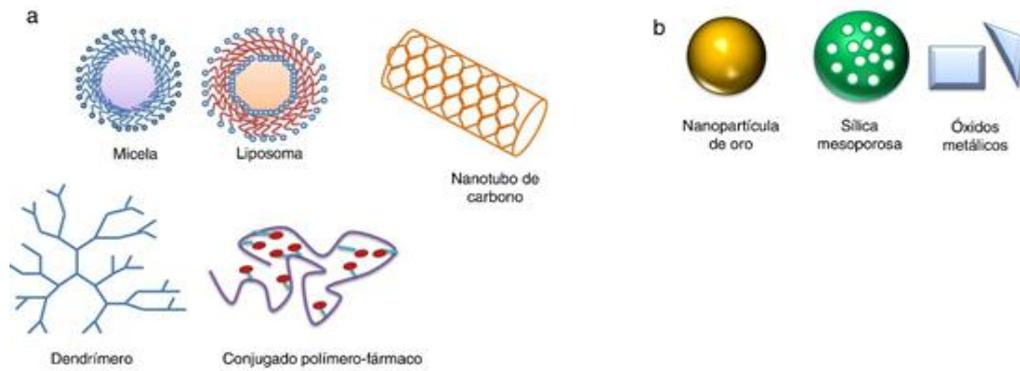
Históricamente, los sistemas de liberación se han desarrollado para modificar la vía de administración en beneficio del paciente, mejorar la biodisponibilidad, cambiar el perfil de liberación o mejorar una formulación para una nueva presentación y línea de venta. En contraste, la nanomedicina propone que los sistemas de liberación se deben desarrollar para identificar el sitio diana, el cual puede ser un órgano, una célula, un compartimento celular (núcleo, citoplasma) o incluso, una organela, dirigirse a él y entregar selectivamente su carga terapéutica. Además, sugiere que la entrega del fármaco deberá ser de manera controlada en respuesta a un estímulo interno (pH, presencia de enzimas o un cambio del potencial redox) o externo (luz, temperatura, campo magnético) y que se podrán transportar simultáneamente varios fármacos y/o biomacromoléculas (péptidos, proteínas y ácidos nucleicos).<sup>11</sup>

Los sistemas más sofisticados, llamados también plataformas multifuncionales de liberación de fármacos, incluirán componentes que permitirán rastrearlo por técnicas de imagen y servirán también para diagnosticar e identificar el estadio de una determinada patología (nanomateriales teragnósticos).<sup>12</sup>

Los materiales y las tecnologías que se han utilizado para la construcción de nanosistemas de liberación de fármacos son muy diversos, pero se pueden clasificar de manera muy general en 2 grandes grupos (Fig.4) aunque en este trabajo añadiremos un tercer grupo de nanopartículas virales como veremos a continuación.<sup>13</sup>

Estos dos grupos son:

- a) **Nanoestructuras orgánicas.** En este grupo se encuentran los materiales poliméricos con los que se construyen nanoesferas, nanocápsulas, micelas, liposomas, dendrímeros, conjugados polímero-fármaco y nanotubos de carbono.
- b) **Nanoestructuras inorgánicas.** Bajo esta clasificación están las nanopartículas de óxidos metálicos y nanopartículas de sílica mesoporosa.



**Figura 4.** Representación de nanoestructuras orgánicas (a) e inorgánicas (b) para el transporte y liberación de fármacos. Fuente: *Nanomedicine and drug delivery systems: the revolution of cancer therapy?*

### 3.1. Nanopartículas virales para la terapia del cáncer

Una forma de construir nanopartículas para la terapia del cáncer es el uso de virus con afinidad por tumores, diseñados para expresar proteínas terapéuticas. Por ejemplo, las características propias de las células cancerígenas, como el bloqueo de las vías apoptóticas, la desregulación de la replicación celular y la evasión inmune favorecen la replicación exitosa del virus de la viruela JX594. Este poxvirus está diseñado para replicarse en células tumorales y destruirlas mediante la activación de la vía de señalización EGFR-Ras-MAPK. Además, JX594 expresa el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) para aumentar potencialmente la respuesta inmunitaria antitumoral. La inyección intratumoral de este virus oncolítico en 10 pacientes con cáncer de hígado primario o metastásico resultó en 3 casos de remisión parcial y 6 casos estabilizó la enfermedad. Los efectos secundarios más frecuentes consistieron en síntomas pseudogripales e hiperbilirrubinemia.<sup>14</sup>

En un segundo ensayo de fase 1, JX594 se inyectó por vía intravenosa en 23 pacientes con tumores sólidos avanzados. El virus se dirigió con éxito al tejido cancerígeno y se observó actividad antitumoral. Inmediatamente, la zona adyacente al epitelio mostró la captación, pero no la replicación del virus. Este estudio fue el primero en mostrar la replicación viral relacionada con la dosis y la respuesta tumoral después de la inyección por vía intravenosa de un virus oncolítico.<sup>15</sup>

El primer ensayo exitoso de fase 3 con virus oncolíticos fue el estudio OPTiM en pacientes con melanoma avanzado (etapa IIIB-IV). Los pacientes fueron asignados al azar al recibir múltiples inyecciones de virus herpes simple (HSV) de tipo 1 y el virus (T-Vec) expresando GM-CSF en el melanoma no metastásico. El objetivo principal del estudio era la respuesta duradera (definida como remisión parcial o completa durante 6 o más meses). El 16,3% de los pacientes inyectados con el virus alcanzaron una respuesta duradera, mientras que los pacientes control sólo la alcanzaron el 2,1%. La celulitis fue la toxicidad de grado 3/4 más frecuente que ocurrió en el 2,1% de los participantes del estudio.<sup>16</sup>

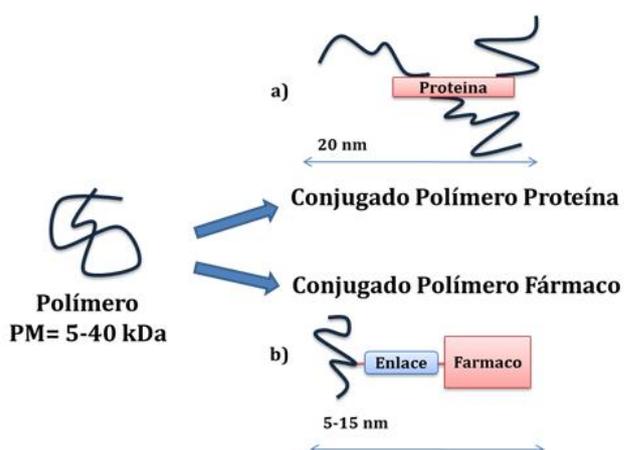
Han sido probados otros virus oncolíticos en ensayos clínicos en los últimos años, pero ninguno de ellos ha llegado al mercado todavía. El principal inconveniente de los virus es la preocupación sobre la bioseguridad y la citocompatibilidad.<sup>17</sup>

### 3.2. Nanotransportadores orgánicos para la terapia del cáncer

Los nanotransportadores orgánicos comprenden una amplia gama de compuestos naturales o sintéticos diseñados para la administración de fármacos. Pueden dividirse en conjugados de fármacos, portadores de lípidos, portadores de proteínas, portadores de glicanos portadores poliméricos sintéticos y nanotubos de carbono, siendo los fármacos conjugados los únicos que a día de hoy tienen aplicación real en clínica.<sup>18</sup>

#### 3.2.1. Fármacos conjugados en nanopolímeros

Dentro de los conjugados poliméricos se distinguen dos grupos: conjugados polímero-proteína y conjugados polímero-fármaco. (Fig 5) Aunque ambos posean una gran similitud, el objetivo perseguido en cada caso es diferente y por tanto también lo son los parámetros a tener en cuenta para su construcción. Mientras que en el conjugado polímero-proteína se busca favorecer una mayor estabilidad en suero y una disminución en inmunogenicidad, en el conjugado polímero-fármaco se quiere incidir en la farmacocinética del mecanismo de internalización celular, mejorando la especificidad celular del fármaco de bajo peso molecular (Pm), su mecanismo de internalización y liberación óptima al alcanzar la diana molecular propuesta.<sup>19</sup>



**Figura 5.** Diferentes tipos de conjugados poliméricos. Se muestran los dos tipos de conjugados poliméricos que se encuentran en estudio clínico: a) Conjugado polímero-proteína, en éste caso el ingrediente activo terapéutico es una proteína, pudiendo ser un enzima o un anticuerpo, b) Conjugado polímero-fármaco, en cuyo caso el ingrediente activo es una molécula terapéutica. Fuente: Nanoterapias oncológicas: aplicaciones actuales y perspectivas futuras.

