



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: SISTEMAS DE LIBERACIÓN
MODIFICADA DE GLUCORTICOIDES EN EL
TRATAMIENTO DEL CÁNCER

Autor: Marta Pérez Rodríguez

Fecha: Febrero 2020

Tutor: Cristina Martín Sabroso

ÍNDICE

Resumen.....	2
1. Introducción.....	2
1.1. Papel de los glucocorticoides en el tratamiento del cáncer.....	3
1.2. Sistemas de liberación controlada.....	5
2. Objetivos.....	6
3. Materiales y métodos.....	6
4. Resultados y discusión.....	6
4.1. Liposomas.....	7
4.1.1. Liposomas pegilados de dexametasona.....	7
4.1.2. liposomas de dexametasona y docetaxel.....	11
4.2. Micelas poliméricas.....	13
4.2.1. Micelas poliméricas de dexametasona.....	13
4.3. Micropartículas.....	15
4.3.1. Micropartículas lipídicas.....	15
5. Conclusión.....	17
6. Bibliografía.....	18

RESUMEN

Los glucocorticoides son fármacos utilizados junto a otros antineoplásicos como quimioterapia en algunos tipos de cáncer. Estos juegan un papel importante gracias a su capacidad de detener el ciclo celular y producir la apoptosis de células cancerígenas. Además, actúan inhibiendo la angiogénesis, necesaria para el crecimiento del tumor. La administración sistémica de altas dosis de glucocorticoides conlleva la aparición de efectos adversos graves y de resistencias a dichos fármacos, produciendo una disminución en la eficacia terapéutica.

Por ello, en los últimos años se están investigando sistemas de liberación controlada, que aporten ventajas frente a las formulaciones de liberación convencional. Con estos sistemas se lograría dirigir el fármaco al tejido o células cancerígenas, disminuyendo los niveles de glucocorticoides fuera del tejido diana. De esta manera, se reducen los efectos adversos y se mejora el efecto terapéutico, ya que se aseguran niveles eficaces de fármaco en el lugar de acción, a la vez que se mejora en muchas ocasiones, los regímenes posológicos (ampliando intervalos de dosificación) y evitándose las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas.

En la actualidad, se están realizando estudios preclínicos para la administración glucocorticoides cargados en sistemas de liberación controlada ofreciendo buenos resultados para su uso en el tratamiento contra el cáncer.

1 INTRODUCCIÓN

Los glucocorticoides son un tipo de hormonas esteroideas que tienen actividad inmunosupresora y antiinflamatoria potente. Se han desarrollado numerosos glucocorticoides sintéticos para el uso en el tratamiento de trastornos inflamatorios, inmunitarios, hematológicos y cáncer, entre otros tipos.

La mayor parte de los efectos de los glucocorticoides es mediada por sus receptores que se encuentran en casi todas las células del organismo. Los receptores de glucocorticoides pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares. En ausencia del ligando (glucocorticoide), los receptores se encuentran en el citoplasma de las células formando un complejo con las proteínas de choque térmico (Hsp). Los glucocorticoides libres plasmáticos entran en las células y se unen a los receptores induciendo cambios conformacionales que permiten que las proteínas de choque térmico se disocien. El complejo ligando-receptor se transporta al núcleo, donde se une a los elementos de respuesta de glucocorticoides (GRE), en los promotores de genes de respuesta. La mayor parte de las acciones metabólicas de los glucocorticoides, y por consiguiente sus efectos secundarios se basan en este mecanismo [1].

Además de la unión a GRE, el receptor unido al glucocorticoide, también forma complejos con otros factores de transcripción e influye en su funcionamiento. Esos factores de transcripción tienen acciones muy amplias sobre la regulación de factores de crecimiento, citoquinas proinflamatorias etc, por lo que median los efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores de los glucocorticoides principalmente [1].

A parte de las acciones genómicas, existen acciones no genómicas que se desarrollan de manera más rápida y no se pueden explicar con base en la transcripción génica y síntesis de proteínas. Se creen que estos efectos se producen por la interacción del ligando con el receptor de glucocorticoides de la membrana o del citoplasma, sin que este se transloque al núcleo [4]. Estas incluyen la disminución de la síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y factor activador de plaquetas, que son consecuencia de la activación por la fosfolipasa A2 [3]. También, los glucocorticoides disminuyen la excreción de la ciclooxigenasa 2 (COX2), forma inducible de esa enzima en las células inflamatorias, que hace que se disminuya la cantidad de enzima para producir prostaglandinas [1]. Estas acciones producen un efecto antiinflamatorio muy potente [2,3].

Los glucocorticoides tienen amplios efectos porque influyen en la función de casi todas las células del organismo. Los efectos más importantes los ejercen sobre el metabolismo de las macromoléculas (carbohidratos, lípidos y proteínas), que están relacionados con la dosis. Además, tienen efectos catabólicos y antianabólicos en los tejidos linfoides y conjuntivo, músculo, grasa periférica y la piel. Por ello, las cantidades suprafisiológicas de glucocorticoides causan una disminución de la masa muscular, así como la debilidad y adelgazamiento de la piel. Los efectos catabólicos en el hueso causan osteoporosis y en niños disminuyen el crecimiento [1].

Los glucocorticoides disminuyen las manifestaciones de la inflamación, lo que se debe a los efectos que tienen sobre la concentración, distribución y función de los leucocitos periféricos y a los efectos de supresión de citoquinas y quimiocinas inflamatorias y a los ejercidos sobre los mediadores de la inflamación. También inhiben la función de los macrófagos histológicos y otras células presentadoras de antígenos. Disminuyen la capacidad de esas células de responder a los antígenos y a los mitógenos. Además, limita la producción de factor α de necrosis tumoral (TF α), IL-1, metaloproteínas y el activador de plasminógeno [1].

1.1. Papel de los glucocorticoides en el tratamiento del cáncer

Se denomina cáncer a un conjunto de enfermedades que se caracterizan por la división descontrolada de células anormales. Estas células se dividen, crecen y se diseminan sin control formando masas llamadas tumor. Según el tejido donde se origina, hay distintos tipos de cáncer:

- Carcinoma. Representan más del 80% de la totalidad de cánceres. Los carcinomas se originan a partir de las células epiteliales. Estas son las células que cubren la superficie de órganos, glándulas o estructuras corporales.
- Sarcoma. Son cánceres que se forman en hueso y tejidos blandos, incluso en músculo, tejido adiposo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y en tejido fibrosos como son los tendones y ligamentos.
- Leucemia. Son cánceres que se originan en los tejidos que forman la sangre en la médula ósea. Estos cánceres no forman tumores sólidos, sino que se produce una acumulación de un gran número de glóbulos blancos anormales en la sangre y médula ósea.

- Linfoma. Se desarrollan a partir del tejido linfático. Los linfocitos anormales se acumulan en los ganglios linfáticos y vasos linfáticos, así como en otros órganos del cuerpo.

El cáncer se puede diseminar a otras partes del cuerpo desde el lugar donde se encuentra el tumor inicial. A esto se le denomina cáncer metastásico. Se produce por el desprendimiento de células cancerosas que llegan a lugares distales del organismo a través del sistema circulatorio o linfático, formando nuevos tumores lejos del tumor inicial. El proceso de metástasis solo ocurre en tumores malignos [8,9].

