



## **FACULTAD DE FARMACIA**

Grado en Farmacia

# **TRATAMIENTOS BASADOS EN NANOPARTÍCULAS PARA LA DEGENERACIÓN MACULAR ASOCIADA A LA EDAD HÚMEDA**

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Febrero 2023

**Autor:** María Teresa Estrada Salinas

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor/es: Gema Concepción Martínez Navarrete

# INDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	4
1.1.	SISTEMA VISUAL.....	4
1.2.	DEGENERACIÓN MACULAR ASOCIADA A LA EDAD .....	5
1.3.	TRATAMIENTOS ACTUALES PARA LA DMAE HÚMEDA .....	7
	a) Terapia láser.....	7
	b) Terapia con agentes anti-VEGF .....	7
1.4.	NANOPARTÍCULAS.....	8
2.	ANTECEDENTES .....	9
3.	OBJETIVOS.....	11
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
5.	RESULTADOS .....	14
5.1.	Tratamientos basados en nanopartículas con Fenofibrato .....	14
5.2.	Tratamientos basados en nanopartículas con Butirato de sodio.....	16
5.3.	Nanopartículas biomiméticas.....	19
5.4.	Nanopartículas para la administración simultánea de Aflibercept y Dexametasona .	20
5.5.	Tratamiento con nanopartículas fotodirigidas.....	21
5.6.	Tratamiento con nanopartículas de Óxido de Cerio .....	22
5.7.	Tratamiento basado en nanopartículas con anti-VEGF intravenoso con péptido RGD 25	
5.8.	Nanopartículas de lipoproteína de baja densidad (LDL) cargadas con Verteporfina en gotas oculares .....	27
6.	DISCUSIÓN.....	30
7.	CONCLUSIONES .....	33
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	34

## **RESUMEN**

La degeneración macular asociada a la edad húmeda (DMAE húmeda) es la principal causa de pérdida de visión central en los países desarrollados. Es una enfermedad crónica que se caracteriza por ser realmente incapacitante para el paciente, y además cuenta con el agravante de que solo presenta tratamiento paliativo, ayudan a retrasar el avance de la enfermedad, pero no revierten la situación. Los tratamientos convencionales se basan en el uso de fármacos anti-VEGF para disminuir la gravedad de las lesiones neovasculares coroideas, cuya vía de administración es la inyección intravítrea mensual o bimensual, lo cual es un aspecto que realmente dificulta a los pacientes la adherencia al mismo, pues es una vía de administración muy invasiva. Además, esta vía de administración requiere que el paciente acuda a especialistas para su aplicación. El objetivo de esta revisión es poner de manifiesto la existencia de otros sistemas de liberación de fármacos basados en nanopartículas que permitan disminuir la frecuencia de las inyecciones intravítreas e, incluso, la utilización de otras vías de administración, a través de distintas estrategias terapéuticas.

Palabras clave: degeneración macular asociada a la edad húmeda, nanopartículas.

## **ABSTRACT**

Wet age-related macular degeneration (wet AMD) is the main cause of central vision loss in developed countries. It is a chronic disease that is characterized by being really disabling for the patient, and also has the aggravating factor that there is no cure. There are treatments that help to delay the progression of the disease, but they do not reverse the situation. These treatments are based on the use of anti-VEGF drugs to reduce the severity of the choroidal neovascular lesions. The route of administration of these treatments is monthly or bimonthly intravitreal injection, which is an aspect that really hinders patients' adherence to treatment, as it is a very invasive route of administration. Moreover, this route of administration requires the patient to go to specialists for its application. The aim of this review is to highlight the existence of other drug delivery systems that

make it possible to reduce the frequency of intravitreal injections and even the use of other routes of administration, through different therapeutic strategies. The delivery systems studied in this review are nanoparticles.

Key words: wet age-related macular degeneration, nanoparticles.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. SISTEMA VISUAL**

El ojo es una estructura esférica que, para mantener su forma, contiene en su interior un líquido llamado humor acuoso, y por otro lado el humor vítreo, los cuales están separados por la lente. Está formado por tres capas. La capa fibrosa, que es la capa exterior, está formada por la córnea y la esclera. La esclera es de color blanco, es lo que se conoce como el “blanco del ojo” y es una capa de tejido conectivo grueso. La córnea se encuentra en la parte central anterior de la esclera, y es cristalina. Es la parte del ojo por la que entra la luz hacia la capa sensorial. La capa vascular, que es la capa intermedia, consta del coroides en su parte más posterior, y conforme avanzamos hacia la parte anterior, llegamos al cuerpo ciliar y al iris. El cuerpo ciliar se encuentra unido a la lente mediante unos ligamentos que se denominan zónula ciliar. El iris tiene la capacidad de modular la intensidad de luz que entra en el ojo, mediante su contracción y distensión. Por último, la capa sensorial, que es la más interna, es la denominada retina (1). La retina está formada por una capa de células fotorreceptoras y células gliales, encargadas de percibir imágenes visuales. Las células fotorreceptoras son de dos tipos: conos y bastones. Estos se encuentran únicamente situados en la parte posterior de las subcapas de la retina. Los conos son sensibles a la luz diurna, y se encuentran distribuidos por toda la retina, estando más concentrados en el centro de ésta (fóvea), mientras que los bastones son sensibles a la luz tenue. Existen tres tipos de conos, denominados tritans, deutrans y protans, que detectan longitudes de onda corta, media y larga, respectivamente. La longitud de onda corta corresponde al color azul, la media al color verde y la larga al color rojo, cuyo solapamiento da lugar al espectro de luz visible que percibe el ser humano. Dentro de la retina, existe una zona especialmente sensible denominada mácula (2). La mácula es la zona de la

retina con mayor concentración de conos, que son los responsables de la agudeza visual central de alta resolución, permitiendo la visualización de detalles finos, así como de los colores. El epitelio pigmentado de la retina (EPR) es parte de la barrera sanguínea externa, compuesta por una sola capa de células poligonales. Está localizada entre la membrana de Bruch y el segmento externo de células fotorreceptoras. El EPR se encarga del mantenimiento de las células fotorreceptoras, siendo sus funciones principales la absorción de la luz, fagocitosis, secreción de citocinas y transporte de nutrientes (3) (Figura 1) (4).

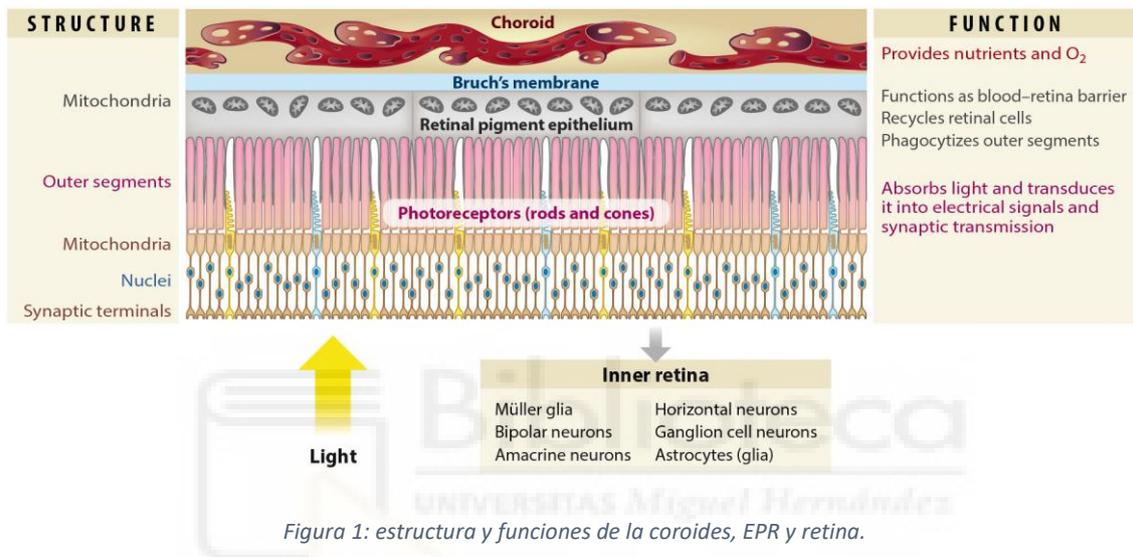


Figura 1: estructura y funciones de la coroides, EPR y retina.

## 1.2. DEGENERACIÓN MACULAR ASOCIADA A LA EDAD

Con el paso del tiempo, la mácula puede sufrir una serie de daños que degeneran en determinadas patologías, entre ellas, la **degeneración macular asociada a la edad** (DMAE). La DMAE es una de las causas mayoritarias de pérdida de la visión central en los países desarrollados, afectando al 10% de la población mayor de 65 años y a más del 25% de la población mayor de 75 años. La DMAE es una enfermedad adquirida, caracterizada por un deterioro progresivo de la visión central. Esta pérdida de visión central viene dada por la aparición de unos depósitos formados por cúmulos de sustancias extracelulares polimorfas y lipofuscina, llamadas drusas. Estas drusas se localizan entre el EPR y la membrana de Bruch, y son un signo característico de esta enfermedad. El envejecimiento de las células del EPR y las alteraciones en la membrana de Bruch conducen a este cúmulo de sustancias. La aparición de drusas puede ir

precedida de un engrosamiento de las capas colágenas de la membrana de Bruch, una degeneración del colágeno y la elastina, y su posterior calcificación, lo cual puede llegar a producir atrofia geográfica (AG), un signo de DMAE avanzada. Por otro lado, puede observarse un adelgazamiento de la coriocapilar, lo que dificulta la eliminación de las sustancias acumuladas y aumente la formación de las drusas. Las drusas se clasifican según su tamaño, siendo las de menos de 63 mm de diámetro pequeñas, las que miden entre 63 y 124 mm las medianas, y las que miden más de 125 mm las grandes. Según el número y tamaño de drusas presentes en la mácula, la DMAE puede clasificarse según la gravedad en leve, intermedia o avanzada (5):

- A) No hay DMAE: presencia de 5 drusas pequeñas o menos.
- B) DMAE leve: elevado número de drusas pequeñas o presencia de al menos una drusa mediana.
- C) DMAE intermedia: se observan múltiples drusas medianas o más de una drusa grande.
- D) DMAE avanzada: presencia de AG o de neovascularización.

Además, la DMAE generalmente se clasifica en dos subtipos, según la aparición de nuevos vasos sanguíneos en la retina o no. La DMAE **seca o no exudativa** se caracteriza por la presencia de drusas y su posterior avance hacia la forma más grave de la enfermedad, la AG, debido a las lesiones en el EPR y la membrana de Bruch. Se cree que este avance se produce debido a factores inflamatorios y a la muerte de los fotorreceptores debido a las lesiones mencionadas. Por otro lado, tenemos la DMAE **húmeda o exudativa**, que es una forma avanzada de DMAE (6).