### 3.2.1.1. Conjugados polímero-proteína

Actualmente los conjugados polímero-proteína son considerados como terapia oncológica de uso rutinario en clínica; el diseño de SMANCS (primer conjugado polímero-proteína que llegó al mercado) y el éxito de la técnica de PEGilación han sido los responsables de este hecho.

SMANCS es un sistema conjugado de estireno-anhídrido maleico y una proteína con actividad tumoral. Este sistema consiguió aumentar considerablemente la lipofilia de la proteína y de este modo su asociación al agente de contraste Lipidol, permitiendo la visualización del tumor a la vez que un aumento de la vida media de la proteína.

Por su parte, la PEGilación o conjugación de proteínas a polietilenglicol, es en la actualidad la estrategia que mejores resultados ofrece con terapia proteica en clínica. Esta técnica se utiliza para aumentar la solubilidad y estabilidad de la proteína, reducir su inmunogenicidad y prolongar su tiempo de vida medio en plasma. Consecuentemente, la frecuencia de dosis con estos agentes terapéuticos macromoleculares es mucho menor que la requerida con proteína libre, mejorando de este modo la calidad de vida del paciente.<sup>20</sup>

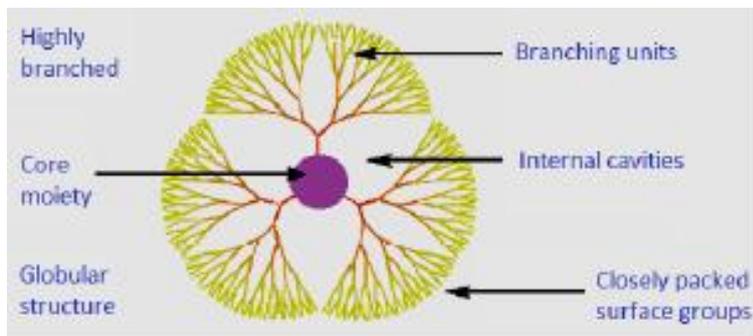
### 3.2.1.2. Conjugados polímero-fármaco

Basan su especificidad en el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos en el tejido tumoral, el llamado efecto EPR. La especificidad (“*targeting*”) tumoral debido al efecto EPR depende de la concentración en plasma del polímero, de este modo, portadores poliméricos no-biodegradables tales como el copolímero HPMA o polietilenglicol (PEG) (con  $P_m < 40.000$  g/mol para asegurar una eliminación renal efectiva), tienen un perfil farmacocinético desfavorecido en términos de una óptima especificidad tumoral.

Por otro lado, la introducción de un ligando (anticuerpo, péptido, proteína, sacárido etc.) para dirigirla estructura del conjugado polimérico nos ofrece la posibilidad de conseguir además de la inherente especificidad pasiva ya descrita, una especificidad tumoral activa adicional.<sup>21</sup>

### 3.2.2. Dendrímeros

Son macromoléculas poliméricas sintéticas tridimensionales altamente ramificadas (10-100 nm) que se sintetizan a partir de un núcleo central mediante reacciones poliméricas consecutivas y controladas que permiten un alto nivel de control sobre su arquitectura, y que permiten ajustar su biocompatibilidad y farmacocinética. (Fig. 6)



**Figura 6.** Representación esquemática de un dendrímero mostrando el núcleo, las ramificaciones y la superficie total. Fuente: *Nanotechnology and its Applications in medicine A. Prattima et al. 2015*

Esta nueva y emergente familia de portadores presenta características prometedoras para su uso en el campo de la oncología, tales como propiedades uniformes (tamaño monodisperso y forma bien definida), biodegradabilidad y biocompatibilidad, buena solubilidad en agua, alta capacidad de carga de fármacos y múltiples grupos funcionales en su superficie que influyen en su toxicidad y permiten la conjugación de múltiples moléculas al mismo tiempo, tales como fármacos anticancerosos y PEG para aumentar la solubilidad en agua y el tiempo de circulación de los fármacos en la sangre.

A pesar de estas características prometedoras, los dendrímeros comparten una característica limitante con la terapia polimérica: la síntesis de múltiples etapas que incrementa los costes de producción. Además, La encapsulación de fármacos anticancerígenos en dendrímeros anfífilos con un núcleo hidrofóbico rodeado de ramas hidrófilas permite sólo la utilización de estos dendrímeros en tratamientos locales (inyecciones intratumorales), porque, aunque solubiliza los fármacos hidrófobos y deja el fármaco inalterado, produce toxicidad y genera una liberación descontrolada del mismo.

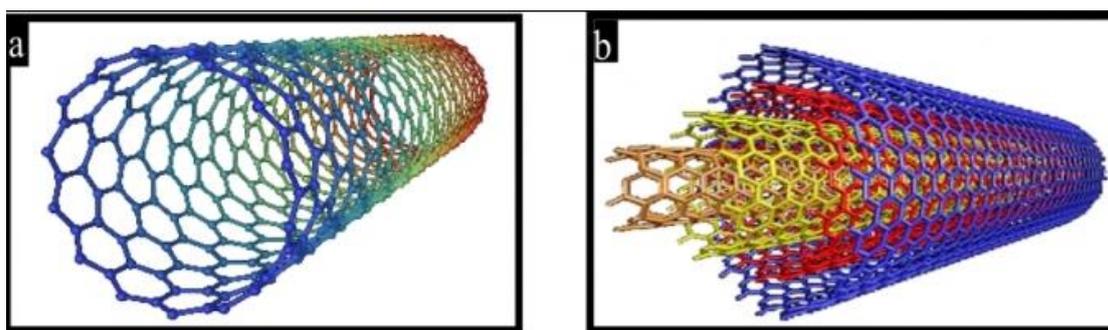
La unión covalente de profármacos anticancerígenos a los grupos superficiales del dendrímero por conjugación química ofrece, además de la solubilización mejorada de los fármacos, algunas ventajas en comparación con la encapsulación no covalente de los fármacos en el dendrímero, como por ejemplo la unión múltiple de diferentes fármacos y la liberación controlada de los fármacos dependiendo de los enlaces utilizados.

Los dendrímeros se han utilizado como nanotransportadores pasivos. Un ejemplo reciente de la fijación pasiva *in vivo* es la conjugación de un dendrímero de poliamidoamina G-3,5 (PAMAM) terminado en carboxilo sódico con cisplatino para el tratamiento de melanomas inducidos por B16F10, logrando una eficacia antitumoral mejorada en comparación con el fármaco libre. Además, existen resultados prometedores *in vitro* e *in vivo* preclínicos con dendrímeros conjugados con anticuerpos.<sup>22</sup>

### 3.2.3. Nanotubos de carbono

La aplicación de nanotubos de carbono como nanotransportadores (CNT) empezó a tenerse en cuenta inmediatamente después de la primera demostración de la capacidad de este material para penetrar en las células.

Estructuralmente, los CNT podrían ser vistos como un tubo compuesto por capas de hojas de grafeno enrollado sobre sí mismo. Dependiendo del número de capas de grafeno, el CNT se clasifica como nanotubo de una sola capa (SWNT) o nanotubo de carbono de paredes múltiples (MWNTs) (Fig. 7). Además, los CNT penetran fácilmente en todo tipo de células.



**Figura 7.** Esquema de nanotubos de carbono de pared simple (a) y de pared múltiple (b). Fuente: *Carbon nanotubes and nanofibers synthesized by CVD on nickel coatings*.

Los CNTs han sido ampliamente estudiados para diferentes aplicaciones biológicas. Se han hecho estudios para profundizar en el conocimiento de su tamaño, forma y estructura, así como sus atractivas propiedades físicas.