El cáncer es una enfermedad que sucede como resultado de un daño en el DNA o en los mecanismos de regulación del mismo (daño epigenético). Concretamente en genes que forman parte de procesos como la proliferación celular (o en sus inhibidores), la resistencia a la muerte celular, la formación de vasos sanguíneos, la capacidad de diseminación, la reprogramación energética y la evasión del sistema inmune. Los genes dañados pueden ser heredados de los padres (mutaciones genéticas heredadas) y/o que se induzca la mutación por causas internas al organismo (hormonas, infección o inflamación crónica) o por factores externos (radiaciones o agentes químicos) [9].

Los glucocorticoides juegan un papel importante en el tratamiento de leucemias, linfomas y mieloma múltiple en combinación con otros antineoplásicos, gracias a su capacidad para detener el ciclo celular y producir la apoptosis de las células cancerígenas. Además de su efecto citotóxico sobre tumores malignos hematológicos, los estudios preclínicos han demostrado que los glucocorticoides también actúan sobre la diferenciación celular, la proliferación y la apoptosis de las células de osteosarcoma, células tumorales hepáticas y mamarias, células de glioma, melanoma y células cancerígenas de la tiroides. El efecto apoptótico de los glucocorticoides es específico de cada tipo de célula y depende del tiempo y de la concentración de este [2].

Por otro lado, los glucocorticoides actúan inhibiendo la angiogénesis y la inflamación de la zona tumoral. La zona tumoral se caracteriza por ser un ambiente que presenta inflamación y en el que se están formando nuevos vasos sanguíneos, necesarios para permitir su crecimiento [3, 8]. Esto se debe a citoquinas proinflamatorias como TNF α , la interleucina IL-1 y IL-6; y al factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), involucrado en la angiogénesis, invasión y metástasis del tumor [12,14]. Estas proteínas son secretadas por los macrófagos asociados a tumores (TAMs). De manera que, si se inhibe su secreción, se puede disminuir el crecimiento del tumor y el riesgo de una posible metástasis. Para producir estos efectos, se necesitan altas dosis de glucocorticoides en la zona tumoral. Cada vez más, se reconoce que la inflamación asociada al tumor desempeña un papel importante en varias etapas de la carcinogénesis, diseminación y metástasis del cáncer [13].

Los glucocorticoides que se usan en los protocolos de tratamiento en cáncer son la dexametasona, la prednisona y la metilprednisona. Cuando estos medicamentos se emplean como tratamiento contra el cáncer se consideran medicamentos quimioterapéuticos [8].

Actualmente en clínica, la mayoría de los protocolos combinados de quimioterapia incluyen la dexametasona a dosis altas. La administración sistémica de dosis altas y frecuentes es

necesaria para producir la apoptosis de las células tumorales, ya que los glucocorticoides tienen propiedades farmacocinéticas deficientes presentando eliminación renal rápida y un volumen de distribución alto al administrar la dosis. Esto conlleva a la aparición de efectos adversos graves como inmunodepresión (y mayor riesgo de infección), complicaciones musculoesqueléticas (osteoporosis, osteonecrosis, miopatía), supresión del crecimiento en niños, hipertensión, redistribución de grasas, diabetes, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, insuficiencia suprarrenal, engrosamiento de la piel, glaucoma, cataratas, úlceras pépticas, cicatrización de heridas desacelerada y desequilibrio electrolítico [3]. Además, la aparición de resistencias a glucocorticoides, que limita el éxito del tratamiento [2].

En consecuencia, existe la necesidad de mejorar el régimen terapéutico. En este sentido, en los últimos años se están desarrollando sistemas de medicamentos innovadores con el fin de dirigirse a tejidos o células específicas, produciendo una reducción en la distribución y la acumulación del glucocorticoide fuera del tejido diana, disminuyendo así la toxicidad y efectos secundarios, y a la vez mejorando el efecto terapéutico por alcanzar altos niveles en la zona cancerígena.

1.2. Sistemas de liberación controlada

Los sistemas de liberación controlada son aquellos diseñados para cambiar la velocidad o el lugar de liberación del principio activo respecto a las formas farmacéuticas de liberación convencional administradas por la misma vía. Un medicamento formulado para liberación modificada debe mostrar en ensayos clínicos controlados una eficacia similar o superior, o bien un perfil de seguridad más favorable a igualdad de eficacia comparado con la forma de liberación convencional.

Las ventajas que presentan estos sistemas son:

- Prolongan la duración de los efectos del fármaco por lo que reducen la frecuencia de administración, mejorando el cumplimiento terapéutico y la eficacia terapéutica.
- Mantienen los niveles plasmáticos del principio activo constantes y controlados, evitando así, las fluctuaciones máximas características de las formas convencionales.
- Se pueden transportar diferentes fármacos en una sola formulación.
- Se pueden vectorizar, para que el principio activo se libere de forma preferente a nivel de órgano o célula diana. Resulta beneficioso ya que minimiza los efectos secundarios, aumenta la eficacia del principio activo y evita la degradación del fármaco.

Los sistemas de liberación modificada presentan una serie de inconvenientes:

- posible sobredosificación por liberación del fármaco de manera brusca
- dificultad de suspender el tratamiento
- desarrollo de tolerancia
- alto coste
- pobre correlación in vitro-in vivo en los ensayos.

Los transportadores de medicamentos tienen que cumplir ciertos requisitos: ser biocompatibles y biodegradables; tener adecuada capacidad de asociación con el principio activo; facilidad de producción a gran escala y en condiciones de esterilidad; ser estables

durante el almacenamiento; y tener un tamaño y una forma adecuada para la vía de administración.

Las características de los sistemas de liberación controlada aportarían una mejora en la efectividad de los glucocorticoides como agentes quimioterapéuticos, en la capacidad de superar la resistencia de estos fármacos y producirían la disminución de los efectos adversos que producen con la administración convencional.

2 OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión de los sistemas de liberación controlada de glucocorticoides en el tratamiento del cáncer que están en desarrollo. Se incluyen diferentes tipos de sistemas que están en estudios preclínicos.

Además, se intenta resaltar la importancia de continuar la investigación de estos sistemas, realizando más estudios preclínicos y clínicos. Con el fin de mejorar la eficacia de la terapia contra el cáncer y la disminución de los efectos adversos producidos por los glucocorticoides.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica utilizando bases de datos en internet como PubMed y ScienceDirect, de las que se ha recopilado información sobre el tratamiento del cáncer con glucocorticoides y las posibles nuevas terapias con el uso de la nanomedicina. También, se utilizaron páginas web como Instituto Nacional del cáncer (NIH), Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) y American Cancer Society (ACS) para extraer información sobre la enfermedad del cáncer y los tratamientos utilizados a base de glucocorticoides como quimioterapia en la actualidad.

Los artículos utilizados han sido lo más actualizados posible. Las palabras clave con las que se obtuvieron han sido: "cáncer", "glucocorticoid", "dexamethasone", "polymeric micelles", "liposomes", "microparticle" ect.