La DMAE húmeda es una enfermedad con numerosos factores de riesgo que juegan un papel en su avance. Estos factores de riesgo pueden ser modificables (consumo de tabaco y alcohol, alimentación) o no modificables (edad, genética). La edad es el factor de riesgo más alto asociado a la DMAE. Además, es de origen multifactorial, es decir, en su desarrollo y evolución actúan factores genéticos, metabólicos y medioambientales. Se caracteriza por la aparición de neovascularización coroidea (NVC), que es la aparición de nuevos vasos sanguíneos a través de la membrana de Bruch, y estos se infiltran en la retina. Estos vasos sanguíneos se forman debido a un aumento en la expresión de los

factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Los VEGF se ven aumentados debido a una serie de procesos inducidos por la lesión de los tejidos de la retina, y producen la formación de vasos anormales y débiles, que se rompen y producen la salida de sangre y lípidos, seguida de una posible formación de cicatrices fibrosas. Dentro de la familia de los VEGF, el objetivo de las terapias para la DMAE húmeda es el VEGF-A (7).

### **1.3. TRATAMIENTOS ACTUALES PARA LA DMAE HÚMEDA**

#### **a) Terapia láser**

La terapia con láser térmico solía ser el tratamiento fundamental de la DMAE húmeda. Los estudios de fotocoagulación macular demostraron efectividad en el tratamiento de la DMAE húmeda. La fotocoagulación con láser de argón provoca la regresión de la neovascularización coroidea mediante el uso de energía térmica para tratar directamente las lesiones neovasculares. Este tratamiento actualmente no se utiliza, debido a que se vio que producía riesgo de pérdida de visión permanente y alta tasa de recurrencia (3)(5).

A finales de la década de 1990, se introdujo la terapia fotodinámica (TFD). Consiste en la administración por vía intravenosa de un fotosensibilizador aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), la verteporfina, y se activa posteriormente mediante fotones con un láser rojo visible de baja energía, utilizando un tipo de lente de contacto específica. El colorante produce la formación radicales libres reactivos que producen un daño en el endotelio vascular e inducen la oclusión de otros nuevos vasos. Una gran ventaja de este compuesto es su selectividad, ya que los neovasos retienen con mayor avidéz el colorante, por lo que el fotosensibilizante puede dirigirse a la lesión sin dañar los tejidos circundantes (3). La TFD se utiliza hoy en día en casos en los que la monoterapia con anti-VEGF no da los resultados esperados, como coadyuvante (5).

#### **b) Terapia con agentes anti-VEGF**

Para tratar la DMAE húmeda, principalmente se utilizan fármacos con actividad anti-VEGF, ya que es el principal causante de la neovascularización coroidea. Estos fármacos se administran mediante inyecciones intravítreas, con una frecuencia mensual o bimensual entre dosis. Los principales compuestos anti-VEGF son los siguientes:

- Pegatinib: es el primer agente anti-VEGF aprobado por la FDA en el año 2004. Se trata de un aptámero de ARN que se une de manera específica al a isoforma VEGF-165.
- Ranibizumab: fue el siguiente compuesto aprobado por la FDA en el año 2006. Se trata de un fragmento de anticuerpo monoclonal humanizado cuyo objetivo son todas las isoformas de VEGF-A.
- Bevacizumab: consiste en un anticuerpo monoclonal recombinante humanizado anti-VEGF-A, cuya principal indicación es la administración sistémica como agente quimioterápico para tratar distintos tipos de cáncer. Debido a su bajo coste, comenzó a utilizarse bajo uso no autorizado para tratar diferentes patologías retinianas, entre ellas la DMAE húmeda.
- Aflibercept: fue aprobado por la FDA en 2011. Se trata de una proteína de fusión recombinante formada por los elementos de unión al ligando de los receptores 1 y 2 del VEGF humano, fusionados al fragmento cristizable de una IgG 1. Tiene elevada afinidad por todas las isoformas de VEGF-A y VEGF-B, además de por el factor de crecimiento placentario (3).
- Brolucizumab: aprobado por la FDA en 2019. Es un fragmento de anticuerpo monoclonal humanizado de cadena única, que se une con alta afinidad a todas las isoformas de VEGF-A (5).
- Faricimab: es el último fármaco aprobado por la FDA, en el año 2022. Consiste en un anticuerpo biespecífico que inhibe tanto las isoformas de VEGF-A como angiopoyetina-2 con una gran afinidad por ellos (8).

#### **1.4. NANOPARTÍCULAS**

En los últimos años, las perspectivas de los sistemas de nanopartículas son especialmente notables en la administración de fármacos desarrollados para la DMAE húmeda. Existen diferentes tipos de nanopartículas según su composición, y están diseñadas para encapsular fármacos de diversa naturaleza. Pueden diseñarse con diferentes tamaños, formas y propiedades de estabilidad. Las nanopartículas pueden estar compuestas por macromoléculas naturales o sintéticas. Entre las sintéticas, han sido muy utilizados los polímeros de poliéster alifático, tales como el ácido poliláctico-glicólico (PLGA) y el ácido poliláctico (PLA) como nuevos sistemas de liberación de fármacos debido a su buena estabilidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad. El uso de PLGA puede reducir la dosificación y la frecuencia de administración de los fármacos, mejorando y controlando la liberación de los mismos, disminuyendo la irritación del ojo, mejorando la llegada del fármaco a la parte posterior del ojo y, en definitiva, mejorando el tratamiento de la DMAE húmeda. Por otro lado, el uso de PLA ha demostrado ser efectivo en la selectividad de tejidos específicos del ojo (9). El aumento de la semivida de los agentes terapéuticos oculares puede reducir la dosis, los costes y la frecuencia entre inyecciones. Las estrategias alternativas para aumentar la semivida de los fármacos antiangiogénicos tras su administración por vía intravítrea sin perder efectividad incluyen dispositivos de liberación de fármacos basados en nanotecnología, tales como hidrogeles, liposomas, microesferas, micro/nanopartículas, etc (10). Las nanopartículas como portadoras de fármaco aumentan la biodisponibilidad del fármaco, además de reducir los efectos adversos. El desarrollo de nanotecnología ha sido probado para superar las barreras de la liberación ocular de fármacos, y mejorar la biocompatibilidad, estabilidad, eficiencia, sostenibilidad y controlabilidad (11).

## **2. ANTECEDENTES**

La DMAE húmeda se sitúa como la causa principal de pérdida de visión en los países desarrollados. En la actualidad, existen determinados tratamientos para

esta enfermedad, como la terapia fotodinámica o las inyecciones intravítreas con agentes anti-VEGF. Una gran limitación del tratamiento con anti-VEGF es el requerimiento de administrar inyecciones intravítreas mensuales o bimensuales, debido a que estos fármacos tienen una semivida muy corta y un aclaramiento rápido. Los riesgos que conllevan las inyecciones intravítreas incluyen desprendimiento de retina, hemorragia intravítrea, endoftalmitis, y cataratas. Esto, sumado a que el 45% de los pacientes no responde al tratamiento en monoterapia con agentes anti-VEGF, ha propiciado la búsqueda de nuevos sistemas de liberación del fármaco, nuevas vías de administración y nuevos fármacos capaces de revertir la NVC producida por la DMAE húmeda (12).

Actualmente, supone un gran reto obtener sistemas de liberación de fármacos eficientes que permitan alcanzar concentraciones terapéuticas en la retina, debido a la anatomía y fisiología del ojo, que presenta barreras físicas que lo dificultan (7).

Las nanoterapias aplicadas por vía intravítrea a las células del EPR se basan principalmente en la naturaleza fagocítica de éstas, ya que fagocitan los materiales endógenos, como los segmentos externos de los fotorreceptores y el material exógeno de las nanopartículas. A día de hoy, se está investigando la manera de dirigir la administración de fármacos específicamente al EPR. Existe un interés creciente en el desarrollo de nanopartículas como sistemas de liberación de fármacos en la cámara posterior ocular a través de la utilización de colirios, ya que no es invasiva y evita, en ocasiones, la necesidad de inyecciones intravítreas. Esto permite administrar agentes a la retina de forma alternativa, consiguiendo sostener la liberación del fármaco y reducir el riesgo de reacciones adversas. Las ventajas inherentes del uso de nanopartículas radican en, además de un aumento de superficie, la posibilidad de modificar las propiedades fisicoquímicas, tales como la permeabilidad, porosidad, estabilidad, diámetro o forma. Se han desarrollado distintos tipos de nanopartículas fusionadas con ligandos funcionales para el tratamiento de patologías oculares de la retina. Una de las propiedades fisicoquímicas más interesantes es el tamaño de las partículas, que influye en la disposición a través de las barreras estáticas y dinámicas oculares y en el grado de penetración de las nanopartículas (5).

Por todo lo mencionado, es de vital importancia la investigación tanto en nuevos fármacos como en nuevas vías de administración para mejorar la calidad de vida y adherencia al tratamiento en los pacientes que padecen DMAE húmeda.

### **3. OBJETIVOS**

El objetivo principal del presente Trabajo de Fin de Grado consiste en la elaboración de una revisión bibliográfica de los tratamientos basados en nanopartículas para la degeneración macular asociada a la edad húmeda. Para ello, los objetivos específicos para este proyecto son:

- Analizar los diferentes tratamientos, convencionales y no convencionales.
- Estudiar la utilización de nanopartículas como vehículos de distintos fármacos para el tratamiento de la DMAE húmeda.
- Evaluar los mecanismos de acción basados en el uso de nanopartículas en combinación con determinados fármacos.
- Ampliar el abanico de vías de administración para dar una alternativa a las que se llevan a cabo en las terapias actuales.

Con todo ello, se pretende que este trabajo pueda contribuir a entender mejor la degeneración macular asociada a la edad húmeda, sus diferentes opciones terapéuticas y vías de administración, para conseguir un mejor manejo terapéutico de la misma, así como disminuir los efectos negativos derivados del tratamiento y de la propia patología.

### **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica con el fin de revisar la literatura científica disponible relacionada con los tratamientos basados en nanopartículas para la degeneración macular asociada a la edad húmeda.

Se procedió a la búsqueda de bibliografía en las bases de datos MedLine (a través de PubMed), Embase y Scopus. Como palabras clave, se han utilizado “nanoparticles” y “wet age macular degeneration”, con el operador booleano [AND] (figura 2). Como criterios de inclusión se eligieron:

- Libre acceso al texto completo o, en su defecto, que se pudiera acceder por vía institucional.
- Publicados en los últimos 5 años.
- Escritos en inglés y en español.

Los criterios de exclusión utilizados fueron:

- La aparición de artículos repetidos en los buscadores elegidos.
- Los títulos de artículos que no coincidían con el tema a tratar.
- El uso de otros sistemas de liberación de fármaco que no fueran nanopartículas.