Debido a que es un nuevo tipo de nanomaterial, su toxicidad potencial ha sido intensamente investigada *in vitro* e *in vivo*.

Los nanotubos crean problemas de toxicidad que se pueden disminuir disminuyendo su longitud, diámetro y propiedades de superficie. Las modificaciones químicas a su estructura los transforman en portadores solubles en agua, aumentando su biocompatibilidad y disminuyendo su toxicidad.

Diferentes fármacos contra el cáncer pueden ser incluidos en su cavidad interna o en su superficie. Estos nuevos portadores tienen la capacidad de atravesar tejidos y cruzar las membranas plasmáticas entrando en las células cancerosas fundamentalmente por endocitosis.

Además, a la superficie del nanotubo pueden ir ligadas diferentes moléculas diana, lo que hace que el transporte de los agentes citotóxicos sea más específico hacia las células tumorales en comparación con los nanotubos no dirigidos.

No hay aprobaciones de la FDA o ensayos clínicos en proceso hasta la fecha utilizando nanotubos de carbono, aunque los resultados preclínicos *in vitro* e *in vivo* en el

tratamiento del cáncer a través del passive targeting muestran que estas estructuras son prometedoras para el tratamiento del cáncer.

Cabe destacar los estudios realizados por Bhirde et al.<sup>23</sup> donde estos autores utilizan un agente citotóxico (cisplatino) y el factor de crecimiento epidérmico EGF conjugado a la pared lateral de los nanotubos de una sola pared, demostrado una eficacia mejorada en el direccionamiento a células cancerígenas escamosas que sobreexpresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Así consiguen el aumento de la acumulación y la captación de los nanotubos por el tejido tumoral y una eficacia en la reducción del tamaño de un tumor de cabeza y cuello, en comparación con los nanotubos control, no orientados sin moléculas EGF.

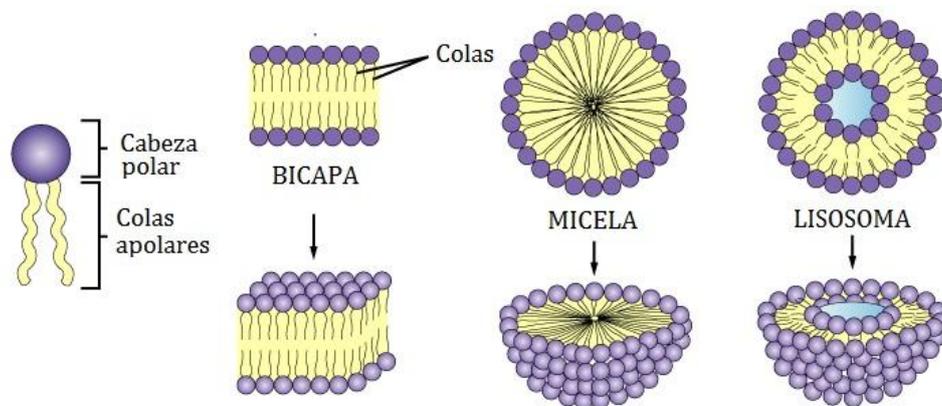
Este trabajo es un ejemplo de multifuncionalización de la pared lateral de los nanotubos de carbono que permiten llevar varios tipos de moléculas con diferentes funciones en el mismo portador, siendo muy útil en el tratamiento del cáncer.

### 3.2.4. Nanotransportadores basados en lípidos

Existen diferentes formas de nanotransportadores basados en lípidos, los más frecuentemente investigados son los liposomas y las micelas.

Los **liposomas** son vesículas artificiales constituidas, en su forma más sencilla, por una bicapa lipídica circundando una cavidad acuosa central. (Fig. 8) Como ventajas principales para utilizarlos como vehículos cabe destacar su carácter inerte, su elevada biocompatibilidad y poseer unos perfiles de toxicidad y antigenicidad aceptables.

Las **micelas** son nanoestructuras originadas a partir del auto-ensamblaje de moléculas anfifílicas, generalmente tensoactivos, proteínas o polímeros sintéticos o naturales. Presentan una estructura tipo reservorio con un núcleo generalmente hidrofóbico en el que comúnmente se deposita al fármaco y una superficie hidrofílica. Se les considera los nanomedicamentos con mayor potencial en clínica a corto plazo debido a su versatilidad y sencillez.



**Figura 8.** Esquema de la organización espacial de las cabezas polares y colas apolares en medio acuoso correspondiente a las diferentes estructuras lipídicas. Fuente: *sitio web lidiaconlaquimica.wordpress.com/page/19/*

Los nanotransportadores lipídicos proporcionan una capacidad de carga de tres a cuatro órdenes de magnitud mayor que los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC), que típicamente comprenden de 1 a 6 moléculas de fármaco por anticuerpo monoclonal. La doxorubicina liposomal pegilada (Doxil® o Caelyx®) fue el primer nanotransportador aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) en 1995. Hoy en día, cinco nanotransportadores lipídicos más están aprobados para uso clínico: doxorubicina liposomal no pegilada (Myocet®), daunorubicina liposomal no pegilada (DaunoXome®), citarabina liposomal no pegilada (DepoCyt®), liposomas de sulfato de vincristina (Marqibo®) y mifamurtida liposomal (Mepact®). Ninguno de los seis nanotransportadores lipídicos aprobados está dirigido. Sin embargo, las nano-formulaciones de doxorubicina, daunorubicina y vincristina prolongan la vida media de los compuestos citotóxicos y mejoran significativamente sus perfiles de toxicidad.<sup>24</sup>

Los nanotransportadores lipídicos y en particular los liposomas pegilados, tienden a acumularse en el tejido tumoral debido a la mayor permeabilidad de los vasos intra y peritumorales. En un reciente ensayo de fase 2, una formulación de un nanotransportador de irinotecan, mostró signos de actividad contra los adenocarcinomas gástricos y la unión gastroesofágica en la segunda línea de fijación.<sup>25</sup>

Otro ejemplo para estudiar la alteración de la farmacocinética y la toxicidad de un nanocompuesto es la doxorubicina. Con la formulación liposomal, la doxorubicina reduce notablemente su cardiotoxicidad. Sin embargo, la doxorubicina liposomal induce más síndrome mano-pie (eritrodisestesia palmar-plantar) que la doxorubicina libre. Aunque ya se sabía que los tiempos de infusión más largos disminuían los efectos secundarios cardíacos de la doxorubicina, es difícil prever *in vitro* el síndrome mano-pie. Esto ilustra la dificultad de predecir los perfiles de toxicidad de nano-aplicaciones de fármacos conocidos. Es necesaria una mejor comprensión de los mecanismos subyacentes de la toxicidad para predecir los efectos secundarios con mayor precisión.<sup>26</sup>

Aunque las formulaciones liposómicas permiten la encapsulación estable de un fármaco, no abordan el problema de la acción dirigida. Para lograrla, los liposomas deben ser modificados en su superficie con un agente que confiera especificidad. Un posible enfoque es la conjugación de anticuerpos, fragmentos de anticuerpos o cadenas de anticuerpos unidos a la superficie liposomal que reconozcan de forma específica proteínas características únicamente de las células cancerosas.<sup>27</sup>

En varios experimentos preclínicos, la superficie de los liposomas se recubrió con anti-HER2, anti-EGFR, anti-VEGFR2 u otros anticuerpos. En modelos de ratones de cáncer humano, estos nanotransportadores fueron capaces de llevar los citotóxicos específicamente a las células que expresan el antígeno diana. La captación celular dependía de la interacción del antígeno diana sobre la superficie celular y el anticuerpo recubriendo la superficie del liposoma. Los tumores tratados con doxorubicina dirigida mediante anti-VEGFR2 redujeron más de 1/6 del tamaño de los tratados con una dosis idéntica de doxorubicina no dirigida.<sup>28</sup>

El primer ensayo clínico con liposomas dirigidos empleó inmunoliposomas (MCC-465) cargados con doxorubicina revestidos con GAH en pacientes con cáncer de estómago metastásico. GAH es un anticuerpo monoclonal humano que reacciona contra el 90% de los cánceres gástricos humanos. GAH-ILs se administró de 3 a 6 ciclos semanales. La toxicidad limitante de la dosis fue la mielosupresión. 10 de los 18 pacientes evaluables tenían enfermedad estable, pero no se observaron remisiones.<sup>29</sup>

Más de 15 nanotransportadores diferentes basados en lípidos están actualmente experimentando ensayos clínicos para el suministro de ácidos nucleicos reguladores con el fin de silenciar oncogenes, como Myc, c-Raf o Bcl-2, o para expresar supresores tumorales, como p53 o Fus1.