Al final de esta revisión se incluyen todas las referencias bibliográficas utilizadas, presentadas siguiendo la regla de Vancouver.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hoy en día, se están realizando estudios preclínicos que apuestan por sistemas de liberación controlada de glucocorticoides. Se han propuesto una gran variedad sistemas como los liposomas, las micelas poliméricas y micropartículas lipídicas [1,12,13,20,21], con el fin de mejorar la eficacia de los tratamientos quimioterápicos con glucocorticoides en el cáncer y reducir los efectos adversos que producen por la amplia distribución de sus receptores en el organismo.

Los sistemas con glucocorticoides descritos en este trabajo se administran por vía intravenosa y se utilizan para la vectorización pasiva a los tumores y la acumulación en los mismos. El

tamaño de estos sistemas permite que se extravasen al tejido donde se encuentra el tumor, ya que la neovasculatura resultante del proceso rápido de angiogenesis difiere de la de un tejido sano. Los vasos nuevos formados son irregulares, dilatados, con poros o defectuosos y las células endoteliales están desorganizadas, presentando grandes fenestraciones [19]. Además, los tumores carecen de vasos linfáticos funcionales, lo que permite la acumulación de estos sistemas en el microambiente tumoral, debido al bajo drenaje linfático. Este mecanismo se conoce como efecto de permeabilidad y retención mejorada (EPR).

En función del tipo de transportador utilizado encontramos estos sistemas para la administración controlada de glucocorticoides:

4.1 Liposomas

Son estructuras vesiculares constituidas por una o más bicapas lipídicas concéntricas que encierran un número igual de compartimentos acuosos. Cuantas más bicapas, mayor es el tamaño de partícula. Son esféricos y en su interior pueden contener principios activos lipófilos e hidrófilos. Normalmente, están formados por fosfolípidos y colesterol [17].

Por su tamaño pueden ser opsonizados y fagocitados, eliminándose posteriormente por el sistema fagocítico. Para evitar esto, se han desarrollado modificaciones en la superficie, mejorando así el tiempo de circulación en la sangre. Para ello, se puede recurrir al empleo de lípidos saturados y alto contenido en colesterol [17], o bien, uniéndole polietilenglicol (PEG) a la superficie del liposoma, siendo esta última la estrategia más empleada. Estos se denominan liposomas pegilados. Presentan ventajas frente a los no pegilados mejorando las propiedades farmacocinéticas. Tienen mayor estabilidad, aumentan la hidrofilia y reducen el aclaramiento plasmático, produciendo un aumento de la semivida de eliminación. Además, tienen menos susceptibilidad a ser degradados por enzimas, reducen la inmunogenicidad y antigenicidad, mejorando el perfil toxicológico [18].

4.1.1. Liposomas pegilados de dexametasona

En el estudio realizado por Anil K. Deshantria et al [20], se investigó el perfil farmacocinético de los liposomas pegilados cargados con dexametasona y el potencial terapéutico que ofrecen estos sistemas, en una línea celular MM.1S de mieloma múltiple y en ratones que presentaban mieloma múltiple.

Los liposomas se prepararon utilizando el método de hidratación de película lipídica. Estaban compuestos por cantidades apropiadas de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), polietilenglicol y colesterol.

Se realizó un estudio farmacocinético y de biodistribución. In vitro, se vio que la formulación era estable, liberando solo el 5% del fármaco encapsulado durante un periodo de 2 semanas. En los ensayos in vivo, los animales recibieron una inyección intravenosa de 5ml/kg de liposomas marcados, y a cada animal se le extrajo sangre a los tiempos de: 1 minuto, 1, 2, 4 y 24 horas. El porcentaje de dosis inyectada mostró un aclaramiento gradual de acuerdo con el diseño de los liposomas pegilados.

En cuanto a la biodistribución de los liposomas, se obtuvo fluorescencia en los tumores y en órganos involucrados en el aclaramiento liposomal, como el hígado y el bazo. También se observó fluorescencia en riñones (se puede deber a que en mieloma múltiple se produce una inflamación de los riñones) y en tejidos vascularizados (lo que posteriormente se vio que no era significativo). La acumulación de los liposomas en el tumor fue por el efecto EPR y cabe destacar que la fluorescencia fue más intensa a las 24h en comparación con las 4h desde la inyección, por lo que la acumulación de liposomas aumenta con el tiempo.

Además, se realizó un estudio de la eficacia terapéutica in vitro e in vivo. Para el ensayo in vitro, las células se trataron con concentraciones crecientes de dexametasona en solución y liposomas pegilados cargados con dexametasona, y se compararon con células no tratadas. La inhibición máxima era aproximadamente del 60% en el caso de la solución de dexametasona y del 45% en el caso de los liposomas de dexametasona, por lo que la solución de dexametasona era aproximadamente 12 veces más eficiente que la dexametasona liposomal. Sin embargo, al realizar el ensayo in vivo en un modelo híbrido humano-ratón para mieloma múltiple, el liposoma de dexametasona a 4mg/kg mostro una inhibición significativa del crecimiento de las células tumorales, mientras que la solución de dexametasona a la misma dosis no produjo inhibición significativa del crecimiento tumoral. También, se estudió la eficacia antitumoral de liposomas de dexametasona a 1mg/kg y de solución de dexametasona a 1mg/kg, las cuales no mostraron una inhibición del crecimiento tumoral significativa. El crecimiento tumoral fue monitorizado hasta el día 28 después del inicio del tratamiento, y se compararon los resultados con dos grupos controles, a los cuales se le administró una solución salina de fosfato (PBS) y liposomas de PBS (Figura 1).

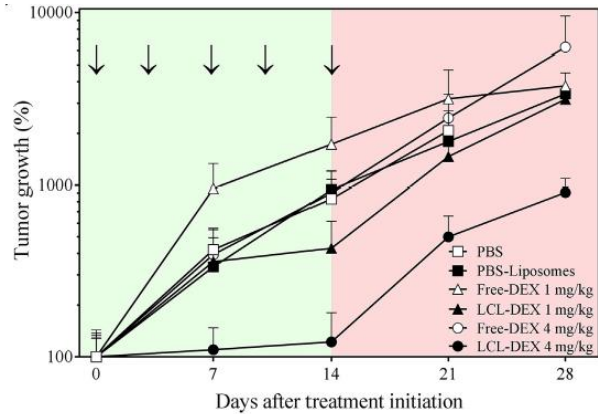


Figura 1. Efecto de los liposomas en el crecimiento tumoral. Deshantri AK, Fens MH, Ruiter RWJ, Metselaar JM, Storm G, van Bloois L, et al. Liposomal dexamethasone inhibits tumor growth in an advanced human-mouse hybrid model of multiple myeloma. *J Control Releas.* 2019;296:232-240.

La toxicidad sistémica relacionada con el tratamiento se evaluó mediante el control de los pesos corporales de los animales. La administración repetida de dexametasona en solución y liposomas de dexametasona en ratas resultó en una reducción significativa del peso corporal. Los animales tratados con liposomas de dexametasona a 4 mg/kg mostraron una pérdida de peso del 15% aproximadamente, durante el curso del tratamiento. No obstante, esta pérdida fue reversible después de finalizar el tratamiento. Esta disminución del peso corporal podría estar relacionada con los efectos adversos que se producen por la administración exógena de glucocorticoides, ya que no se observaron efectos adversos que pudieran atribuirse a la administración de dexametasona en los liposomas.