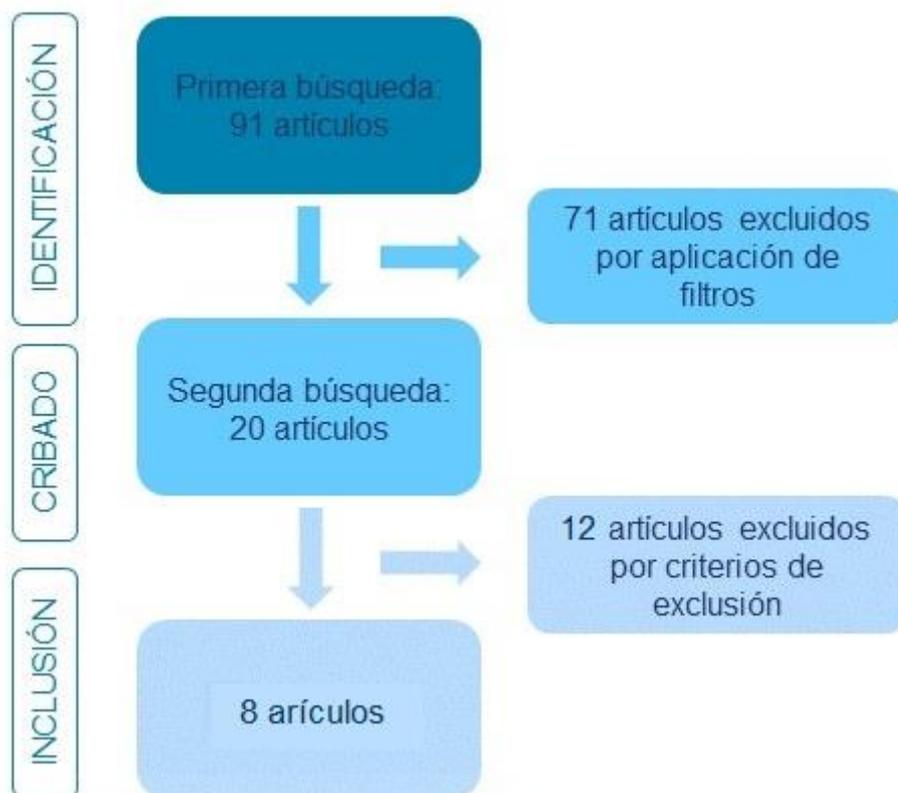


Figura 2. Diagrama de flujo de los artículos seleccionados.

TABLA 1. RESUMEN DE LOS ARTÍCULOS SELECCIONADOS

AUTORES	AÑO	TÍTULO
Reis JS Dos, Dos Reis Teixeira A, De Vasconcelos Quaresma A, Almeida TC, Arribada RG, Neto JT, et al.	2022	Sodium butyrate-loaded nanoparticles coated with chitosan for the treatment of neovascularization in age-related macular degeneration: Ocular biocompatibility and antiangiogenic activity.
Rudeen KM, Liu W, Mieler WF, Kang-Mieler JJ.	2022	Simultaneous Release of Aflibercept and Dexamethasone from an Ocular Drug Delivery System.
Tisi A, Pulcini F, Carozza G, Mattei V, Flati V, Passacantando M, et al.	2022	Antioxidant Properties of Cerium Oxide Nanoparticles Prevent Retinal Neovascular Alterations In Vitro and In Vivo.

Ran M, Deng Y, Yan J, Zhang A, Wei Y, Li X.	2022	Neovascularization-directed bionic eye drops for noninvasive renovation of age-related macular degeneration.
Li M, Xu Z, Zhang L, Cui M, Zhu M, Guo Y, et al.	2021	Targeted Noninvasive Treatment of Choroidal Neovascularization by Hybrid Cell-Membrane-Cloaked Biomimetic Nanoparticles.
Cai W, Chen Q, Shen T, Yang Q, Hu W, Zhao P, et al.	2020	Intravenous anti-VEGF agents with RGD peptide-targeted core cross-linked star (CCS) polymers modified with indocyanine green for imaging and treatment of laser-induced choroidal neovascularization.
Qiu F, Meng T, Chen Q, Zhou K, Shao Y, Matlock G, et al.	2019	Fenofibrate-Loaded Biodegradable Nanoparticles for the Treatment of Experimental Diabetic Retinopathy and Neovascular Age-Related Macular Degeneration.
Wang Y, Liu CH, Ji T, Mehta M, Wang W, Marino E, et al.	2019	Intravenous treatment of choroidal neovascularization by photo-targeted nanoparticles.

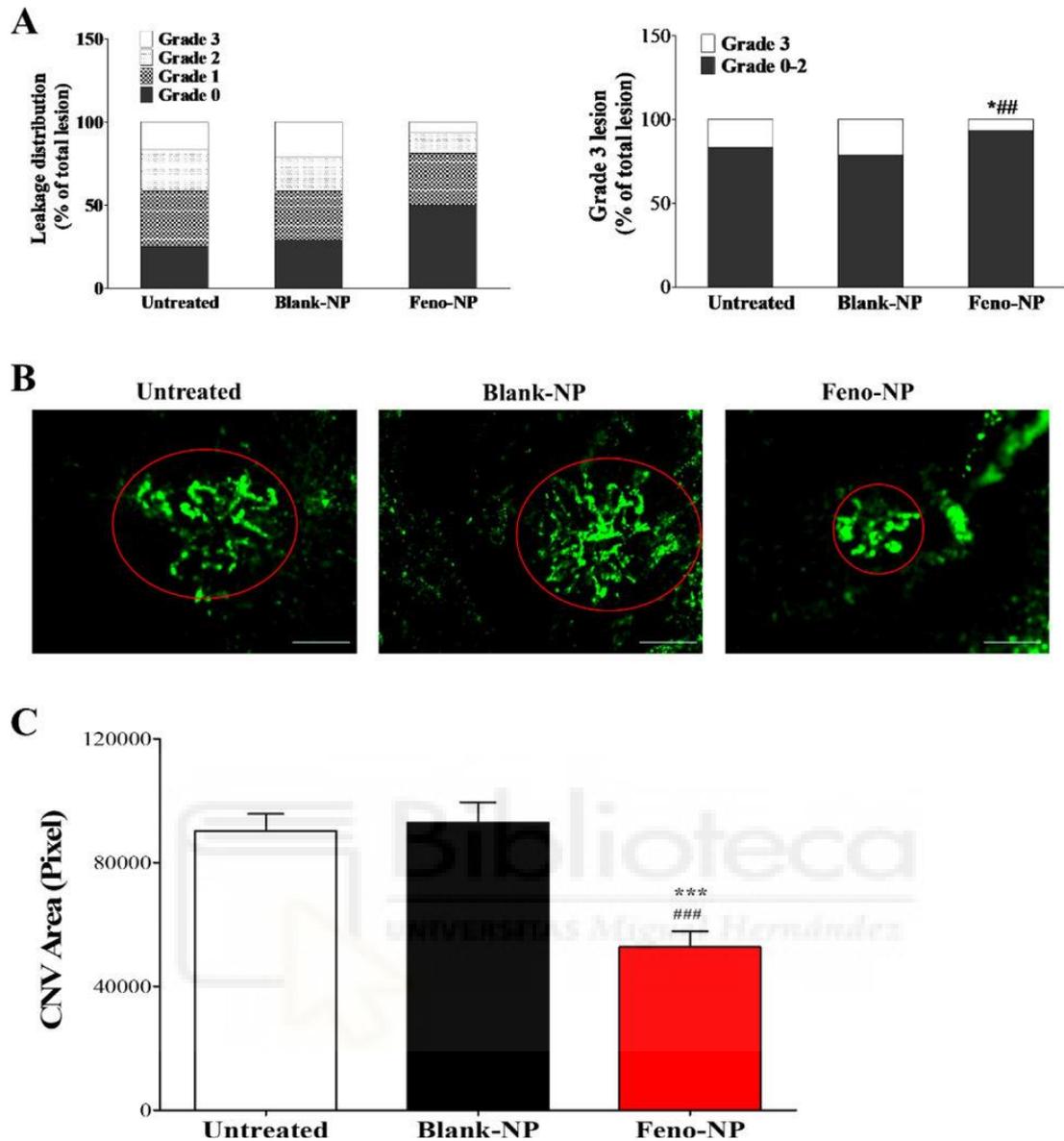
## 5. RESULTADOS

### 5.1. Tratamientos basados en nanopartículas con Fenofibrato

El fenofibrato es comúnmente utilizado en clínica para tratar dislipemias. Es agonista del receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPARalfa), el cual ha demostrado tener actividad antiangiogénica y antiinflamatoria. Además, presenta ventajas frente a los agentes anti-VEGF utilizados en la actualidad, ya que es de bajo coste y presenta menos efectos secundarios. La biodisponibilidad del fenofibrato por vía sistémica es baja, por lo que se necesitan otros sistemas de liberación del fármaco. En el estudio realizado por Qiu et al. (12), mediante un método de emulsificación, se formularon nanopartículas de PLGA cargadas con fenofibrato (Feno-NP), con

alta carga de fármaco y perfil de liberación sostenida. El objetivo consistía en analizar la efectividad del Feno-NP sobre la NVC. Se utilizaron modelos de roedores a los que se les indujo NVC mediante láser y se les dividió en dos grupos: a un grupo se le administró Feno-NP por inyección intravítrea (grupo Feno-NP) y al otro grupo se le administró nanopartículas con PLGA en ausencia de fenofibrato (grupo Blank-NP). La distribución de las lesiones de la NVC con diferentes grados de fuga fue evaluada mediante angiografía con fluoresceína de fondo de ojo (FFA) (Figura 3A).

La incidencia de las lesiones de grado 3 (clínicamente significativas) disminuyó en un 70% en el grupo Feno-NP, y no hubo cambios en el grupo Blank-NP, en comparación al grupo de control sin tratamiento. Para evaluar los efectos antiangiogénicos del Feno-NP, el área de NVC fue medida en montajes planos coroidales, seguidos de una angiografía con isotiocianato de fluoresceína-dextrano (FITC-dextrano) (figura 3A). El área de NVC disminuyó en un 43% en el grupo Feno-NP, en comparación con el grupo Blank-NP (figura 3B, C). Los resultados de este estudio demuestran que las inyecciones intravítreas de Feno-NP reducen la permeabilidad vascular y la NVC en ratas con NVC inducida por láser (12).



**Figura 3.** Efecto del Feno-NP sobre la fuga vascular y la formación de NVC en el modelo de roedor con NVC inducida por láser. (A) Distribución de los grados de las lesiones y la incidencia de las lesiones de grado 3 con FFA. (B) Imágenes representativas del montaje plano coroidales. Los círculos rojos indican las lesiones de NVC Escala = 50  $\mu$ m. (C) Datos de cuantificación del área de la NVC en el montaje plano de la coroides.

## 5.2. Tratamientos basados en nanopartículas con Butirato de sodio

El Butirato es un ácido graso de cadena corta derivado de la microbiota intestinal, que en su forma de sal (Butirato de sodio, NaBu) disminuye la expresión de VEGF, con una consiguiente actividad antiangiogénica. En este estudio de Reis et al. (13) se utilizaron nanopartículas de poli e-caprolactona y quitosano (nanopartículas/CS) cargadas con NaBu usando un método de doble emulsificación y evaporación del solvente, debido al carácter hidrofílico del

NaBu. Se prepararon 8 formulaciones modificando tres parámetros independientes: (A) masa de poli e-caprolactona (mg), (B) tiempo de mezcla (min) y (C) concentración de acetato de polivinilo (PVA) (% p/V). De las 8 formulaciones, la más apropiada fue la número 7, ya que usando bajas concentraciones de (A) y (C) se obtuvo el menor tamaño de partícula e índice de polidispersión. Además, esta formulación presentó el potencial z más alto. Con estas características, esta formulación fue la que mayor eficacia de encapsulación del NaBu obtuvo.