Otro enfoque innovador basado en lípidos en pruebas preclínicas es la tecnología de escualenoilación. Determinados medicamentos contra el cáncer, por ejemplo, la doxorubicina, están químicamente ligados al escualeno lipídico natural. Estos conjugados se autoorganizan en el agua con características únicas como la alta carga de fármaco y la circulación sistémica prolongada. Las nanoestructuras de escualeno-doxorubicina mostraron una reducción del 95% de los tumores pancreáticos en los modelos de ratones con xenoinjertos, en comparación con el 29% conseguido con la doxorubicina libre.<sup>30</sup>

### **3.2.5. Polímeros naturales: nanotransportadores basados en proteínas y péptidos**

Sólo un nanotransportador basada en proteínas ha encontrado su camino hasta la clínica: el nab-paclitaxel o Abraxane®; paclitaxel en una nanopartícula de albúmina que se utiliza para la terapia de cáncer de mama, cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de páncreas. Dado que el propio paclitaxel es poco soluble en agua, se disuelve en cremophor, un aceite de ricino polietoxilado. Sin embargo, este disolvente es la razón de las frecuentes reacciones alérgicas al fármaco. Por lo tanto, se están investigando formulaciones alternativas. Mediante la incorporación de paclitaxel en una nanopartícula de albúmina, se mejora la solubilidad del fármaco y se puede evitar el uso de aceite de ricino.<sup>31</sup>

Al mismo tiempo, se altera el perfil farmacocinético del paclitaxel, lo que puede explicar el aumento de los efectos secundarios neurológicos. El nab-paclitaxel no es una nanopartícula *active targeted* en el sentido estricto del término. Sin embargo, la albúmina puede llevar a cabo la transcitosis del compuesto a través del receptor gp60 en el endotelio y, por tanto, mejorar su llegada al tumor. En los ensayos clínicos, nab-paclitaxel mejoró las tasas de respuesta en comparación con paclitaxel convencional en pacientes con cáncer de mama.<sup>32</sup>

Otros nano-portadores basados en péptidos, como nanocomplejos basados en avidina-biotina auto-ensamblados, están siendo evaluados en modelos preclínicos y posiblemente se someterán a ensayos clínicos en el futuro.<sup>33</sup>

### **3.2.6. Nanotransportadores basados en polímeros sintéticos**

Debido a su versatilidad química, los nanotransportadores basados en polímeros sintéticos son una herramienta prometedora para la nanomedicina terapéutica.

Como ejemplo, se ensayó la micela polimérica PEG-PGA NC-6004 (Nanoplatin®) para el suministro de cisplatino en un ensayo de fase 1. En comparación con el fármaco libre, NC-6004 se asoció con menos ototoxicidad y neurotoxicidad, así como náuseas, y la tasa de control de la enfermedad fue mucho mayor.<sup>34</sup>

La primera nanopartícula polimérica dirigida en ensayos clínicos es BIND014. Se compone de nanopartículas de PLGA-PEG encapsuladas con docetaxel dirigidas al antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA). En varios modelos animales, la asociación con BIND-014 ha conseguido administrar hasta 10 veces más docetaxel a los tumores que el docetaxel libre. Como consecuencia del sistema de nanopartículas, aumentó el tiempo de permanencia en la circulación y se consiguió una retención mayor en el tumor. La misma tecnología de plataforma de nanopartículas está en fase preclínica para el suministro de cisplatino.<sup>35</sup>

Se han evaluado otros nanotransportadores poliméricos sintéticos en ensayos de fase 1, incluyendo micelas poliméricas cargadas de epirrubicina y nanopartículas de polibutirilacrilato cargadas con mitoxantrona.<sup>36</sup>

### **3.3. Nanotransportadores inorgánicos para la terapia del cáncer**

Las nanopartículas inorgánicas se utilizan para una variedad de aplicaciones, incluyendo imágenes de tumores, mejora de la radioterapia, o la entrega de fármacos. Las nanopartículas de óxido de hierro se utilizan principalmente para fines diagnósticos y algunas se prueban en estudios clínicos para la resonancia magnética de tumores. NanoTherm® es una dispersión coloidal acuosa de nanopartículas de óxido de hierro. Tras la instilación en el tumor, la ablación térmica se realiza con un aplicador de campo magnético alternativo (hipertermia magnética). Los datos más sólidos son para el glioblastoma. NanoTherm® ha obtenido la aprobación de marketing en varios países europeos. Recientemente, se ha realizado el primer ensayo clínico con nanopartículas de óxido de hafnio.<sup>37</sup>

Ninguna nanopartícula inorgánica para la administración de fármacos ha alcanzado todavía la aprobación de comercialización aunque varias se encuentran en las primeras pruebas clínicas, como por ejemplo el pegilado coloidal de oro para la terapia del cáncer y nanotransportadores de silicio para la entrega de péptidos parenteral.<sup>38</sup>

## 4. MULTIFUNCIONALIDAD /TERANÓSTICO

Más allá de las primeras y segundas generaciones de nanofármacos que confieren una sola funcionalidad, se espera que los nanotransportadores multifuncionales entren pronto en la clínica. Estos tienen la capacidad de llevar a cabo varias funciones, como la acción de medicamentos combinados para terapias combinadas o diagnóstico y terapia simultáneos. Recientemente, se han desarrollado numerosos tipos de nanotransportadores multifuncionales a nivel de prueba de concepto.

La administración simultánea de múltiples fármacos como la doxorubicina y el paclitaxel, junto con el ADN o siRNA, puede ser una estrategia eficaz contra el cáncer. Por ejemplo, nanopartículas poliméricas multifuncionales cargadas con doxorubicina y ADN muestran una supresión más pronunciada del crecimiento tumoral que la acción única de ADN o doxorubicina tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*. En otro estudio, las polimerasas biodegradables co-cargadas con doxorubicina y paclitaxel fueron más eficaces que los fármacos libres. Del mismo modo, los liposomas pegilados multifuncionales son capaces de co-entregar el inhibidor de la glicoproteína P tariquidar y paclitaxel para superar la resistencia a múltiples fármacos en los tumores.

Se han desarrollado terapias avanzadas de nanomedicina multifuncional combinando la administración dirigida con sistemas sensibles a los estímulos. Por ejemplo, se han utilizado micelas poliméricas multifuncionales para cargar fármacos en la parte hidrófoba y se ha usado la parte hidrófila para unir un ligando de direccionamiento (moléculas de diana de receptor de folato en este caso) consiguiendo una captación celular mejorada. Adicionalmente, la liberación del fármaco puede ser modulada por un ligando sensible al pH bajo condiciones *in vivo*. Incluso se han desarrollado sistemas multifuncionales más complejos mediante la combinación de múltiples objetivos y la acción de múltiples quimioterápicos.

En general, los teranósticos proporcionan tanto el diagnóstico como el tratamiento con la misma nanoformulación. Los agentes terapéuticos pueden monitorear la acumulación de nanofármacos en el tejido de destino, visualizar la biodistribución, cuantificar la liberación de fármaco activada y evaluar la eficacia terapéutica. Uno de los aspectos más importantes de la terapéutica es su capacidad para predecir la respuesta en pacientes individuales, allanando así el camino para la medicina personalizada. También pueden ofrecer un medio para hacer frente a la heterogeneidad tumoral, ya que no sólo indican la presencia de un objetivo, sino también su ubicación exacta en el cuerpo. Los conceptos y las estrategias innovadoras de los teranósticos aún no han sido completamente evaluados en ensayos clínicos.<sup>39</sup>

## 5. DESAFÍOS Y LIMITACIONES ACTUALES

La nanomedicina es uno de los enfoques más prometedores y avanzados en el desarrollo del tratamiento fronterizo del cáncer. Miles de publicaciones sugieren que la terapéutica de la nanomedicina es eficaz en el tratamiento del cáncer, tanto *in vitro* como *in vivo*. Sin embargo, muy pocos nanotransportadores de cáncer han entrado con éxito en ensayos clínicos. Por lo tanto, es importante abordar los desafíos en el desarrollo de nanomedicina optimizada para uso clínico.