En otro estudio realizado por Jan Kroon et al [13], se utilizaron liposomas de dexametasona preparados en base al método de inyección de etanol, encapsulando fosfato disódico de dexametasona y como excipientes polietilenglicol, dipalmitoilfosfatidilcolina y colesterol.

El estudio se realizó en una línea celular de cáncer de próstata osteotrópico humano PC-3M-Pro4luc2. Se realizaron ensayos in vivo utilizando un modelo de tumor intraóseo en ratones. Se trataron con liposomas de dexametasona (0.2–1.0–5.0 mg / kg / semana) o solución de dexametasona (5 x 1.0 mg / kg / semana) para un total de cuatro semanas. Se pretendió evaluar la eficacia de los liposomas de dexametasona versus solución de dexametasona en un modelo preclínico de enfermedad ósea metastásica en cáncer de próstata humano. Además, se evaluó el perfil farmacocinético de los liposomas y el perfil toxicológico.

En primer lugar, se realizó el estudio de evaluación de la eficacia antitumoral. Se administró el vehículo, dexametasona libre y liposomas de dexametasona en el día 15 después de haber inoculado células tumorales en la tibia de los ratones. La dexametasona libre y liposomal produce una inhibición significativa en el crecimiento del tumor intraóseo, a todas las dosis de dexametasona mencionadas. Comparando el efecto antitumoral, se observó que, para obtener un efecto antitumoral estadísticamente significativo con la solución de dexametasona, era necesario dosis de 5 mg/kg. Mientras que utilizando liposomas de dexametasona con 1 mg/kg, el efecto era estadísticamente significativo y daba un pico de respuesta máximo (Figura 2).

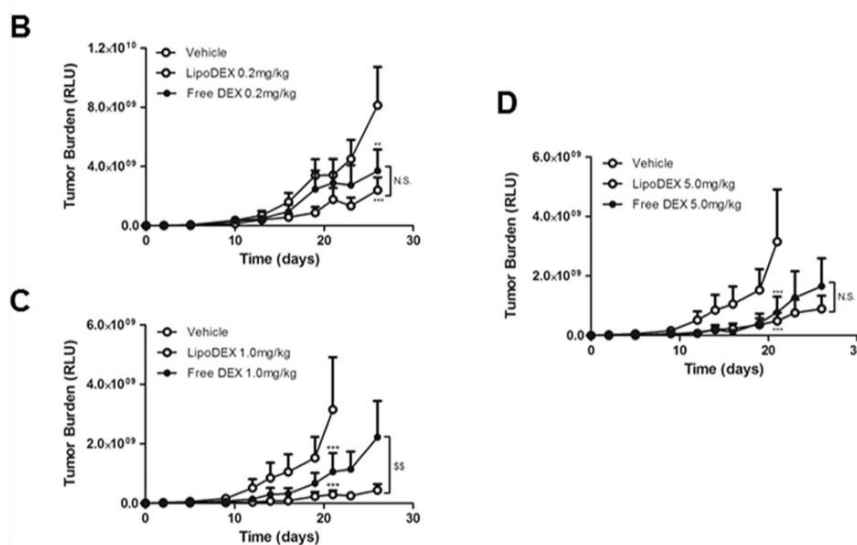


Figura 2. Efecto de los liposomas en el crecimiento del tumor(B) 0,2 mg /kg. (C)1 mg/ kg. (D) 5 mg/kg. Kroon J, Buijs JT, van der Horst G, Cheung H, van der Mark M, van Bloois L, et al. Liposomal delivery of dexamethasone attenuates prostate cancer bone metastatic tumor growth in vivo. *Prostate*. 2015;75(8):815-24.

A continuación, se evaluó los efectos adversos sistémicos producidos por los tratamientos en base a los cambios de peso corporal. A dosis bajas de glucocorticoide (0,2 y 1 mg/kg) no se vieron diferencias entre los grupos de tratamiento de los ratones. Con la dosis de 5mg/kg de dexametasona cargada en los liposomas, se observó pérdida de peso en los ratones, mientras que con la solución de dexametasona no se observó (Figura 3). Esta pérdida de peso puede explicarse por el aclaramiento retardado de los liposomas, en oposición al aclaramiento rápido de la solución de dexametasona, ya que se elimina antes del organismo.

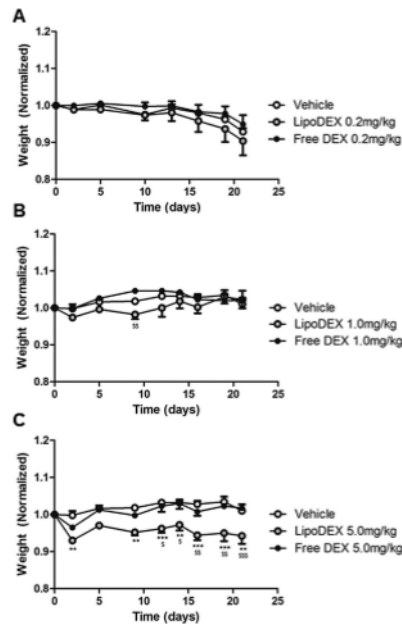


Figura 3. Efecto de los liposomas en el peso corporal de los ratones. (A) 0,2 mg/kg. (B) 1 mg/kg. (C) 5 mg/kg Kroon J, Buijs JT, van der Horst G, Cheung H, van der Mark M, van Bloois L, et al. Liposomal delivery of dexamethasone attenuates prostate cancer bone metastatic tumor growth in vivo. *Prostate*. 2015;75(8):815-24.

Para el estudio farmacocinético y toxicológico de los liposomas de dexametasona, se administró a ratas sanas la solución de dexametasona a una dosis de 1mg/kg diariamente y se comparó con una sola administración semanal de liposomas de dexametasona a las diferentes dosis estudiadas. Los liposomas de dexametasona indujeron un perfil de toxicidad similar en comparación con la solución de dexametasona, al tiempo que mejora la eficacia antitumoral en las metástasis óseas inducidas experimentalmente, aumentando así el índice terapéutico.

Para la concentración de 1mg/kg el estudio no reveló una mayor toxicidad atribuible a los liposomas de dexametasona. Sin embargo, a dosis altas (5mg/kg) la dexametasona liposomal incrementó los niveles de enzimas en el hígado (GTP, GOT) y se muestran alta toxicidad hepática en la evaluación histopatológica (incrementan infarto leve y necrosis), que probablemente es una consecuencia de la redistribución ya que los liposomas administrados por vía intravenosa tienen preferencia por el hígado. A pesar del incremento total en la exposición de dexametasona, el estudio no revela que el incremento de la toxicidad se atribuya a los liposomas de dexametasona, sino que la toxicidad está relacionada con efectos adversos de los glucocorticoides.