Previo al ensayo *in vivo*, se realizó una prueba de irritación ocular en la capa corioalantoidea de huevos de gallina (HET-CAM). Las nanopartículas/CS cargadas con NaBu a una concentración de  $34,4 \mu\text{g mL}^{-1}$  no mostraron signos de irritación, demostrando biocompatibilidad ocular (figura 4) (13).

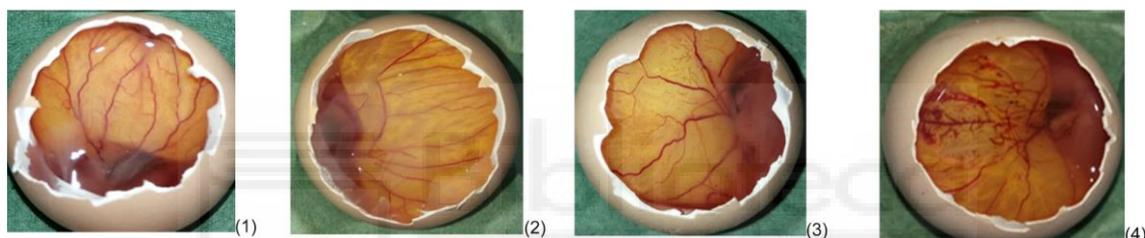


Figura 4. Prueba de HET-CAM. CAM expuesto a (1) nanopartículas/CS cargadas con NaBu, (2) nanopartículas/CS no cargadas, (3) NaBu puro a una concentración de  $34,4 \mu\text{g mL}^{-1}$  y (4) solución de NaOH a una concentración de  $0,1 \text{ mol/L}$ , que produjo hemorragia en la superficie de la CAM (control positivo).

Para el estudio *in vivo*, se administró por vía intravítrea a los roedores las distintas formulaciones, y fueron divididos en tres grupos: el grupo control sin tratamiento, el grupo que recibió nanopartículas/CS con NaBu y el grupo que recibió NaBu puro. Se investigó la morfología de los tejidos de la cavidad posterior ocular de los roedores del grupo de control y de los que recibieron nanopartículas/CS cargadas de NaBu y NaBu puro a una concentración de  $34,4 \mu\text{g mL}^{-1}$  tras 14 días después de la inyección intravítrea. Las capas de la retina de los roedores del grupo control y del grupo en contacto directo con las nanopartículas se mostraron prácticamente intactas, ya que las células del EPR y la neuroretina estaban estrechamente conectadas y los fotorreceptores estaban completamente organizados. Además, no se detectaron células inflamatorias infiltradas ni hemorragias. En cambio, el NaBu puro provocó la

desorganización de la capa del EPR y el desprendimiento de retina (figura 5) (13).

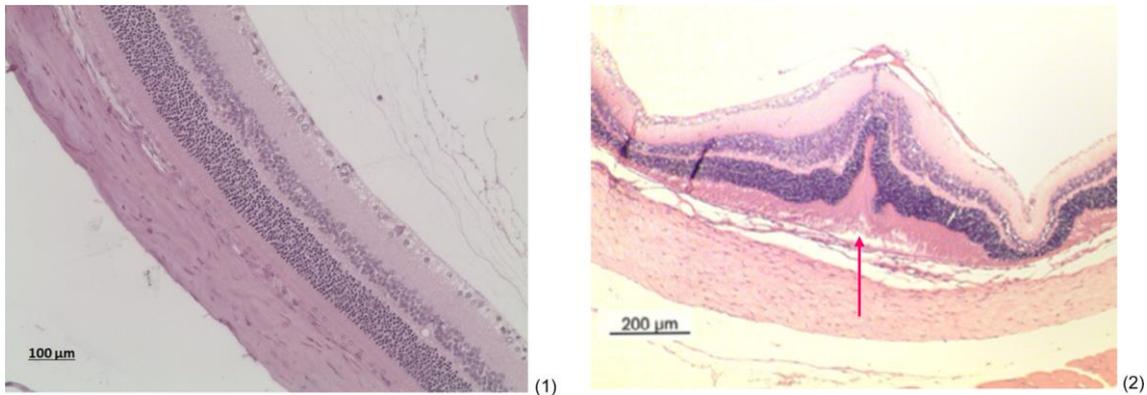


Figura 5. Secciones histológicas de la retina obtenidas tras 14 días de la inyección intravítrea de nanopartículas/CS cargadas con NaBu (1) y NaBu puro a concentración de  $34,4 \mu\text{g mL}^{-1}$  (2).

La actividad antiangiogénica de las nanopartículas/CS cargadas con NaBu se comparó con la del fármaco Bevacizumab en un ensayo *in vivo* realizado en HET-CAM. El porcentaje de vasos sanguíneos que permanecían en la CAM se redujo significativamente tras la aplicación de nanopartículas/CS cargadas con NaBu ( $57,35 \% \pm 11,35$ ), NaBu puro a  $34,4 \mu\text{g mL}^{-1}$  ( $67,58 \% \pm 7,53$ ) y bevacizumab ( $63,87 \% \pm 14,56$ ), en comparación con el grupo de control (figura 6) (13).

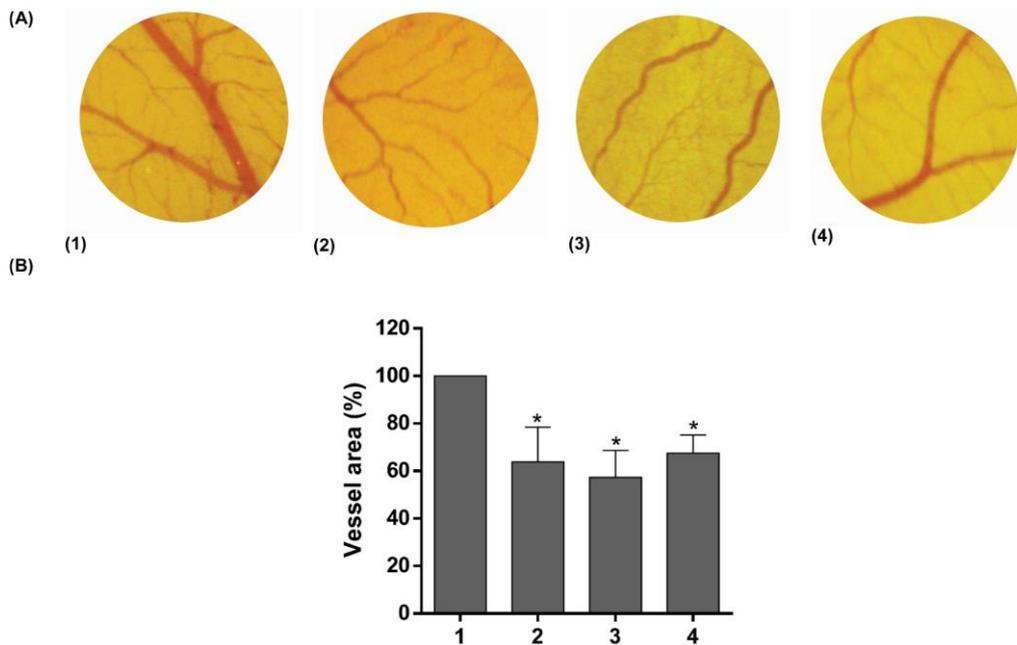


Figura 6. (A) imágenes representativas del área de los vasos sanguíneos observada en la CAM. (B) Porcentaje de vasos sanguíneos que permanecían en la CAM después de la aplicación de los tratamientos: (1) grupo control; (2) bevacizumab; (3) nanopartículas/CS cargadas con NaBu; (4) NaBu puro a una concentración de  $34,4 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

### 5.3. Nanopartículas biomiméticas

En este estudio, se utilizó una estrategia antiangiogénica biomimética para tratar la NVC. Las células endoteliales de la retina son las que expresan mayor cantidad de receptor 2 de VEGF (VEGFR2), el cual es mediador de VEGF-A. En este estudio, desarrollaron nanopartículas derivadas de membrana de endotelios retinales (RECNP) como agentes anti-VEGF. Estas nanopartículas biomiméticas actuarían de bloqueadores de la unión de VEGF-A a los receptores de la retina. Además, la capacidad de autorreconocimiento de las nanopartículas recubiertas de membrana permite a las RECNP dirigirse a los endotelios de la retina.

Para el ensayo *in vivo*, se fusionaron membranas de eritrocitos para formar nanopartículas de membrana celular híbrida ([RBC-REC]NPs), debido a la presencia de receptores que evitan la fagocitosis (por ejemplo, CD47), y así aumentar la concentración del fármaco en los tejidos oculares. Para demostrar la actividad terapéutica de las [RBC-REC]NPs, fueron utilizados modelos de roedores con NVC inducida por láser, a los que se les administró el tratamiento.

Los roedores fueron divididos en cuatro grupos: grupo tratado con suero fisiológico, grupo tratado con RBCNPs, grupo tratado con RECNP y grupo tratado con [RBC-REC]NPs. Los tratamientos se administraron por vía intravenosa.

Para analizar la fuga y el área de NVC, se realizó una FFA y una angiografía con verde de indocianina (ICGA). La fuga y el área de NVC en los grupos tratados con [RBC-REC]NPs y RECNP se redujeron significativamente en comparación con el grupo que recibió el suero fisiológico. Finalmente, se demostró que los roedores que recibieron RBCNPs no experimentaron cambios notables en sus ojos (14).

#### **5.4. Nanopartículas para la administración simultánea de Aflibercept y Dexametasona**

Aproximadamente del 45% de los pacientes tratados con anti-VEGF en monoterapia no responden al tratamiento. Debido a que la NVC se desarrolla por dos vías, la inflamatoria y la angiogénica se ha demostrado que los agentes anti-VEGF en combinación con Dexametasona producen mayor efecto en estos pacientes que no responden a la monoterapia, debido a la dualidad del efecto de acción. Un defecto de este tratamiento es la necesidad de aplicar inyecciones intravítreas mensuales o bimensuales de anti-VEGF y, además, inyecciones intravítreas cada 6 meses del corticoesteroide, lo cual dificulta aún más la adherencia del paciente. En este estudio, se propone un sistema de liberación de ambos fármacos de manera simultánea, introduciendo nanopartículas de PLGA cargadas de dexametasona (DEX-np) y micropartículas de PLGA cargadas de Aflibercept (AFL-mp) en un hidrogel de poli(etilenglicol)-co-(ácido L-láctico) diacrilato-N-isopropilacrilamida (Combo-DDS) biodegradable y termoresponsivo para un ensayo *in vitro*. El fármaco DEX-np fue formulado mediante la técnica de emulsión simple, y AFL-mp mediante doble emulsificación modificada. Para determinar la cinética de liberación, se evaluó DEX-np en diferentes dosis de carga (20, 40, 60 y 80 mg/ml) en 1 ml de DDS. Después de 100 días de liberación, la dosis de carga de 20 mg/ml mostró una liberación sostenida (figura 7) (15).