### 5.1. Caracterización fisicoquímica de nanomateriales

En general, las principales características fisicoquímicas de los nanotransportadores son la estructura, composición, tamaño, propiedades superficiales, porosidad, carga y comportamiento de agregación. La variabilidad dentro de estas propiedades dificulta la caracterización de los nanotransportadores antes y después de la administración. Los métodos analíticos cuantitativos tienen que ser capaces de controlar todos los aspectos de calidad necesarios de los compuestos nanométricos.

La polidispersidad (PD), por ejemplo, es una medida de la heterogeneidad de las partículas con respecto al tamaño, forma o masa. Juega un papel importante en la caracterización de nanotransportadores porque incluso pequeñas variaciones en PD y características físico-químicas pueden causar grandes cambios en propiedades secundarias como la biocompatibilidad, toxicidad y resultados *in vivo*.

La caracterización de la estabilidad y los aspectos de almacenamiento (vida útil) de los nanotransportadores también es un desafío. Los nanomateriales biodegradables, como los polímeros, han sido cada vez más utilizados en el desarrollo de estos nanotransportadores. Después de la degradación del polímero y al alcanzar fluidos biológicos como el suero sanguíneo, los nanotransportadores pueden cambiar de nuevo sus propiedades físico-químicas como el tamaño, la carga del fármaco y el perfil de liberación. Esto puede tener un impacto en su rendimiento *in vivo*. De forma similar, el almacenamiento en disoluciones acuosas que incluyen tampones e incluso en forma de polvo liofilizado puede alterar las propiedades de los nanotransportadores.<sup>40</sup>

### 5.2. Preocupaciones de seguridad

El amplio uso de nanopartículas hace necesario abordar los problemas de toxicidad para la salud humana y el medio ambiente. La dimensión nanométrica de los nanofármacos es similar a la de las organelas intracelulares o biomoléculas involucradas en la señalización celular. Varios estudios han demostrado que las nanopartículas pueden estar asociadas con interacciones biológicas perjudiciales. Esto ha llevado a la aparición de la nanotoxicología como un campo de investigación

independiente. Cada vez hay más datos disponibles sobre la toxicidad de las nanopartículas.

Sin embargo, sigue siendo difícil comparar y extrapolar la toxicidad de los nanomateriales con la de los macromateriales. Los ensayos de toxicidad utilizados actualmente para los nanomateriales son los mismos que los utilizados para los fármacos clásicos, ensayos basados en la dosis-efecto. Por lo tanto, la evaluación de la toxicidad de las nanopartículas puede ser insuficiente en la actualidad. Múltiples factores modulan la toxicidad de los nanomateriales. Las propiedades como el tamaño, la forma, el área superficial, la carga superficial, la porosidad o la hidrofobicidad afectan el comportamiento y el rendimiento de los nanofármacos. Las numerosas variables implicadas dificultan la caracterización toxicológica completa de los nanotransportadores.

Aparte de los problemas médicos, también se han expresado preocupaciones ambientales. La industria biomédica, química y cosmética utiliza cada vez más nanomateriales de origen antropogénicos en la producción a gran escala. Esto hace que la monitorización de la exposición ambiental u ocupacional a las nanopartículas y sus consecuencias sea más difíciles pero también más importantes.<sup>41</sup>

### **5.3. Asuntos reglamentarios**

Como hemos visto, algunos nanofármacos para la terapia del cáncer han sido aprobados por la FDA y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) ya que cumplen con los actuales requisitos de seguridad establecidos por estas agencias. Sin embargo, la FDA, EMA y otros organismos reguladores aún no han implementado controles específicos para los productos farmacéuticos que contienen nanomateriales. El enfoque de la FDA para regular los nanofármacos se ha esbozado en un artículo reciente. En junio de 2014, la FDA publicó una guía para la industria titulada "Considerar si un producto regulado por la FDA implica la aplicación de la nanotecnología.

Aquí, los nanomateriales se definen como materiales de ingeniería con al menos una dimensión entre 1-100 nm. También se incluyen materiales con dimensiones de hasta 1  $\mu\text{m}$  si presentan nanopropiedades, es decir, si se pueden observar efectos cuánticos.

En ausencia de pruebas y orientaciones, las decisiones reglamentarias sobre la terapéutica de la nanomedicina se basan en la evaluación individual de los beneficios y riesgos. Sin embargo, este proceso lleva mucho tiempo. Una regulación eficaz requiere mantener un alto nivel de experiencia en tecnologías innovadoras. Por ejemplo, la FDA colabora con el Laboratorio de Caracterización de Nanotecnología (NCL) para facilitar la revisión regulatoria y la caracterización en profundidad de los nanotransportadores. Como parte del proyecto Horizonte 2020, la Plataforma Tecnológica Europea sobre Nanomedicina (ETPN) tiene la intención de crear un Laboratorio Europeo de Nano-Characterización (EU-NCL).

Las cuestiones normativas no sólo son relevantes para los ensayos clínicos y el proceso de aprobación, sino también para el desarrollo de tecnologías punta para caracterizar los nanotransportadores y supervisar su calidad.

En conclusión, la aprobación reglamentaria de la terapia oncológica basada en nanotransportadores sigue siendo un reto; además, se prevé que la aparición de nanotransportadores desarrollados con herramientas más avanzadas y multifuncionales incremente la complejidad del proceso de aprobación. Será por tanto fundamental para las agencias reguladoras refinar y estandarizar los requisitos para la aprobación de los NT proporcionando a los pacientes un acceso oportuno a tratamientos innovadores.<sup>42</sup>

#### **5.4. Problemas de fabricación**

La fabricación de nanofármacos para la comercialización es técnicamente difícil y la fabricación conforme a buenas prácticas de fabricación (GMP) es un obstáculo importante. Por lo general, los estudios clínicos tempranos se han llevado a cabo con una pequeña cantidad de nanomateriales. En la producción a gran escala, pueden ocurrir variaciones discontinuas de propiedades físicas y químicas debido a la polidispersidad del nanomaterial. Por lo tanto, la fabricación de terapias contra el cáncer a base de nanopartículas a nivel industrial requiere un estricto control de las propiedades fisicoquímicas. Esto hace que el proceso de química, fabricación y control (CMC) sea más exigente. Un ejemplo de los desafíos encontrados en la producción de nanoterapias es la escasez de Doxil<sup>®</sup>. La producción de Doxil<sup>®</sup> tuvo que suspenderse en noviembre de 2011 debido a problemas de fabricación y esterilidad. La escasez subsiguiente de Doxil<sup>®</sup> duró hasta 2014 y resultó en terapias tardías para los pacientes, aumento de los costos de medicamentos y la adopción de un enfoque de fabricación alternativo para Doxil<sup>®</sup>.<sup>43</sup>

## **6. RETOS DE LA NANOMEDICINA**

El nuevo reto de la nanotecnología ofrece nuevas formas de crear mejores herramientas de diagnóstico y tratamiento para la detección no invasiva de diferentes enfermedades.

El diagnóstico preciso y precoz, clave de la práctica de la medicina, facilita la intervención clínica oportuna y puede mitigar el riesgo del paciente y la progresión de la enfermedad.

De hecho, la esperanza de administrar una terapia segura y eficaz que es específica de la lesión y con pocos efectos secundarios, requiere la integración de la nanotecnología con la biología molecular y del resto de ciencias médicas.