Los resultados de los estudios anteriores indican que la encapsulación en liposomas de la dexametasona mejora el índice terapéutico al mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas. Al usar formulaciones liposomales, es probable que se pueda usar una dosis más baja de dexametasona en los regímenes de combinación disponibles actualmente en entornos clínicos, lo que podría mejorar los resultados terapéuticos y reducir los efectos secundarios relacionados con la dosis. Se requiere más investigación para evaluar la dexametasona encapsulada en liposomas como parte de los regímenes de tratamiento existentes.

4.1.2. Liposoma de dexametasona y docetaxel

En clínica, para algunos tipos de cáncer, la administración de dexametasona es previa al tratamiento con docetaxel, agente citotóxico. El pretratamiento con dexametasona aumenta los efectos anticancerígenos de los agentes quimioterapéuticos en varios modelos de cáncer. En consecuencia, la terapia combinada de estos dos fármacos podría ser una estrategia prometedora en el tratamiento de tumores.

Por ello, el estudio de Lu Zhang et al [12], propone la administración de dichos fármacos en un solo vehículo (liposoma). La liberación secuencial de los fármacos permitiría en primer lugar, que la dexametasona modulase el microambiente tumoral y en segundo lugar se promoviese la biodistribución y retención de docetaxel en el tumor para producir un efecto antitumoral mayor y reducir los efectos secundarios de los fármacos cuando se administran de forma libre. En el estudio, se investigó el perfil farmacocinético y la eficacia en la inhibición tumoral, de los liposomas cargados con dexametasona y docetaxel, en células 4T1 (células de cáncer de mama de ratón) y en ratones a los que previamente se les había inoculado estas células.

El liposoma pegilado utilizado en el estudio está compuesto por lípidos: SPC (48%); colesterol (8%); DC-Chol (40%) y DSPE-mPEG 2000 (3%). La dexametasona (DEX) y el docetaxel (DTX) se encuentran en la parte lipofílica del liposoma. El primero está incrustado en la membrana del liposoma, entre las colas apolares de los fosfolípidos de la primera capa, y el docetaxel (DTX), se ubica encapsulado entre las colas de los fosfolípidos de la bicapa lipídica a través de interacciones hidrofóbicas (Figura 4). Además, los liposomas presentan en la superficie polietilenglicol (PEG).

Debido a esta disposición de los principios activos, las curvas de liberación de dexametasona y docetaxel en el liposoma (DEX + DTX) revelaron que la dexametasona tenía una tasa de liberación más rápida que la de docetaxel. La liberación secuencial se relacionó en gran medida con su diferente ubicación e interacción con los fosfolípidos. El docetaxel es más lipófilo que la dexametasona. La fuerte interacción hidrofóbica provoca la liberación del docetaxel fuera más lenta que la dexametasona. Además, la dexametasona se encuentra en la primera capa de fosfolípidos y la corta distancia de difusión puede contribuir a su rápida liberación.

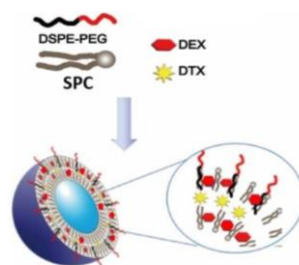


Figura 4. Liposoma de dexametasona y docetaxel. Zhang L, Su H, Liu Y, Pang N, Li J, Qi XR. Enhancing solid tumor therapy with sequential delivery of dexamethasone and docetaxel engineered in a single carrier to overcome stromal resistance to drug delivery. *J Control Release*. 201;294:1-16.

Se realizó un estudio de eficacia antitumoral en ratones con tumor de mama triple negativo, debido a que este modelo es similar al de cáncer de mama humano en cuanto a la capacidad

para desarrollar el tumor y la metástasis espontánea. Se dividieron los ratones en cuatro grupos a los que se administró una solución salina (grupo control), dexametasona en liposomas, docetaxel en liposomas y liposomas (DEX+DTX), con dosis de 4 mg/kg de dexametasona y 8 mg/kg de docetaxel. Se administró el tratamiento 4 veces, en total, en intervalos de 3 días. El liposoma (DEX+DTX) fue el más eficiente en la inhibición del crecimiento tumoral (Figura 5). Sin detectarse diferencias significativas en el registro del peso corporal de los ratones entre el grupo control y los tres grupos de tratamiento, lo que indica la seguridad de los grupos de tratamiento.

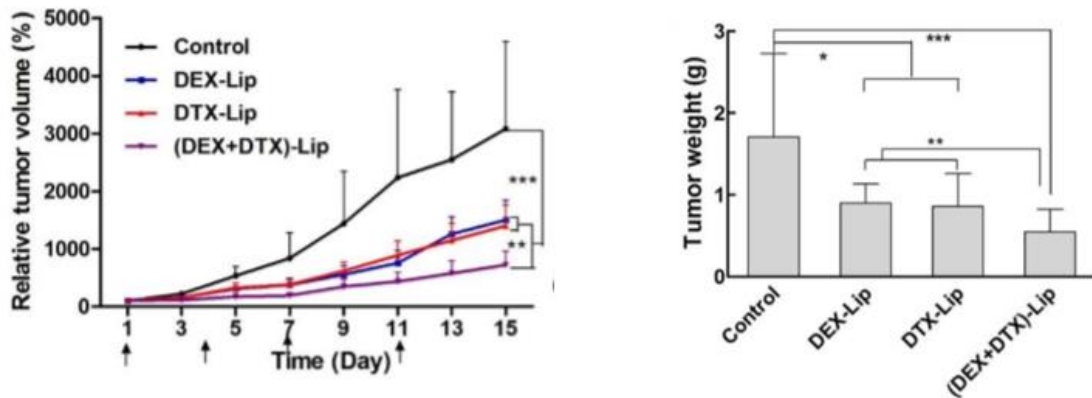


Figura 5. Efecto antitumoral de los liposomas. Zhang L, Su H, Liu Y, Pang N, Li J, Qi XR. Enhancing solid tumor therapy with sequential delivery of dexamethasone and docetaxel engineered in a single carrier to overcome stromal resistance to drug delivery. *J Control Release*. 2019;294:1-16.

Por otro lado, se comparó el liposoma de dexametasona y docetaxel con la forma libre de estos fármacos en ratones con tumor de mama. La combinación de dexametasona y docetaxel libre mostró un efecto de inhibición bajo sobre el crecimiento del tumor. Además, se produjo una pérdida significativa del peso corporal y daños en el hígado y bazo de los ratones en todos los grupos de tratamiento, lo que sugiere que la administración simultánea de los fármacos en forma libre, puede causar toxicidad aguda.

Por último, se realizó un ensayo con el fin de obtener la eficacia de los liposomas (DEX+DTX) en la prevención del proceso de metástasis. Los ratones con tumor de células 4T1 tratados con los liposomas (DEX+DTX) tenían menor número de nódulos en el pulmón, 10 veces menos que el grupo control. Sugiere que el liposoma combinado tuvo mayor efecto para la inhibición de la metástasis del tumor de células 4T1, al pulmón (Figura 6). La administración sistémica de la formulación no solo se acumulaba en el sitio tumoral, sino que circulaba a nivel vascular, eliminando así la invasión local y las células tumorales circulantes.