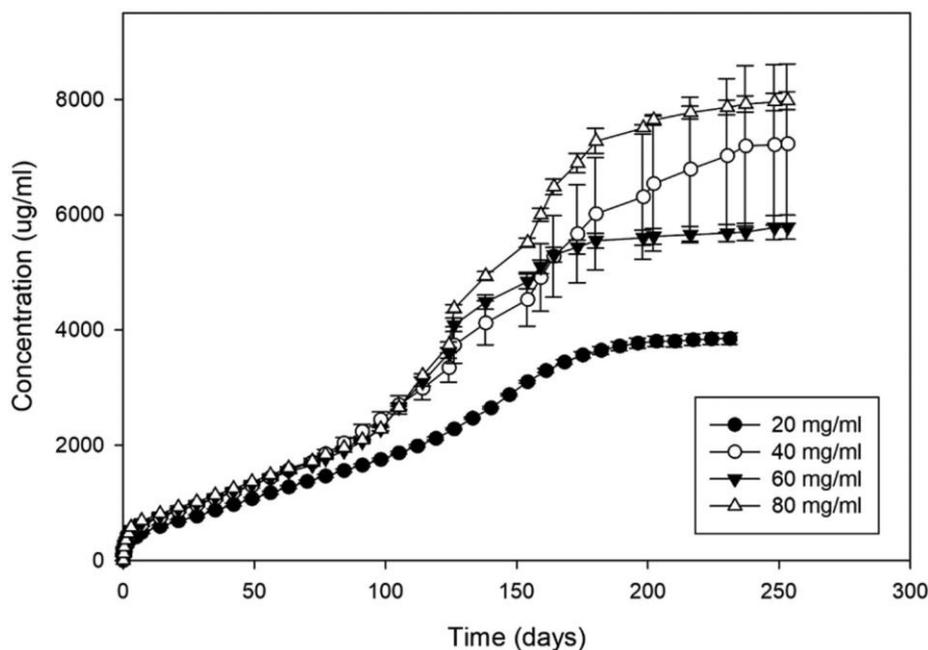


Figura 7. Liberación *in vitro* de DEX-DDS con dosis de carga de 20, 40, 60 y 80 mg/ml de nanopartículas cargadas con dexametasona.

Estos resultados, sumados a los riesgos que conlleva el uso de dexametasona a largo plazo, llevaron a tomar esta dosis de carga para la formulación final (Combo-DDS) con el fin de minimizar reacciones adversas. Tras el ensayo *in vitro*, no se observaron diferencias en la farmacocinética de DEX-DDS y AFL-DDS por separado, en comparación con Combo-DDS. Se consiguió un tiempo de liberación de ambos fármacos desde el hidrogel de aproximadamente 200 días. Estos datos sugieren que el Combo-DDS ha demostrado ser un método efectivo para liberar de manera simultánea Aflibercept y Dexametasona cada 6 meses, lo cual disminuye el número de inyecciones en los pacientes, aumentando su adherencia al tratamiento (15).

### 5.5. Tratamiento con nanopartículas fotodirigidas

En este estudio, se inyectaron por vía intravenosa nanopartículas marcadas mediante la adición de un copolímero PEG-PLA poli(óxido de etileno)-ácido poli (D,L-láctico) unido a un colorante hidrofílico 4' (aminometil)fluoresceína (AMF) en ratones con NVC inducida por láser. Las administraciones se llevaron a cabo en los siguientes grupos: el grupo 1 recibió nanopartículas de PEG-PLA no modificadas (NP-AMF), el grupo 2 recibió nanopartículas modificadas con

péptido de penetración celular (NP-AMF-CPP), el grupo 3 recibió nanopartículas modificadas con CPP Tat-C enjaulado, sin irradiación (NP-AMF-[CPP]) y por último al grupo 4 se le administró NP-AMF-[CPP] con irradiación (NP-AMF-[CPP] + hv). Pasadas 24h, se sacrificó a los ratones y se evaluó la acumulación de NPs en las lesiones producidas por la NVC, mediante la medición de la intensidad de fluorescencia. El grupo 4 presentaba mayor fluorescencia que el resto, debido a la mayor acumulación de NPs. Además, se evaluó el efecto terapéutico de estas nanopartículas sobre la NVC de los roedores inducida por láser.

La doxorrubicina tiene propiedades antiangiogénicas, por lo que se cargaron nanopartículas con dicho fármaco (NP-[CPP]-doxo), comparándolo con el grupo control, al que se administró tampón fosfato salino (PBS). Siete días después de la inducción de las lesiones, se administró el tratamiento. A un grupo PBS, a otro grupo solo NP-[CPP], a otro grupo fármaco libre, a otro NP-[CPP]-doxo sin irradiar y al último NP-[CPP]-doxo irradiado. Tras el tratamiento, se observó una disminución del 46,1% del área de las lesiones de la NVC en los ratones tratados con NP-[CPP]-doxo + hv comparado con el grupo control (PBS) (16).

## **5.6. Tratamiento con nanopartículas de Óxido de Cerio**

Una de las características de la DMAE húmeda es su fisiopatología multifactorial. Uno de los factores de riesgo más importantes es el estrés oxidativo al que se ven expuestas las células de los tejidos oculares. Han sido evaluados el efecto antioxidante y protector de las nanopartículas de CeO<sub>2</sub> (CeO<sub>2</sub>-NPs) (17). Para destacar los efectos antioxidantes se utilizó un modelo *in vitro* de células humanas ARPE-19. De esta forma, la finalidad fue comprender si la disfunción de ARPE-19 inducida por el estrés oxidativo podría promover la neovascularización en células HUVEC y si podría prevenirse mediante el tratamiento con CeO<sub>2</sub>-NPs. en este estudio

En el estudio *in vivo*, se quiso evaluar la capacidad de CeO<sub>2</sub>-NPs en la regulación de la expresión de VEGF para contrarrestar la NVC de la DMAE húmeda. se indujo por luz de alta intensidad la NVC en ratas albinas durante 24h, y fueron sacrificadas tras 7 días. Un grupo recibió inyección intravítrea de CeO<sub>2</sub>-NPs tres

días antes de la exposición a la luz de alta intensidad (CeO<sub>2</sub>-NPs-LD), y fue comparado con un grupo sin tratar que recibió luz de alta intensidad (LD), un grupo control sano (CTRL) y un grupo control sano que recibió CeO<sub>2</sub>-NPs (CeO<sub>2</sub>-NPs-CTRL). Al inicio y al final del experimento se realizó un electroretinograma, con el fin de evaluar el efecto protector de CeO<sub>2</sub>-NPs y el estado fisiológico del roedor. Con respecto a los niveles de VEGF-A, se observó un descenso significativo en el grupo CeO<sub>2</sub>-NPs-LD con respecto al grupo LD, y no se detectó ningún cambio en el grupo CeO<sub>2</sub>-NPs-CTRL con respecto al CTRL. Al mismo tiempo, se investigó la capacidad de CeO<sub>2</sub>-NPs de prevenir la NVC de la retina y la infiltración de nuevos vasos desde la coroides hasta la capa de fotorreceptores. El sistema vascular de la retina se investigó mediante retinas enteras montadas y teñidas con Isolectina B4 (IB4). Para ello, se administró una inyección intravítrea de CeO<sub>2</sub>-NPs previa a la exposición a la luz de alta intensidad (grupo CeO<sub>2</sub>-NPs-LD), que condujo a una inhibición de la NVC en el plexo profundo de la retina. Además, el porcentaje del área de la NVC resultó similar al grupo CTRL, y significativamente más bajo en comparación con el grupo LD. CeO<sub>2</sub>-NPs también inhibe la entrada de los vasos en la capa de los fotorreceptores. Los datos obtenidos en este estudio sugieren que CeO<sub>2</sub>-NPs previenen las alteraciones vasculares de la retina de manera efectiva (figura 8) (18).

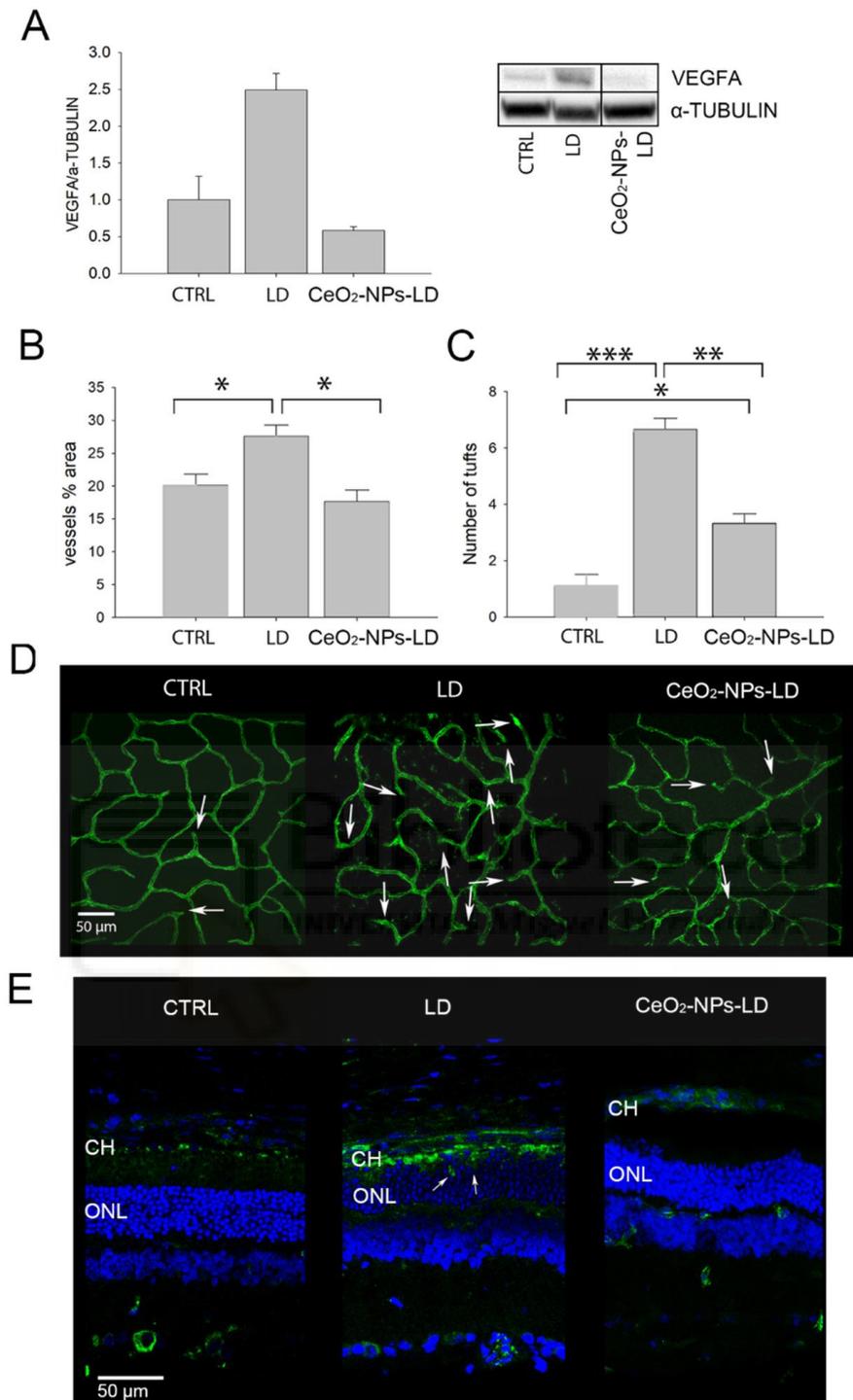


Figura 8. La inyección intravítrea de CeO<sub>2</sub>-NPs previene la NVC en el grupo de roedores modelo LD. (A) Análisis Western blot de VEGF-A en los grupos CTRL, LD y CeO<sub>2</sub>-NPs. (B, C) Análisis de los vasos en el plexo profundo de la retina (B) porcentaje de área de vasos y (C) número de ramificaciones de la NVC. (D) Imágenes confocales representativas de las retinas enteras montadas y teñidas con IB4, las flechas blancas indican las ramificaciones. (E) Imágenes confocales representativas de criosecciones de retina teñidas con IB4 (verde) y contratinción con bisbenzimidazole (azul). Las flechas blancas indican los vasos que brotan de la coroides hacia la capa externa nuclear.