Es necesario que los expertos de diferentes disciplinas comiencen a trabajar juntos. Esto se traduce en una visión más innovadora del laboratorio para la caracterización y el diseño, y así convertir los nanotransportadores en productos médicos comercialmente viables. Una solución práctica para superar estas barreras provendrá del aprovechamiento de las estrategias y la experiencia de múltiples fuentes con metas comunes.

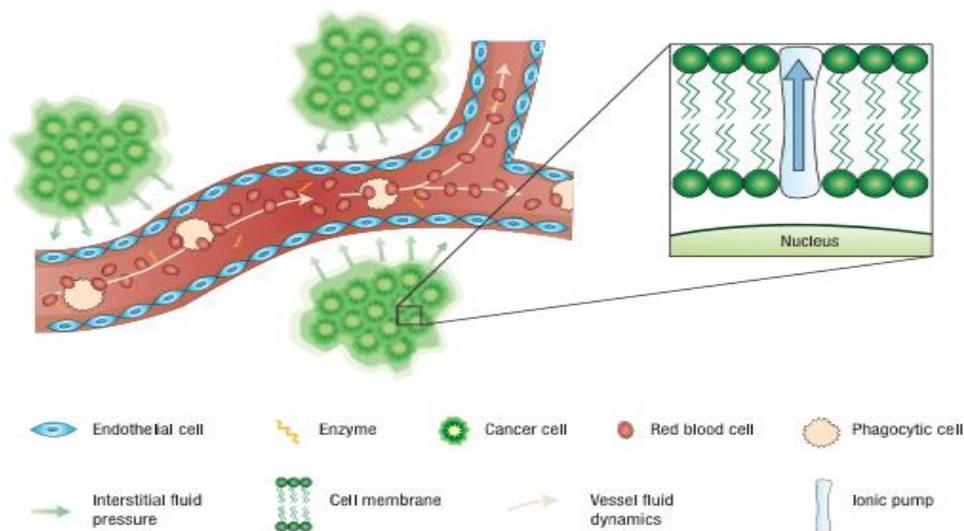
Específicamente, los nuevos métodos cuantitativos deben ser desarrollados y definidos a través del avance continuo de nuestro conocimiento científico y la comprensión de la seguridad y la eficacia cuando se aplica a los dispositivos médicos y terapias. La FDA reconoce la necesidad de herramientas de predicción y evaluación y su potencial para proporcionar a los profesionales de la salud la información que necesitan para evaluar apropiadamente los riesgos y beneficios de los productos médicos.<sup>44</sup>

### **6.1. Las siete prioridades**

Con la visión de crear un "camino crítico" más eficiente y transparente para el desarrollo de nanoproductos, la FDA y la "*AllianceforNanoHealth*" (ANH) convocaron un taller sobre ciencia reguladora nanomédica en Houston para identificar los principales obstáculos científicos para usar los nanoproductos con los pacientes, específicamente en las fases preclínica, clínica y de fabricación del desarrollo de productos.

El resultado de dicho taller fue la identificación de siete áreas prioritarias:

- Determinación de la distribución de los nanotransportadores en el cuerpo después de la administración sistémica por cualquier vía.
- Desarrollo de modalidades de imagen para visualizar la biodistribución a lo largo del tiempo. La única técnica en este momento que puede dar información del balance de masa cuantitativa es el etiquetado radioeléctrico, que implica la conjugación química de emisores a nanopartículas. De esta manera seríamos capaces de contabilizar la dosis completa administrada y su destino para garantizar la seguridad.
- Comprensión completa de la ciencia básica del transporte de nanopartículas. La biodistribución de los agentes administrados es una función de su afinidad biológica. El problema se agrava aún más por las barreras de diferente naturaleza: degradación enzimática, captación por células fagocíticas de barrido, flujo anormal de sangre y presión hidrostática en los sitios de destino y bombas de eflujo molecular e iónico que expulsan los fármacos de las células diana. (Fig. 9)

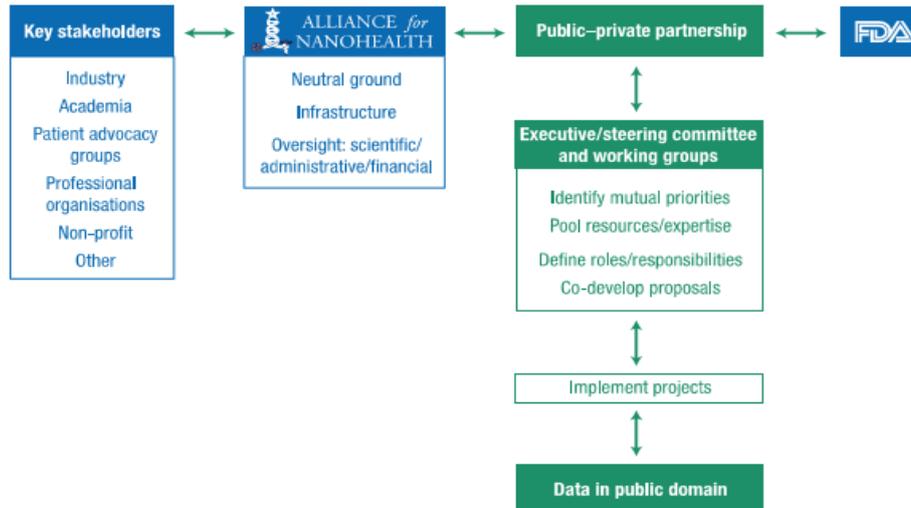


**Figura 9.** Los sistemas de defensa del cuerpo. Existen obstáculos, que son las barreras biológicas, las cuales evitan en gran medida que los productos químicos inyectados, las biomoléculas, las nanopartículas y cualquier otro agente externo de acción terapéutica alcancen sus destinos previstos. Estas barreras incluyen: el sistema retículo endotelial, membranas epitelial y endotelial, redes complejas de vasos sanguíneos, flujo anormal o gradientes de presión sanguínea e intersticial. Fuente: *Understanding and overcoming major barriers in cancer nanomedicine*.

- La cuarta y quinta giran en torno al desarrollo de nuevos modelos matemáticos e informáticos que contribuyan a una "tabla periódica de nanopartículas" para predecir los parámetros de riesgo y beneficio.
- Establecimiento de estándares o materiales de referencia y protocolos de prueba de consenso que pueden proporcionar puntos de referencia para el desarrollo de nuevas clases de materiales.
- Realización de un conjunto de herramientas analíticas para la fabricación de nanopartículas, acompañado de una hoja de especificaciones de propiedades toxicológicas, de seguridad y biodistribución obtenidas a través de métodos estandarizados y validados.<sup>45</sup>

## 6.2. Aprovechar los recursos

Los miembros de la FDA y la ANH están evaluando los méritos de desarrollar un marco de colaboración para facilitar programas científicos conjuntos en nanomedicina. (Fig. 10) Si se desarrolla, esta alianza público-privada única involucrará a muchas partes interesadas, compartiendo los resultados y reduciendo los costes en este dominio precompetitivo, que debe conducir a beneficios para todos - esforzándose por ser un servicio con todos los demás.<sup>46</sup>



**Figura 10.** Representación de la propuesta de patrimonio público-privado entre la FDA y la ANH. Se prevé que las actividades conducidas bajo el patrimonio público-privado serán gestionadas y guiadas por el comité ejecutivo junto con varios comités directivos y grupos de trabajo que pueden ser específicos de un proyecto y que serán de dominio público. Fuente: *Cancer nanomedicine: from targeted delivery to combination therapy*.