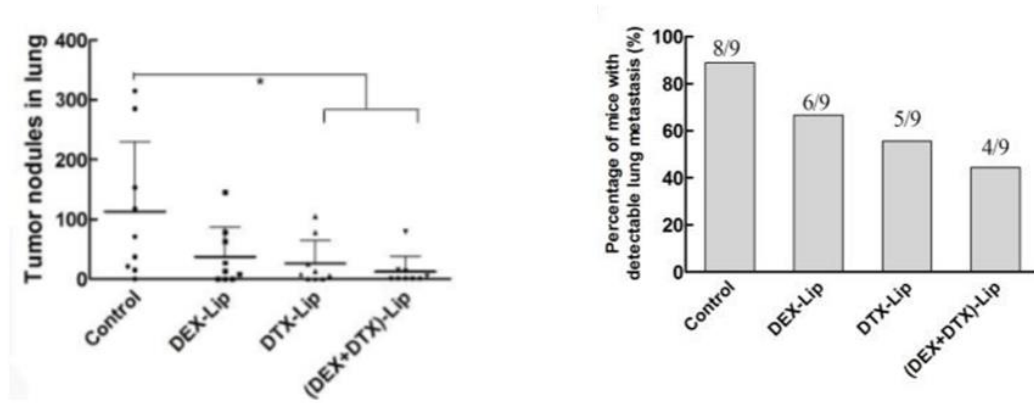


Figura 6. Eficacia de los liposomas en la prevención de la metástasis a los pulmones. Zhang L, Su H, Liu Y, Pang N, Li J, Qi XR. Enhancing solid tumor therapy with sequential delivery of dexamethasone and docetaxel engineered in a single carrier to overcome stromal resistance to drug delivery. *J Control Release*. 2019;294:1-16.

4.2. Micelas poliméricas

Son esféricas con un diámetro de 10 a 100 nanómetros. Las micelas poliméricas se forman con polímeros anfifílicos en una solución acuosa. Durante el proceso de micelización los bloques hidrofóbicos se asocian para formar un núcleo, en el que se asocia el glucocorticoide, mientras que los segmentos hidrofílicos se sitúan entre el núcleo y el medio acuoso externo [6]. La parte hidrofóbica puede estar compuesta por polímeros como ácido poliglicólico, ácido láctico-co-glicólico (PLGA), polialquilcianoacrilato (polibutil-cianoacrilato (PBCA) etc.

Al encapsular el glucocorticoide en el núcleo de micelas poliméricas permite su solubilización y la protección frente a la degradación del fármaco. Además, se aumenta el tiempo de circulación y se produce una liberación más lenta de este.

Al igual que los liposomas, se produce la vectorización del fármaco al lugar donde se encuentra el tumor y donde hay inflamación mediante el efecto EPR. También, se pueden unir en la superficie anticuerpos, restos de azúcares o péptidos para dirigir estos sistemas a un tipo de tejido o incluso célula.

4.2.1. Micelas poliméricas de dexametasona

En el estudio realizado por M. Coimbra et al [21], se investigó los efectos antitumorales y el perfil farmacocinético del sistema de micelas poliméricas cargadas de dexametasona en ratones portadores de melanoma. También se compararon con liposomas.

Los sistemas micelares reticulados están basados en metoxi poli (etilenglicol) -b-poli [N- (2-hidroxiopropil) metacrilamida-lactato]] y tres derivados de dexametasona conjugada con metacrilato de hidroxietilo a través de un sulfuro (DMSL1), sulfóxido (DMSL2) o un éster de sulfona (DMSL3) para crear conectores polimerizables con diferentes grados de oxidación que, cuando se acoplan covalentemente al núcleo de las micelas, se espera una liberación de fármaco diferente según las diferentes tasas de hidrólisis del enlace éster.

Se realizó un estudio farmacocinético y de biodistribución cuyos resultados mostraron que las micelas poliméricas después de la administración intravenosa eran altamente estables, ya que

el polímero y el fármaco permanecían asociados. Además, los niveles en sangre de las micelas eran mayores que en el caso de los liposomas a las 24 y 48 horas, lo que suponía que la eliminación de la circulación de las micelas era mas lenta. Las diferencias de distribución en los tejidos como hígado, bazo, sangre y tumor entre los dos sistemas, se debía principalmente como resultado del tiempo de circulación prolongado.

Se compararon los ensayos in vitro con ensayos in vivo, utilizando ratones. Se administró dexametasona libre, la cual se redistribuyó rápidamente y se eliminó de circulación a los 200 min. Al administrar los diferentes derivados de dexametasona cargados en micelas poliméricas la cinética de liberación fue DMSL3> DMSL2> DMSL1.

La liberación rápida del enlazador hidrolizante in vitro se refleja in vivo en el nivel plasmático del fármaco. En las primeras 4 horas la concentración plasmáticas de dexametasona era alta, debido a la liberación del fármaco desde las micelas poliméricas. En los siguientes días se produjo una disminución gradual de la concentración en sangre, debido a la eliminación de las micelas y de la dexametasona.

Las diferencias entre enlazadores hidrolíticos de las micelas se pueden utilizar en función de la cinética óptima para la enfermedad. En patologías como el cáncer se usa una liberación intermedia que se consigue con DMSL2.

Por último, se realizó un estudio de eficacia terapéutica antitumoral. Se administró a ratones dexametasona libre, micelas poliméricas blancas, micelas poliméricas cargadas de dexametasona y liposomas pegilados cargados con dexametasona. Se observó el crecimiento tumoral a lo largo de 15 días (Figura 7). En base a los resultados, se observó que el crecimiento tumoral disminuía con los liposomas y las micelas poliméricas, mientras que en los ratones con micelas poliméricas blancas y con dexametasona libre el crecimiento tumoral era muy rápido. Por lo que la administración de la dexametasona en sistemas de liberación modificada presenta una mayor eficacia antitumoral en comparación con el fármaco libre.

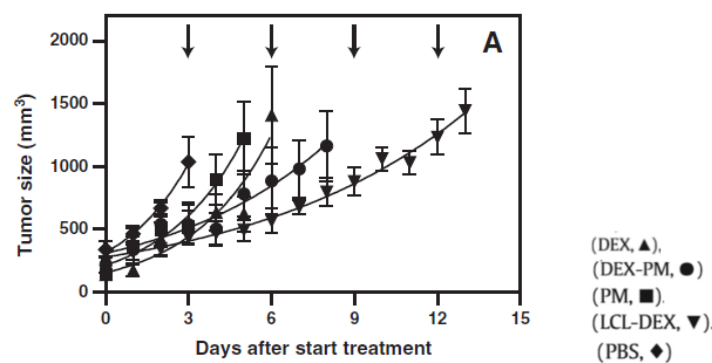


Figura 7. Efecto de las micelas poliméricas en el crecimiento del tumor. Coimbra M, Rijcken CJ, Stigter M, Hennink WE, Storm G, Schiffelers RM. Antitumor efficacy of dexamethasone-loaded core-crosslinked polymeric micelles. *J Control Release.* 2012;163(3):361-7.