## 5.7. Tratamiento basado en nanopartículas con anti-VEGF intravenoso con péptido RGD

Entre los diversos receptores de proteínas específicas de la matriz extracelular, las integrinas están implicadas en diversas enfermedades asociadas a la angiogénesis como la angiogénesis ocular, los tumores y el ictus isquémico. Algunos investigadores han informado de que los receptores de integrinas, especialmente  $\alpha\beta3$ , están sobreexpresados en tejidos de retina o coroides de pacientes con DMAE, lo que sugiere que la integrina  $\alpha\beta3$  podría actuar como diana de administración de fármacos para la NVC. La arginina glicina-ácido aspártico (RGD) es capaz de unirse específicamente a la integrina  $\alpha\beta3$ . Anteriormente reportaron que los polímeros reticulados en estrella con núcleo (CCS) actúan como intermediarios entre los polímeros lineales y las nanopartículas poliméricas (19). En este estudio, se desarrolla un polímero de PEG CCS (S-PEG) modificado con RGD y verde de indocianina (ICG), cargado con ranibizumab (RBZ) para formar S-PEG-ICG-RGD-RBZ NPs para el tratamiento de la NVC. Se indujo la NVC por láser en roedores a los que se le administró la formulación por vía intravenosa. Los roedores fueron separados en 5 grupos: grupo control, grupo PBS, grupo vehículo, grupo al que se administraron las nanopartículas de S-PEG-ICG-RGD-RBZ por vía intravenosa (grupo NP) y grupo al que se administró Ranibizumab por inyección intravítrea (grupo RBZ). Al caracterizar el área de NVC por fluorescencia, se observó que las fugas de los vasos en los grupos tratados con NPs y con RBZ disminuyeron notablemente. Mediante la preparación de un montaje plano del EPR-coroide-esclera por perfusión con FITC-dextrano y su consiguiente marcaje con isolectina B4 (IB4), se comparó el área de las lesiones de la NVC entre los distintos grupos de roedores. Los grupos tratados con PBS y con vehículo mostraron áreas similares,  $12923.18 \pm 3325.11 \mu\text{m}^2$  y  $13106.10 \pm 3660.18 \mu\text{m}^2$ , respectivamente. El área de las lesiones en el grupo tratado con NPs fue de  $2403.31 \pm 320.43 \mu\text{m}^2$ , un descenso significativo en comparación al grupo PBS y vehículo. Por otro lado, el grupo tratado con inyección intravítrea de RBZ presentó un área similar de  $2529.60 \pm 139.08 \mu\text{m}^2$ . Estos datos indican que el tratamiento intravenoso con NPs ha supuesto una estrategia efectiva en la regresión de las lesiones de la NVC (figuras 9 y 10) (20).

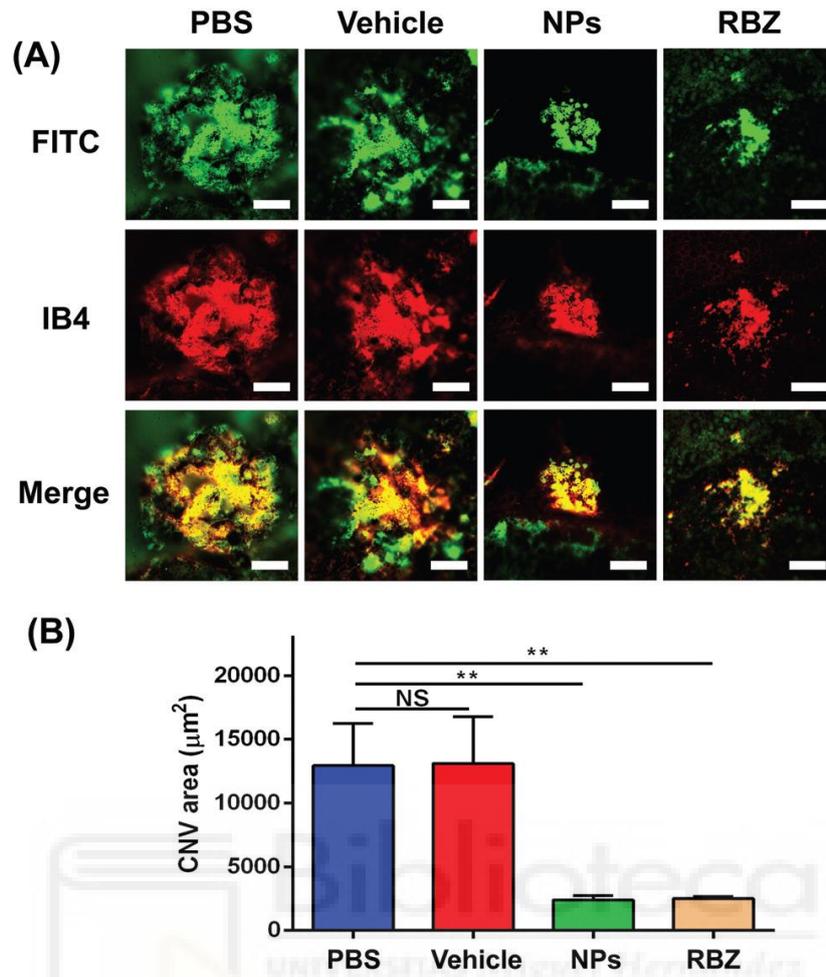


Figura 9. (A) Imágenes de las áreas de NVC con FITC-dextrano y tinción con IB4 tomadas con microscopio de fluorescencia en los 4 grupos. (B) Las áreas de NVC fueron cuantificadas con el software ImageJ.

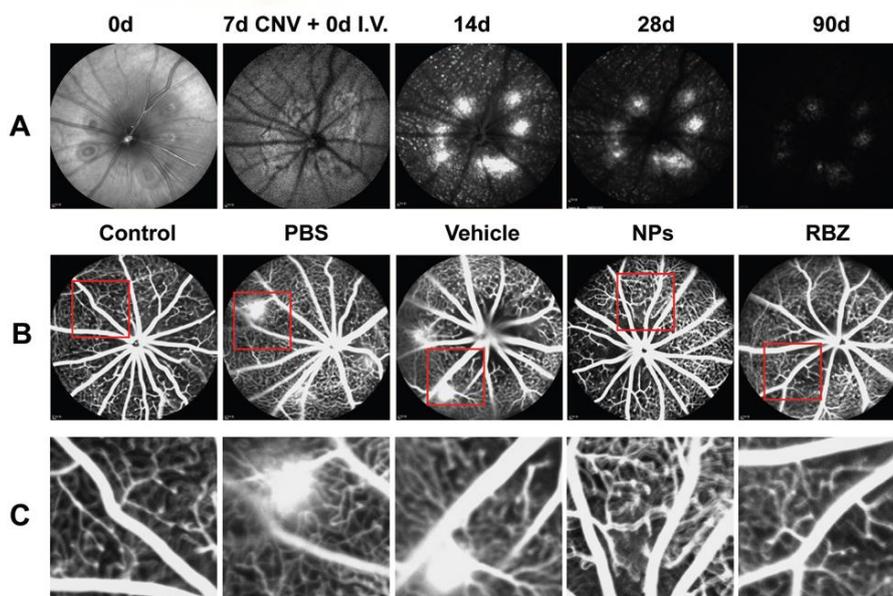
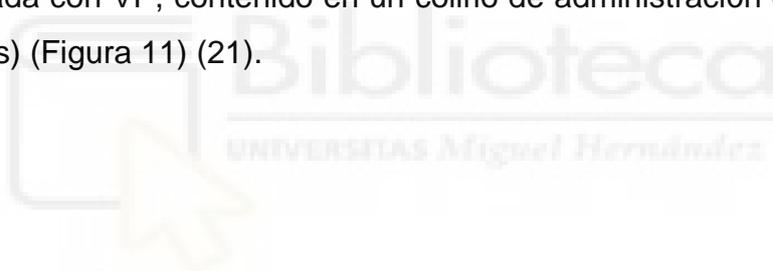


Figura 10. (A) Imágenes de reflectancia por infrarrojo cercano capturada en diferentes puntos incluyendo día 0 y día 7 después de la administración del láser, y días 14, 28 y 90 después de la inyección intravenosa de las NPs. (B) La FFA fue realizada para observar la lesión de la NVC. (C) Amplificación de la fuga de fluoresceína en cinco grupos tras la inyección intravítrea de NPs en el día 28.

### **5.8. Nanopartículas de lipoproteína de baja densidad (LDL) cargadas con Verteporfina en gotas oculares**

La terapia fotodinámica (TFD) es una estrategia menos invasiva de administración de fármacos para el tratamiento de la DMAE húmeda. La eficacia de la TFD se atribuye a una producción de singletes de oxígeno por parte del fotosensibilizador, la verteporfina (VP), lo que provoca una activación plaquetaria, trombosis y oclusión selectiva de las lesiones de NVC irradiadas por láser. Sin embargo, la administración intravenosa de VP puede producir reacciones adversas, como fototoxicidad sistémica, con una baja eficacia de distribución. En la superficie de las células endoteliales de las lesiones de NVC, hay una sobreexpresión de receptores de LDL, lo que ha llevado a investigarlo como diana terapéutica para el tratamiento de la DMAE húmeda. En este estudio, se diseñó una nanopartícula que consiste en LDL reconstituida y penetratina (PEN), cargada con VP, contenido en un colirio de administración ocular (PEN-rLDL-VP NPs) (Figura 11) (21).