## 7. EL FUTURO DE LA NANOMEDICINA

- Diseño y desarrollo de nanopartículas multifuncionales para la imagen y la terapia del cáncer (nanopartículas teranósticas).
- Uso de nanopartículas multiplexadas en diagnósticos *in vitro* o *ex vitro* (como muestras de tejido y células tumorales circulantes) para estudiar el comportamiento del cáncer, el resultado clínico, la respuesta al tratamiento y la terapia individualizada.
- Diseño y desarrollo de nanopartículas biocompatibles para superar la captación de órganos inespecíficos y la depuración del RES.
- Penetración de nanopartículas terapéuticas en tumores sólidos más allá de las primeras capas de células endoteliales vasculares.
- Liberación de cargas útiles de fármacos dentro de las células u órganos diana. Esta tarea probablemente requerirá el desarrollo de portadores de nanopartículas biodegradables que sean sensibles al pH, la temperatura o a las reacciones enzimáticas.
- Estudios de nanotecnología incluyendo distribución de nanopartículas, excreción, metabolismo, farmacocinética y farmacodinámica en modelos animales *in vivo*.
- Normalización y manufacturabilidad. Para uso futuro en pacientes humanos, las nanopartículas deben ser estandarizadas y deben ser fabricadas de acuerdo con los requerimientos de la FDA de los Estados Unidos.<sup>47</sup>

## 8. CONCLUSIONES

Aunque la quimioterapia convencional ha sido la piedra angular en la lucha contra el cáncer, está lejos de ser totalmente satisfactoria debido a problemas relacionados con su formulación y farmacocinética, la resistencia adquirida a algunos agentes citotóxicos y, en general, su toxicidad y acción indiscriminada que hacen necesario una terapia más selectiva. Esta selectividad se está logrando con el desarrollo de quimioterápicos dirigidos específicamente a las vías de transducción biológicas implicadas en el crecimiento y la diferenciación de tumores.

En la administración convencional de fármacos de moléculas pequeñas por vía oral o intravenosa, se distribuyen indiscriminadamente por todo el cuerpo, con concentraciones arbitrarias que alcanzan tanto el sitio de la enfermedad como el tejido sano. Los agentes quimioterapéuticos en general causan efectos adversos no deseados sobre el tejido sano y requieren un compromiso entre el tratamiento opcional de la enfermedad y la calidad de vida del paciente.

Los sistemas de administración de fármacos basados en nanopartículas ofrecen oportunidades revolucionarias para desarrollar agentes terapéuticos dirigidos eficazmente con vida media de circulación, biodisponibilidad, biodistribución, farmacocinética y perfiles de seguridad mejorados. Además, las nanopartículas son indispensables para mantener relaciones sinérgicas de fármacos en terapia combinada y ofrecen la primera posibilidad de administrar agentes terapéuticos como ácidos nucleicos y proteínas.

Hay mucho que aprender en el campo de la nanomedicina. Todavía tenemos que desarrollar un nano-dispensador que pueda entregar efectivamente una carga útil intratumoral con resultados clínicamente validados. Extendiendo el tiempo en la circulación más cerca de la escala de tiempo de los glóbulos rojos y la retención de partículas en toda la extensión de la enfermedad en lugar de en los órganos retículo endoteliales siguen siendo desafíos importantes.

Además de las complicaciones en el diseño experimental de las nanopartículas, existen múltiples desafíos en la fabricación, regulación y aprobación de nanopartículas para su uso clínico. Como retos para conseguir nuevas formulaciones en el mercado existe por una parte, las directrices del control de calidad (como las buenas prácticas de laboratorio y de fabricación), así como pasar las tres fases de los ensayos nuevos de fármacos de la FDA. Además, las disputas sobre patentes se están volviendo más comunes a medida que más empresas adquieren amplios derechos de patente sobre una amplia gama de composiciones.

En el área del cáncer, el campo de la nanomedicina ha comenzado a experimentar el éxito en aplicaciones clínicas y sigue en ello para alcanzar su máximo potencial. Hay una evidencia de que la encapsulación efectiva de fármacos de moléculas pequeñas, ácidos nucleicos u otros compuestos pueden ser capaces de mediar en la gestión integral del cáncer o incluso conseguir una cura potencial.

Las posibilidades modulares virtualmente ilimitadas para diferentes ligandos, materiales y nanoformulaciones terapéuticas, junto con eficiencias de tratamiento mejoradas, nos permiten considerar a las nanopartículas no sólo como vehículos de suministro de fármacos, sino como una clase enteramente nueva de agente terapéutico. La amplia gama de enfermedades que las nanopartículas son capaces de tratar, la considerable cantidad de investigaciones importantes aún por realizar y el potencial para comercializar nuevas formulaciones son, sin duda, importantes para la investigación. La era de la nanomedicina está a punto de madurar en las próximas décadas, incorporando elementos de la medicina personalizada, que afectará el mundo terapéutico de una manera permanente.

En esta área de la nanomedicina del cáncer, es necesaria la cooperación de todas las partes implicadas para permitir a los pacientes un acceso rápido a opciones de tratamiento innovadoras, seguras y eficaces.

En definitiva, la nanomedicina representa una de las áreas de investigación de más rápido crecimiento y es considerado como una de las herramientas más prometedoras para el tratamiento del cáncer.<sup>48</sup>

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pérez-Herrero, E. and Fernández-Medarde, A. (2015). Advanced targeted therapies in cancer: *Drug nanocarriers, the future of chemotherapy*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 93, p.52.
2. Wicki, A., Witzigmann, D., Balasubramanian, V. and Huwyler, J. (2015). *Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications*. *Journal of Controlled Release*, 200, p.139.
3. Xu, X., Ho, W., Zhang, X., Bertrand, N. and Farokhzad, O. (2015). *Cancer nanomedicine: from targeted delivery to combination therapy*. *Trends in Molecular Medicine*, 21(4), pp.223-224.
4. Pérez-Herrero, E. and Fernández-Medarde, A. (2015). *Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 93, pp.54-55.
5. Wicki, A., Witzigmann, D., Balasubramanian, V. and Huwyler, J. (2015). *Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications*. *Journal of Controlled Release*, 200, pp.139-143.
6. Pérez-Herrero, E. and Fernández-Medarde, A. (2015). *Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 93, pp.61-63.
7. A.R. Maity, D. Stepensky. *Delivery of drugs to intracellular organelles using drug delivery systems: Analysis of research trends and targeting efficiencies*. *International Journal of Pharmaceutics*, 496 (2015), pp. 268-274
8. S. Mura, J. Nicolas, P. Couvreur. *Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery*. *Nature Materials*, 12 (2013), pp. 991-1003
9. V.P. Torchilin. *Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery*, *Nature Reviews. Drug Discovery*, 13 (2014), pp. 813-827.
10. B.-H. Park, T. Hwang, T.-C. Liu, D.Y. Sze, J.-S. Kim, H.-C. Kwon, et al., Use of a targeted oncolytic poxvirus, JX-594, in patients with refractory primary or metastatic liver cancer: a phase I trial, *Lancet Oncol.* 9 (2008) 533–542.
11. C.J. Breitbach, J. Burke, D. Jonker, J. Stephenson, A.R. Haas, L.Q.M. Chow, et al., *Intravenous delivery of a multi-mechanistic cancer-targeted oncolytic poxvirus in humans*, *Nature* 477 (2011) 99–102.