La inhibición de la proliferación celular y por lo tanto la disminución en el crecimiento tumoral fue similar en ambos sistemas de liberación modificada.

La liberación del fármaco después de la internalización por las células fagocíticas puede ser diferente para los dos sistemas. Es probable que la dexametasona encapsulada en los liposomas se libere fácilmente después de la interrupción de la bicapa lipídica, mientras que en las micelas poliméricas depende de la escisión hidrolítica gradual, dando como resultado una cinética de liberación más lenta pero más prolongada en el tiempo.

4.3. Micropartículas

Son estructuras esféricas de tamaño superior a 1 μm . Hay dos tipos de micropartículas: las microesferas, son sistemas matriciales constituidos por el entrecruzamiento de oligómeros o polímeros, en los que el principio activo se puede encontrar atrapado en la red polimérica, disuelto en ella o adsorbido a la superficie; y las microcápsulas, son sistemas reservorio constituidos por un núcleo líquido oleoso rodeado de una membrana polimérica. En este caso el principio activo suele encontrarse disuelto en el núcleo, aunque también puede estar adsorbido en la superficie. Las micropartículas permiten un control de la liberación del principio activo durante el periodo de tiempo que oscila entre semanas y meses.

4.3.2. Micropartículas lipídicas de dexametasona

En el estudio realizado por C. Martín Sabroso et al [1], se evaluó el efecto de citotoxicidad y la actividad apoptótica de la administración de 10 μM de dexametasona cargada en micropartículas lipídicas, en células sensibles a glucocorticoides (PC12) y en otra línea de células que no son sensibles a glucocorticoides (PC3). Los resultados que se obtuvieron de una sola administración de micropartículas cargadas se compararon con la administración de dexametasona cada 48 horas. Además, se analizó la cinética de liberación de dicho sistema de liberación controlada.

Las micropartículas lipídicas se elaboraron por spray-drying partiendo de una composición inicial de 10% dexametasona y 90% excipientes (compuestos por una mezcla de fosfolípidos (Lipoid[®]), ovoalbúmina y trealosa) obteniendo micropartículas con un diámetro medio aproximado de 25 μm .

Se realizaron ensayos de proliferación celular hasta 3 días en células PC12, donde se comparó la inhibición de la proliferación que se producía con la solución de dexametasona administrada cada 48 horas y una sola administración de las micropartículas lipídicas (Figura 8). La muerte celular observada después de 1 día de tratamiento tanto con solución de dexametasona como con micropartículas lipídicas cargadas con dexametasona, fue estadísticamente significativa con respecto a las células de control. Del mismo modo, mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto a las células tratadas con micropartículas no cargadas (no producían muerte celular). Aunque el fármaco se liberó en un día, los ensayos se llevaron a cabo durante 3 días, obteniendo efectos similares con una sola administración de micropartículas lipídicas dexametasona que con la solución de dexametasona administrada cada 48 horas.

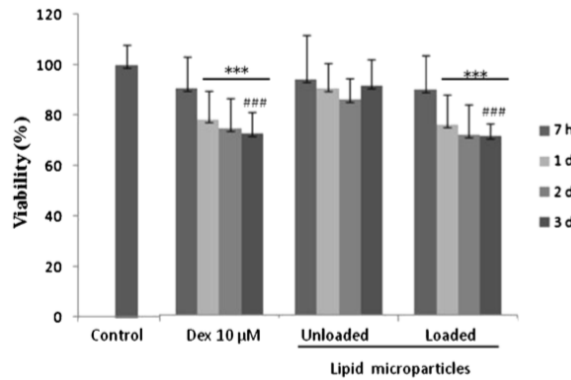


Figura 8. Efecto citotóxico de las micropartículas lipídicas. Martín-Sabroso C, Moreno-Ortega AJ, Aparicio-Blanco J, Fraguas-Sánchez AI, Cano-Abad MF, Torres-Suárez AI. Overcoming glucocorticoid resistances and improving antitumor therapies: lipid and polymers carriers. *Pharm Res.* 2015;32(3):968-85.

Se realizó un análisis de la morfología celular mediante microscopía óptica. Se detectaron cambios en la morfología celular solo cuando se administraban micropartículas lipídicas, ya que las células tratadas con la solución de dexametasona presentaban una morfología celular similar a la de las células control. Estos cambios se podrían deber a los fosfolípidos liberados de las micropartículas lipídicas, ya que estos podrían modificar la permeabilidad de la membrana celular, facilitando la internalización de dexametasona en la célula.

Por último, se realizó un ensayo de apoptosis. Se estudió la inducción de la apoptosis en 48 horas, en células PC12 tratadas con solución de dexametasona, micropartículas lipídicas de dexametasona, micropartículas lipídicas blancas y además, se estableció el grupo control (Figura 9). La apoptosis inducida por las micropartículas lipídicas de dexametasona fue alrededor de 17,9% mayor que la obtenida con la solución de dexametasona. Además, en las células tratadas con la solución de dexametasona y las tratadas con las micropartículas lipídicas de dexametasona, la fase G2 había desaparecido.

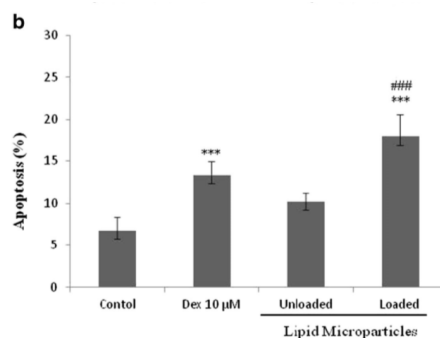


Figura 9. Efecto apoptótico de las micropartículas lipídicas en células PC12. Martín-Sabroso C, Moreno-Ortega AJ, Aparicio-Blanco J, Fraguas-Sánchez AI, Cano-Abad MF, Torres-Suárez AI. Overcoming glucocorticoid resistances and improving antitumor therapies: lipid and polymers carriers. *Pharm Res.* 2015;32(3):968-85.

Por último, se evaluó el efecto de las micropartículas lipídicas de dexametasona en células PC3, no sensibles a glucocorticoides. Las células PC3 no habían respondido a la administración de solución de dexametasona en estudios citotóxicos realizados previamente. Las micropartículas lipídicas de dexametasona indujeron citotoxicidad estadísticamente significativa en estas células. Mientras que las micropartículas lipídicas blancas y la solución de dexametasona no produjeron efectos citotóxicos sobre ellas (Figura 10).

Dado que las células PC3, son una línea celular no sensible a glucocorticoides. Las micropartículas lipídicas cargadas con dexametasona podrían ser una herramienta potencial para superar la resistencia a glucocorticoides.

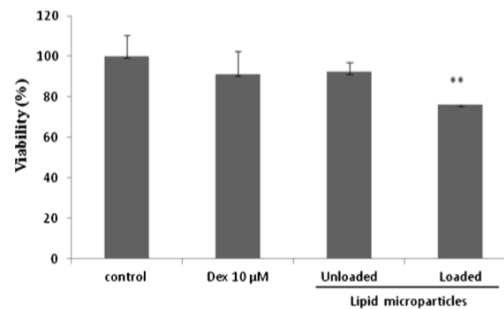


Figura 10. Efecto citotóxico de las micropartículas lipídicas en células PC3. Martín-Sabroso C, Moreno-Ortega AJ, Aparicio-Blanco J, Fraguas-Sánchez AI, Cano-Abad MF, Torres-Suárez AI. Overcoming glucocorticoid resistances and improving antitumor therapies: lipid and polymers carriers. *Pharm Res.* 2015;32(3):968-85.