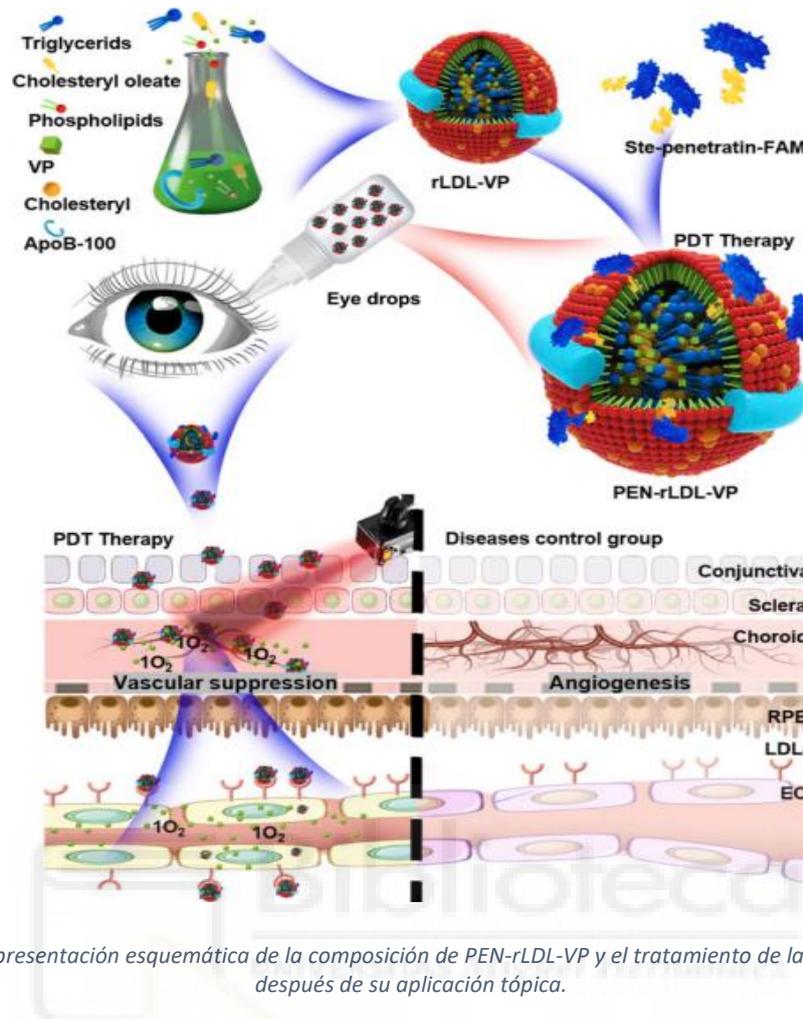


Figura 11. Representación esquemática de la composición de PEN-rLDL-VP y el tratamiento de la DMAE húmeda después de su aplicación tópica.

Se utilizaron modelos de ratones con NVC inducida por láser, y se separaron en 4 grupos: grupo de ratones sanos, grupo de ratones control, grupo al que se le administró rLDL-VP y grupo al que se le administró PEN-rLDL-VP NPs, estos dos últimos grupos fueron tratados a los 21 días de promover la lesión. Se investigó si la adición de PEN originaría la liberación de VP desde la superficie ocular hacia la cavidad posterior del ojo. Los niveles de VP en el tejido retino-coroideo fueron determinados por cromatografía líquida-espectrofotometría de masas (LC-MS). El grupo tratado con rLDL-VP presentó un área bajo la curva (AUC) de 3900 ng\*h/g de VP, mientras que el grupo tratado con PEN-rLDL-VP obtuvo un AUC de 9400 ng\*h/g, lo que confirma que la adición de PEN es efectiva. Por otro lado, se evaluó el área de fugas vasculares y la inhibición de la NVC. Pasadas 2 horas tras la administración de rLDL-VP y de PEN-rLDL-VP, se procedió a la irradiación por láser para activar la VP. Posteriormente, a los 24 días se hizo una FFA. Los vasos sanguíneos del grupo sano no habían sufrido ningún cambio. El grupo control presentaba un área de fuga de 7639  $\mu\text{m}^2$ , área

bastante amplia. El grupo que recibió tratamiento con rLDL-VP en conjunto con el láser presentaba un área de fuga de 3188  $\mu\text{m}^2$ , lo que indica relativa reparación de los vasos. El grupo tratado con PEN-rLDL-VP + láser presentó un área de 1930  $\mu\text{m}^2$ , mucho menor con respecto al grupo control, lo cual nos indica de nuevo que la introducción de PEN ayuda a que el fármaco llegue a los tejidos en mayores concentraciones. Con respecto a la presencia de nuevos vasos, se observó que en el grupo rLDL-VP había una reducción significativa con respecto al grupo control, pero lo más destacable es que la reducción fue mucho mayor en el grupo PEN-rLDL-VP. Se evaluó también la expresión de VEGF y de molécula de adhesión 1 (ICAM-1) mediante la técnica de Western Blot. Los niveles de VEGF y de ICAM-1 disminuyeron en un 54% y un 70%, respectivamente, con el tratamiento con PEN-rLDL-VP, y en el caso del grupo rLDL-VP se observó una disminución de VEGF e ICAM-1 de un 50% y un 55%. Por último, se utilizó como sujeto a conejos, debido a su sensibilidad ocular, para hacer un ensayo de irritación ocular *in vivo*. Ambos grupos tratados con VP (rLDL-VP y PEN-rLDL-VP) presentaron ausencia de irritación ocular y los tratamientos resultaron seguros para su administración ocular (Figura 12) (21).

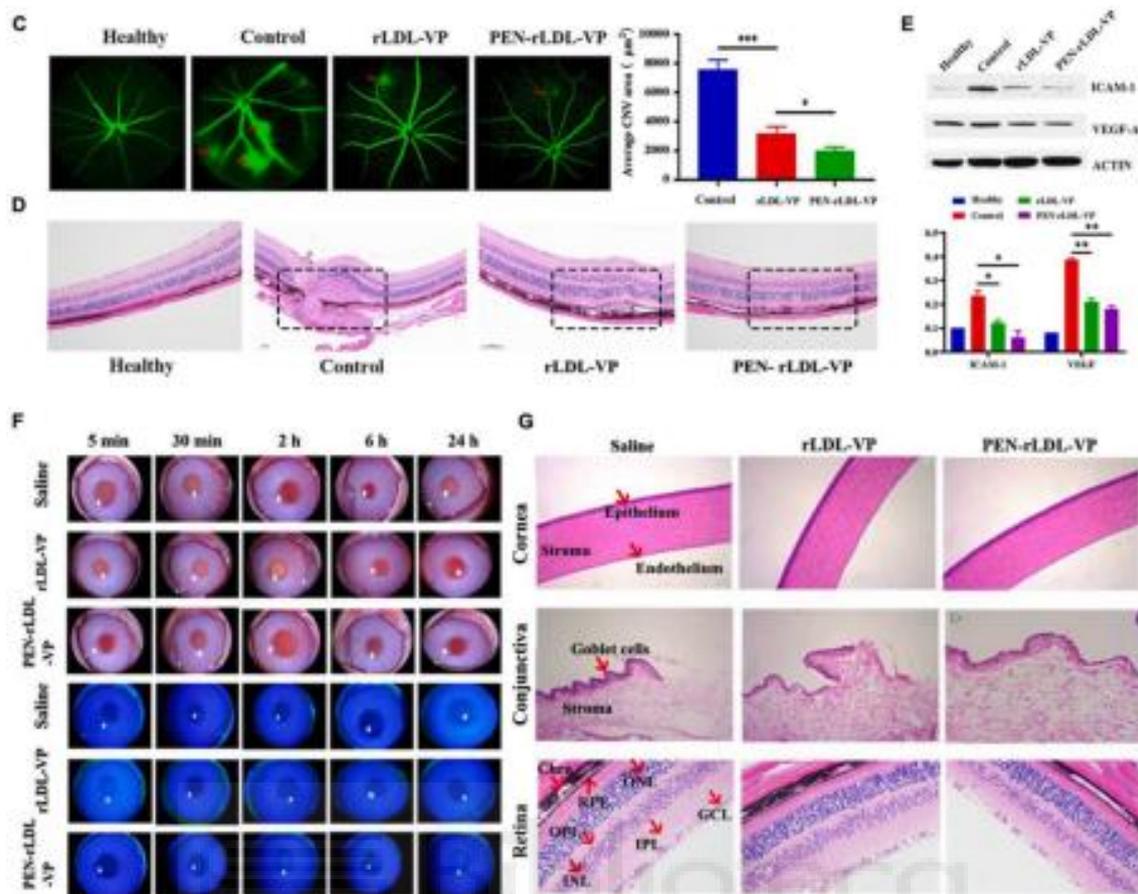


Figura 12. (A) Área bajo la curva (AUC) de las gotas oculares de rLDL-VP, de PEN-rLDL-VP, rLDL-VP-I.V. y PEN-rLDL-VP-I.V. en diferentes tejidos oculares. (B) La concentración media de VP de las gotas oculares de rLDL-VP, de PEN-rLDL-VP, rLDL-VP-I.V. y PEN-rLDL-VP-I.V. en la retina-corioides. (C) Ejemplos representativos de FFA del grupo sano, del grupo no tratado, del grupo rLDL-VP y del grupo PEN-rLDL-VP en el día 24 y análisis de cuantificación de las áreas de NVC en el día 24. (D) Imágenes de secciones de la retina de los grupos experimentales teñidas con hematoxilina-eosina en el día 28. (E) Efectos de rLDL-VP y PEN-rLDL-VP sobre la expresión de VEGF e ICAM-1 en modelos de NVC en el día 28 y resultado cuantificado del análisis de Western blot por el software ImageJ (21)

## 6. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se pretende hacer una revisión de las posibles estrategias a seguir para tratar la DMAE húmeda de manera diferente a la habitual. Cabe destacar dos aspectos: las estrategias terapéuticas y las vías de administración.

En cuanto a las estrategias terapéuticas, para el tratamiento de la DMAE se persigue la inhibición de los VEGF, pero se han investigado otras vías, como las que se comentan a continuación. En el trabajo de Qiu et al. (12), la molécula protagonista es el PPAR $\alpha$ . Se trata de un factor de transcripción nuclear, y está implicado en la regulación de varios procesos biológicos, tales como la función vascular, el estrés oxidativo y la inflamación. El fenofibrato actúa como agonista de este factor, y ha demostrado tener actividad antiinflamatoria y antiangiogénica

en DMAE húmeda. Debido a sus propiedades farmacocinéticas, es necesario el uso de sistemas de liberación de fármacos que permitan obtener concentraciones terapéuticas en el lugar de acción, por lo que se han formulado nanopartículas cargadas con fenofibrato que han demostrado tanto biocompatibilidad celular, como actividad antiangiogénica (12). Otra de las estrategias exploradas es el uso de nanopartículas biomiméticas. Los receptores VEGFR2 se sobreexpresan en las células endoteliales de las zonas lesionadas de la NVC. Estos receptores son los principales mediadores del factor VEGF-A, que juega un papel muy importante en la angiogénesis propia de la DMAE húmeda. En el trabajo de Li et al. (14) el objetivo es el desarrollo de nanopartículas biomiméticas derivadas de membrana de endotelio (RECNP), en cuya superficie presenta receptores VEGFR1 y 2, y su mecanismo consiste en absorber los ligandos VEGF-A y así evitar su acción angiogénica. Para aumentar la biodisponibilidad de estas nanopartículas, se fusionaron con membranas de eritrocitos, con capacidad antifagocítica. Esta vía también mostró mejoras en la NVC (14). Por otro lado, se estudia como diana el receptor de integrinas  $\alpha\beta3$ , sobreexpresado en la retina y la coroides de pacientes que padecen DMAE húmeda. Cai et al. (20) desarrollaron una nanopartícula que consiste en un anti-VEGF (Ranibizumab) ligado al péptido RGD que posee actividad sobre el receptor de integrinas, mostrando un efecto terapéutico satisfactorio en las lesiones de NVC (20). También cabe mencionar la vía utilizada por Ran et al., consistente en el desarrollo de nanopartículas con LDL modificado cargadas con verteporfina, capaz de unirse a los receptores de LDL sobreexpresados en la superficie de las células endoteliales de los vasos nuevos de la NVC. Esta estrategia facilita la liberación de la verteporfina en su lugar de acción, y ha dado muy buenos resultados con respecto a la supresión de la NVC (21). Uno de los factores de riesgo de la DMAE húmeda es el estrés oxidativo, por lo que en el estudio de Tisi et al. (18) se formularon nanopartículas de  $\text{CeO}_2$ , con actividad autorregenerativa de eliminación de radicales, lo que permite una eficacia duradera. Ha demostrado tener efectos protectores frente a los efectos patológicos de la NVC (18).