12. R.H.I. Andtbacka, F.A. Collichio, T. Amatruda, N.N. Senzer, J. Chesney, K.A. Delman, et al., *OPTiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec (T-VEC) versus subcutaneous (SC) granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) for the treatment (tx) of unresected stage IIIB/C and IV melanoma*, *J. Clin. Oncol.* 31 (2013).
13. M. Westphal, S. Ylä-Herttuala, J. Martin, P. Warnke, P. Menei, D. Eckland, et al., *Adenovirus-mediated gene therapy with sitimagene ceradenovec followed by intravenous ganciclovir for patients with operable high-grade glioma (ASPECT): a randomised, open-label, phase 3 trial*, *Lancet Oncol.* 14 (2013) 823–833.
14. B.-H. Park, T. Hwang, T.-C. Liu, D.Y. Sze, J.-S. Kim, H.-C. Kwon, et al., *Use of a targeted oncolytic poxvirus, JX-594, in patients with refractory primary or metastatic liver cancer: a phase I trial*, *Lancet Oncol.* 9 (2008) 533–542.
15. C.J. Breitbach, J. Burke, D. Jonker, J. Stephenson, A.R. Haas, L.Q.M. Chow, et al., *Intravenous delivery of a multi-mechanistic cancer-targeted oncolytic poxvirus in humans*, *Nature* 477 (2011) 99–102.
16. R.H.I. Andtbacka, F.A. Collichio, T. Amatruda, N.N. Senzer, J. Chesney, K.A. Delman, et al., *OPTiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec (T-VEC) versus subcutaneous (SC) granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) for the treatment (tx) of unresected stage IIIB/C and IV melanoma*, *J. Clin. Oncol.* 31 (2013)
17. M. Westphal, S. Ylä-Herttuala, J. Martin, P. Warnke, P. Menei, D. Eckland, et al., *Adenovirus-mediated gene therapy with sitimagene ceradenovec followed by intravenous ganciclovir for patients with operable high-grade glioma (ASPECT): a randomised, open-label, phase 3 trial*, *Lancet Oncol.* 14 (2013) 823–833.
18. R. Duncan, *Polymer conjugates as anticancer nanomedicines*, *Nat. Rev. Cancer* 6 (2006) 688–701.
19. A. Hawe, W.L. Hulse, W. Jiskoot, R.T. Forbes, *Taylor dispersion analysis compared to dynamic light scattering for the size analysis of therapeutic peptides and proteins and their aggregates*, *Pharm. Res.* 28 (2011) 2302–2310.
20. S. Verma, D. Miles, L. Gianni, I.E. Krop, M. Welslau, J. Baselga, et al., *Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer*, *N. Engl. J. Med.* 367 (2012) 1783–1791.
21. A. Younes, N.L. Bartlett, J.P. Leonard, D.A. Kennedy, C.M. Lynch, E.L. Sievers, et al., *Brentuximab vedotin (SGN-35) for relapsed CD30-positive lymphomas*, *N. Engl. J. Med.* 363 (2010) 1812–1821.

22. H.A. Burris, H.S. Rugo, S.J. Vukelja, C.L. Vogel, R.A. Borson, S. Limentani, et al., *Phase II study of the antibody drug conjugate trastuzumab-DM1 for the treatment of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive breast cancer after prior HER2-directed therapy*, *J. Clin. Oncol.* 29 (2011) 398–405.
23. P. Rivera Gil, D. Hühn, L.L. del Mercato, D. Sasse, W.J. Parak, *Nanopharmacy: inorganic nanoscale devices as vectors and active compounds*, *Pharmacol. Res.* 62 (2010) 115–125.
24. J.-Y. Fang, S.A. Al-Suwayeh, *Nanoparticles as delivery carriers for anticancer prodrugs*, *Expert Opin. Drug Deliv.* 9 (2012) 657–669.
25. Y. Barenholz, *Doxil®—the first FDA-approved nano-drug: lessons learned*, *J. Control. Release* 160 (2012) 117–134.
26. M. Harrison, D. Tomlinson, S. Stewart, *Liposomal-entrapped doxorubicin: an active agent in AIDS-related Kaposi's sarcoma*, *J. Clin. Oncol.* 13 (1995) 914
27. S. Chan, N. Davidson, E. Juozaityte, F. Erdkamp, A. Pluzanska, N. Azarnia, et al., *Phase III trial of liposomal doxorubicin and cyclophosphamide compared with epirubicin and cyclophosphamide as first-line therapy for metastatic breast cancer*, *Ann. Oncol.* 15 (2004) 1527–1534.
28. P.S. Gill, J. Wernz, D.T. Scadden, P. Cohen, G.M. Mukwaya, J.H. von Roenn, et al., *Randomized phase III trial of liposomal daunorubicin versus doxorubicin, bleomycin, and vincristine in AIDS-related Kaposi's sarcoma*, *J. Clin. Oncol.* 14 (1996) 2353–2364.
29. N. Gökbüget, C.-M. Hartog, R. Bassan, H.-G. Derigs, H. Dombret, R. Greil, et al., *Liposomal cytarabine is effective and tolerable in the treatment of central nervous system relapse of acute lymphoblastic leukemia and very aggressive lymphoma*, *Haematologica* 96 (2011) 238–244.
30. D. Predescu, S.M. Vogel, A.B. Malik, *Functional and morphological studies of protein transcytosis in continuous endothelia*, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 287 (2004) L895–L901.
31. W.J. Gradishar, S. Tjulandin, N. Davidson, H. Shaw, N. Desai, P. Bhar, et al., *Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer*, *J. Clin. Oncol.* 23 (2005) 7794–7803.

32. D.D.V. Hoff, T.J. Ervin, F.P. Arena, E.G. Chiorean, J.R. Infante, M.J. Moore, et al., *Results of a randomized phase III trial (MPACT) of weekly nab-paclitaxel plus gemcitabine versus gemcitabine alone for patients with metastatic adenocarcinoma of the pancreas with PET and CA19-9 correlates*, *J. Clin. Oncol.* 31 (2013)
33. G.J. Weiss, J. Chao, J.D. Neidhart, R.K. Ramanathan, D. Bassett, J.A. Neidhart, et al., *First-in-human phase 1/2a trial of CRLX101, a cyclodextrin-containing polymeric camptothecin nanopharmaceutical in patients with advanced solid tumor malignancies*, *Invest. New Drugs* 31 (2013) 986–1000.
34. M.E. Davis, *The first targeted delivery of siRNA in humans via a self-assembling, cyclodextrin polymer-based nanoparticle: from concept to clinic*, *Mol. Pharm.* 6 (2009) 659–668.
35. N. Kamaly, Z. Xiao, P.M. Valencia, A.F. Radovic-Moreno, O.C. Farokhzad, *Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development and clinical translation*, *Chem. Soc. Rev.* 41 (2012) 2971–3010.
36. R. Plummer, R.H. Wilson, H. Calvert, A.V. Boddy, M. Griffin, J. Sludden, et al., *A Phase I clinical study of cisplatin-incorporated polymeric micelles (NC-6004) in patients with solid tumours*, *Br. J. Cancer* 104 (2011) 593–598.
37. K.J. Morrow Jr, R. Bawa, C. Wei, *Recent advances in basic and clinical nanomedicine*, *Med. Clin. North Am.* 91 (2007) 805–843.
38. L. Maggiorella, G. Barouch, C. Devaux, A. Pottier, E. Deutsch, J. Bourhis, et al., *Nanoscale radiotherapy with hafnium oxide nanoparticles*, *Future Oncol.* 8 (2012) 1167–1181.
39. K. Bae, H. Chung, T. Park, *Nanomaterials for cancer therapy and imaging*, *Mol. Cells* 31 (2011) 295–302.
40. J.-H. Lee, K. Lee, S.H. Moon, Y. Lee, T.G. Park, J. Cheon, *All-in-one target-cell specific magnetic nanoparticles for simultaneous molecular imaging and siRNA delivery*, *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 4174–4179.
41. K.H. Bae, K. Lee, C. Kim, T.G. Park, *Surface functionalized hollow manganese oxide nanoparticles for cancer targeted siRNA delivery and magnetic resonance imaging*, *Biomaterials* 32 (2011) 176–184.
42. L.E. van Vlerken, M.M. Amiji, *Multi-functional polymeric nanoparticles for tumour-targeted drug delivery*, *Expert Opin. Drug Deliv.* 3 (2006) 205–216.
43. C. Riggio, E. Pagni, V. Raffa, A. Cuschieri, *Nano-oncology: clinical application for cancer therapy and future perspectives*, *J. Nanomater.* (2011). Article ID 164506.

44. X. Wang, Y. Wang, Z.G. Chen, D.M. Shin, *Advances of cancer therapy by nanotechnology*, *Cancer Res. Treat.* 41 (2009) 1–11.
45. M.K. Yu, J. Park, S. Jon, *Targeting strategies for multifunctional nanoparticles in cancer imaging and therapy*, *Theranostics* 2 (2012) 3–44.
46. Y.B. Patil, S.K. Swaminathan, T. Sadhukha, L. Ma, J. Panyam, *The use of nanoparticle-mediated targeted gene silencing and drug delivery to overcome tumor drug resistance*, *Biomaterials* 31 (2010) 358–365.
47. Wicki, A., Witzigmann, D., Balasubramanian, V. and Huwyler, J. (2015). *Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications*. *Journal of Controlled Release*, 200, pp.160-161.
48. Nie, S. (2010). *Understanding and overcoming major barriers in cancer nanomedicine*. *Nanomedicine*, 5(4), p.536.