5 CONCLUSIÓN

La quimioterapia es uno de los tratamientos más utilizados en oncología. Los resultados quimioterapéuticos con éxito dependen en gran medida de los agentes administrados que alcanzan todo el tumor con suficiente concentración. Actualmente en clínica, se están utilizando glucocorticoides como parte de la quimioterapia para diferentes tipos de cáncer. Debido a la amplia distribución en el organismo de los receptores de glucocorticoides, la administración sistémica de estos produce numerosos efectos adversos graves. Además, al tener un perfil farmacocinético deficiente es necesaria la administración de altas dosis y frecuentes para alcanzar los niveles de fármaco suficientes en el tumor para que se produzca la inhibición del crecimiento tumoral.

Los sistemas de liberación controlada parecen ser la solución a estos problemas descritos. Prueba de ello son las diferentes formulaciones que hay en fase de investigación preclínica y los resultados mostrados en ellas. Con el uso de estos sistemas para la administración de glucocorticoides se consigue la acumulación del fármaco en el tumor por el efecto EPR, disminuyendo los niveles de fármaco fuera del tejido diana. Esto a su vez supone una reducción de los efectos adversos y la potenciación del efecto antitumoral. Además, los sistemas de liberación controlada permiten la reducción de la dosis de glucocorticoide y la administración conjunta con otros fármacos citotóxicos, dando buenos resultados en cuanto al efecto antitumoral.

Sin embargo, queda un largo camino ya que ninguno de los estudios ha llegado a fases de ensayos clínicos. Se espera que en un futuro se pueda contar con nuevos sistemas basados en nanomedicina para la administración de glucocorticoides, que proporcionen un tratamiento específico, personalizado y dirigido al tejido tumoral. De esta manera, aumentar la eficacia terapéutica y disminuir los efectos adversos producidos por los glucocorticoides.

6 BIBLIOGRAFÍA

1. Bertram G Katzung. Farmacología básica y clínica. 14ª edición. Mexico. McGraw Hill. 2019
2. Martín-Sabroso C, Moreno-Ortega AJ, Aparicio-Blanco J, Fraguas-Sánchez AI, Cano-Abad MF, Torres-Suárez AI. Overcoming glucocorticoid resistances and improving antitumor therapies: lipid and polymers carriers. Pharm Res. 2015;32(3):968-85.
3. Ozbakir B, Crielaard BJ, Metselaar JM, Storm G, Lammers T. Liposomal corticosteroids for the treatment of inflammatory disorders and cancer. J Control Release. 2014;190:624-36.
4. Raj Kumar. Emerging role of glucocorticoid receptor in castration resistant prostate cancer: A potential therapeutic target. J Cancer. 2020; 11(3): 696–701.
5. Edgardo Jares, Omar Pignataro. Mecanismos moleculares de acción de los corticoide. Archivos de Alergia e inmunología clínica AAIC. 2002; 33(1): 9-21.
6. B.G. Cosíoa, A. Torregob e I.M. Adcockb. Mecanismos moleculares de los glucocorticoides. Arch Bronconeumol. 2005; 41(1):34-4.
7. Silvia Gómez Ordóñez, Ángela María Gutiérrez Álvarez, Etna L. Valenzuela Plata. Corticoides: 60 años después, una asignatura pendiente. Rev. Cienc. Salud. 2007;5(3): 58-69.
8. NIH: Instituto Nacional del Cáncer [Internet]. Estados Unidos, NIH. Febrero 2015 [Consultado Diciembre 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
9. SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica [Internet]. Madrid, SEOM; [Consultado Dic 2019]- Disponible en: <https://seom.org/informacion-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer-y-como-se-desarrolla>
10. ACS: American Cancer Society [Internet]. Atlanta, Georgia: ACS; 2016 [Consultado Dic 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/>
11. Miles A. Pufall, M.S., Ph.D. Glucocorticoids and cancer. Adv Exp Med Biol. 2015; 872: 315–333.
12. Zhang L, Su H, Liu Y, Pang N, Li J, Qi XR. Enhancing solid tumor therapy with sequential delivery of dexamethasone and docetaxel engineered in a single carrier to overcome stromal resistance to drug delivery. J Control Release. 2019;294:1-16.
13. Kroon J, Buijs JT, van der Horst G, Cheung H, van der Mark M, van Bloois L, et al. Liposomal delivery of dexamethasone attenuates prostate cancer bone metastatic tumor growth in vivo. Prostate. 2015;75(8):815-24.

14. Raúl Solís-Martínez, Georgina Hernández-Flores, Francisco Javier Ochoa-Carrillo, Pablo Ortiz-Lazareno, Alejandro Bravo-Cuellar. Macrófagos asociados a tumores contribuyen a la progresión del cáncer de próstata. *Gaceta mexicana de oncología*. 2015; 14(2):97-102.
15. Lechuga, Laura M. Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud. Grupo 5. 2011.
16. Martín Montaner I, Agudo Pascual C, Ariz Arnedo M, Berjón Reyero J, Casas Fernández de Tejerina JM, Gaminde Inda I et al. *Boletín de Información Farmacoterapéutica de Navarra*. 2005; 13(1):1-9.
17. Lühder F, Reichardt HM. Novel Drug Delivery Systems Tailored for Improved Administration of Glucocorticoids. *Int J Mol Sci*. 2017;18(9).
18. Jose Ramón Azanza Perea. Hablemos de...La pegilación de los fármacos. *GH continuada*. 2002;1(5):257-261.
19. Martínez-Soler GI, Pérez-Artacho B, Sáez-Fernández E, Gallardo V, Arias JL. Estrategias para el transporte de fármacos basadas en el efecto de permeación y retención aumentada. *ARS Pharmaceutica*. 2010; 51(3): 113-116.
20. Deshantri AK, Fens MH, Ruiters RWJ, Metselaar JM, Storm G, van Bloois L, et al. Liposomal dexamethasone inhibits tumor growth in an advanced human-mouse hybrid model of multiple myeloma. *J Control Release*. 2019;296:232-240.
21. Coimbra M, Rijcken CJ, Stigter M, Hennink WE, Storm G, Schiffelers RM. Antitumor efficacy of dexamethasone-loaded core-crosslinked polymeric micelles. *J Control Release*. 2012;163(3):361-7.
22. Deshantri AK, Kooijmans SA, Kuijpers SA, Coimbra M, Hoepfener A, Storm G, Fens MH1, Schiffelers RM. Liposomal prednisolone inhibits tumor growth in a spontaneous mouse mammary carcinoma model. *J Control Release*. 2016;243:243-249.
23. Jackson RK, Irving JA, Veal GJ. Personalization of dexamethasone therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2016;173(1):13-24.