Han sido exploradas tres vías de administración. En primer lugar, la comúnmente utilizada inyección intravítrea que, como ya se ha mencionado, es una vía

invasiva que puede producir daños en el globo ocular, además de ser un impedimento en la consecución de adherencia al tratamiento por parte de los pacientes. La ventaja de la utilización de nanopartículas en esta vía en los estudios revisados es la necesidad de un menor número de administraciones al año, siendo necesaria una inyección cada 6 meses en el caso del hidrogel compuesto por Aflibercept y dexametasona, estudiado por Rudeen et al. (15). La siguiente vía estudiada es la intravenosa, que requiere mayor frecuencia de administración, pero es menos invasiva que la vía anterior, aunque también puede presentar problemas de adherencia. Por último, la tercera vía y la más interesante es la vía tópica ocular a través de colirios, que consiguió unos resultados muy prometedores en el estudio de Ran et al. (21), mostrando biocompatibilidad con los tejidos oculares y efectos terapéuticos en la NVC producida por la DMAE húmeda (21).

Actualmente, se encuentran en desarrollo una serie de alternativas terapéuticas basadas en distintos tipos de sistemas de liberación, que se comentan a continuación. Un ejemplo es Abicipar Pegol, cuya diana son todas las isoformas de VEGF. Es una proteína con repetición de anquirina, proteína de unión involucrada en la unión al factor VEGF-A con gran afinidad. Este tratamiento permite un intervalo de inyecciones intravítreas de entre 8-12 semanas que, en comparación con determinados tratamientos basados en nanopartículas como los presentados en este trabajo, requiere una frecuencia de dosificación que afecta a la adherencia del paciente al tratamiento. Además, otro inconveniente de este tratamiento es que produce inflamación intraocular (22), a diferencia de los tratamientos basados en nanopartículas ya mencionados, que presentan una alta biocompatibilidad ocular.

Cabe mencionar el sistema Port-Delivery System de Ranibizumab, que es un depósito recargable que requiere implantación quirúrgica. Este implante permite la liberación del fármaco durante 6 meses, y pasado este tiempo se debe reponer éste en el interior del implante. Aunque la frecuencia de administración permite una amplia separación entre dosis, la introducción quirúrgica y el llenado del implante siguen siendo una manera invasiva de tratamiento, que además se ha observado que provoca hemorragia vítrea (22).

Como se ha visto, el uso de nanopartículas resulta de gran utilidad en todas las publicaciones consultadas. Permite una liberación sostenida del fármaco durante un mayor periodo de tiempo en comparación con las inyecciones intravítreas de anti-VEGF, alcanzando concentraciones terapéuticas efectivas en la zona de la lesión, y además una mayor biodisponibilidad del fármaco en los tejidos lesionados de la cavidad posterior ocular, a pesar de las barreras físicas que presenta la zona. Cabe destacar los resultados positivos estudiados de los colirios basados en nanopartículas, donde se conjugan los beneficios de las nanopartículas con esta vía de administración, y conseguir así que este tratamiento sea más efectivo, de menor coste y menos invasivo.

## **7. CONCLUSIONES**

- La DMAE húmeda es una enfermedad crónica con difícil terapéutica, que provoca una baja adhesión del paciente al tratamiento.
- Los tratamientos convencionales de la DMAE húmeda presentan desventajas como las reacciones adversas o la baja efectividad en determinados pacientes.
- Existen alternativas terapéuticas basadas en nanopartículas para aquellos pacientes que no respondan a la monoterapia con anti-VEGF.
- La utilización de nanopartículas como sistema de liberación del fármaco ofrece resultados prometedores. Este sistema de liberación facilita la llegada del fármaco al tejido diana, y la liberación de éste durante un tiempo prolongado, lo que permite espaciar las dosis.
- La administración intravenosa puede reducir las reacciones adversas locales de las inyecciones intravítreas, aunque sigue siendo un tratamiento invasivo que requiere de personal especializado para su administración, y un factor de pérdida de adherencia al tratamiento por parte de los pacientes.
- El desarrollo de formulaciones tópicas basadas en colirios con fármacos antiangiogénicos encapsulados en nanopartículas es hasta ahora la opción menos invasiva de tratamiento, siendo de gran importancia la investigación de esta vía.

- Es necesario ampliar la investigación en esta patología tan incidente con el fin de obtener más tratamientos que disminuyan estos problemas. El desarrollo de nanopartículas para esta enfermedad puede facilitar la administración y aumentar la efectividad de los tratamientos.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Marieb EN, Ediciones Gráficas Arial. Anatomía y fisiología humana. Pearson Educación; 2008. 283–6 p.
2. Nguyen KH, Patel BC, Tadi P. Anatomy, Head and Neck, Eye Retina. StatPearls [Internet]. 2022 Aug 8 [cited 2023 Jan 13]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542332/>
3. Al-Zamil WM, Yassin SA. Recent developments in age-related macular degeneration: A review. Vol. 12, Clinical Interventions in Aging. Dove Medical Press Ltd.; 2017. p. 1313–30.
4. Hurley JB. Retina Metabolism and Metabolism in the Pigmented Epithelium: A Busy Intersection. 2022;665–92.
5. Galindo-Camacho RM, Blanco-Llamero C, da Ana R, Fuertes MA, Señoráns FJ, Silva AM, et al. Therapeutic Approaches for Age-Related Macular Degeneration. Vol. 23, International Journal of Molecular Sciences. MDPI; 2022.
6. Thomas CJ, Mirza RG, Gill MK. Age-Related Macular Degeneration. Vol. 105, Medical Clinics of North America. W.B. Saunders; 2021. p. 473–91.
7. Pugazhendhi A, Hubbell M, Jairam P, Ambati B. Neovascular macular degeneration: A review of etiology, risk factors, and recent advances in research and therapy. Vol. 22, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2021. p. 1–25.
8. Sahni J, Patel SS, Dugel PU, Khanani AM, Jhaveri CD, Wykoff CC, et al. Simultaneous Inhibition of Angiopoietin-2 and Vascular Endothelial Growth Factor-A with Faricimab in Diabetic Macular Edema:

- BOULEVARD Phase 2 Randomized Trial. *Ophthalmology*. 2019 Aug 1;126(8):1155–70.
9. Yang B, Li G, Liu J, Li X, Zhang S, Sun F, et al. Nanotechnology for age-related macular degeneration. Vol. 13, *Pharmaceutics*. MDPI; 2021.
  10. Jemni-Damer N, Guedan-Duran A, Fuentes-Andion M, Serrano-Bengoechea N, Alfageme-Lopez N, Armada-Maresca F, et al. Biotechnology and Biomaterial-Based Therapeutic Strategies for Age-Related Macular Degeneration. Part I: Biomaterials-Based Drug Delivery Devices. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8(November).
  11. Yang C, Yang J, Lu A, Gong J, Yang Y, Lin X, et al. Nanoparticles in ocular applications and their potential toxicity. *Front Mol Biosci*. 2022;9(July):1–18.
  12. Qiu F, Meng T, Chen Q, Zhou K, Shao Y, Matlock G, et al. Fenofibrate-Loaded Biodegradable Nanoparticles for the Treatment of Experimental Diabetic Retinopathy and Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Mol Pharm*. 2019 May 6;16(5):1958–70.
  13. Reis JS Dos, Dos Reis Teixeira A, De Vasconcelos Quaresma A, Almeida TC, Arribada RG, Neto JT, et al. Sodium butyrate-loaded nanoparticles coated with chitosan for the treatment of neovascularization in age-related macular degeneration: Ocular biocompatibility and antiangiogenic activity. *Eur J Pharm Biopharm*. 2022 Oct 1;179:26–36.
  14. Li M, Xu Z, Zhang L, Cui M, Zhu M, Guo Y, et al. Targeted Noninvasive Treatment of Choroidal Neovascularization by Hybrid Cell-Membrane-Cloaked Biomimetic Nanoparticles. *ACS Nano*. 2021 Jun 22;15(6):9808–19.
  15. Rudeen KM, Liu W, Mieler WF, Kang-Mieler JJ. Simultaneous Release of Aflibercept and Dexamethasone from an Ocular Drug Delivery System. *Curr Eye Res*. 2022;47(7):1034–42.
  16. Wang Y, Liu CH, Ji T, Mehta M, Wang W, Marino E, et al. Intravenous treatment of choroidal neovascularization by photo-targeted nanoparticles. *Nat Commun*. 2019 Dec 1;10(1).

17. Passacantando M, Santucci S. Surface electronic and structural properties of CeO<sub>2</sub> nanoparticles: A study by core-level photoemission and peak diffraction. *J Nanoparticle Res.* 2013 Aug 1;15(8).
18. Tisi A, Pulcini F, Carozza G, Mattei V, Flati V, Passacantando M, et al. Antioxidant Properties of Cerium Oxide Nanoparticles Prevent Retinal Neovascular Alterations In Vitro and In Vivo. *Antioxidants.* 2022 Jun 1;11(6).
19. Chen Q, Shi T, Han F, Li Z, Lin C, Zhao P. Porous Polystyrene Monoliths and Microparticles Prepared from Core Cross-linked Star ( CCS ) Polymers- Stabilized Emulsions. *Sci Rep [Internet].* 2017;7(May):8493. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-09216-y>
20. Cai W, Chen Q, Shen T, Yang Q, Hu W, Zhao P, et al. Intravenous anti-VEGF agents with RGD peptide-targeted core cross-linked star (CCS) polymers modified with indocyanine green for imaging and treatment of laser-induced choroidal neovascularization. *Biomater Sci.* 2020 Aug 21;8(16):4481–91.
21. Ran M, Deng Y, Yan J, Zhang A, Wei Y, Li X. Neovascularization-directed bionic eye drops for noninvasive renovation of age-related macular degeneration. *Chem Eng J [Internet].* 2022;450(P3):138291. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138291>
22. Kaiser SM, Ehlers JP. Current and Future Anti-VEGF Agents for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. 2021;905–12.