



## **FACULTAD DE FARMACIA**

Grado en Farmacia

# **Degeneración Macular: Sistemas de Liberación de Fármacos para Administración Intravítrea.**

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

16 de Noviembre de 2020

**Autor:** Ana De Moya Sagredo.

**Modalidad:** Revisión bibliográfica.

**Tutor/es:** Marta González Álvarez; María Isabel González Álvarez.

## Índice

<b>RESUMEN .....</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>FISIOLOGÍA DEL OJO.....</b>	<b>4</b>
<b>DEGENERACIÓN MACULAR: CAUSAS Y TIPOS.....</b>	<b>6</b>
<b>DIAGNÓSTICO.....</b>	<b>9</b>
<b>TRATAMIENTO.....</b>	<b>10</b>
<i>VÍA DE ADMINISTRACIÓN: INYECCIÓN INTRAVÍTREA.....</i>	<i>13</i>
<i>FARMACOCINÉTICA.....</i>	<i>15</i>
<i>ELIMINACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS.....</i>	<i>19</i>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>22</b>
<i>HIDROGELES:.....</i>	<i>23</i>
<i>SISTEMAS PARTICULADOS:.....</i>	<i>28</i>
<i>IMPLANTES INTRAVÍTREOS:.....</i>	<i>32</i>
<i>LIPOSOMAS:.....</i>	<i>33</i>
<i>SISTEMAS COMBINADOS:.....</i>	<i>34</i>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>37</b>

## **RESUMEN**

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) es una enfermedad causada por el deterioro de la mácula, pequeña zona localizada en el centro de la retina, estructura la cual es la encargada de la agudeza visual que permite percibir detalles finos de las imágenes que ocupan el centro de nuestro campo visual.

La edad es un factor directamente relacionado ya que aumenta el número de lesiones, así como la gravedad de las mismas. La prevalencia de la DMAE aumenta con cada década tras los 50 años, observándose la mayor prevalencia después de los 80.

Puesto que la esperanza de vida ha ido en aumento la incidencia de esta enfermedad ha crecido con ella y hoy en día se observa más recurrentemente patologías de la retina y la coroides.

El tratamiento actual se centra en frenar el avance de la enfermedad mediante la administración de fármacos antiangiogénicos por medio de inyecciones intravítreas; ya que se trata de una medida invasiva que conlleva ciertos riesgos, así como el rechazo del propio paciente, surge la necesidad de investigar nuevas formas farmacéuticas como hidrogeles, sistemas particulados, liposomas o implantes intravítreos que prolonguen la liberación de los fármacos a fin de disminuir el número de inyecciones.

## **INTRODUCCIÓN**

La degeneración macular (DMAE) se trata de un trastorno progresivo, crónico y común de la mácula de la retina que afecta a personas mayores, el resultado final de este desorden es la ceguera.

La DMAE es causada por el daño a los vasos sanguíneos que irrigan la mácula y que dañan, en consecuencia, su estructura. En el paciente se produce un deterioro progresivo de la función visual.

Al tratarse de una degeneración de la zona de la mácula, la visión central se puede ver afectada, pero en muchos casos la visión periférica no manifiesta daños, es decir, no se produce una pérdida completa de la visión.



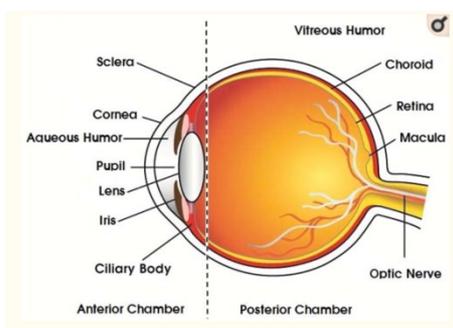
*Ilustración 1 Visión de una persona con DMAE. Imagen obtenida de la página web Cuidateplus. (1)*

Lo ideal es realizar revisiones periódicas además de llevar un autocontrol desde casa para el diagnóstico precoz mediante una sencilla prueba, la rejilla de Amsler, esta prueba puede solicitarse en el óptico o en el oftalmólogo y permite detectar si las líneas rectas se ven torcidas o distorsionadas (un síntoma característico de la DMAE húmeda). Estas revisiones son clave para detectar la enfermedad en sus etapas iniciales y comenzar así el tratamiento.

## **FISIOLOGÍA DEL OJO**

El ojo es el órgano encargado de la visión, sensible y complejo, con una anatomía y fisiología únicas.

La estructura ocular se puede dividir en dos segmentos, anterior y posterior (ver ilustración 2). El segmento anterior cubre un tercio del globo ocular junto con el humor acuoso, y el resto está ocupado por el segmento posterior, incluyendo el líquido vítreo. El compartimento ocular anterior se compone de córnea, conjuntiva, humor acuoso, cristalino, iris y cuerpo ciliar. Por otro lado, el compartimento posterior está compuesto por esclerótica, coroides, coriocapilares, membrana de Bruch, retina, epitelio retiniano pigmentario (EPR), membrana limitante interna y cuerpo vítreo.



*Ilustración 2 Estructura del ojo humano. Imagen obtenida de M. Joseph et al. (2)*

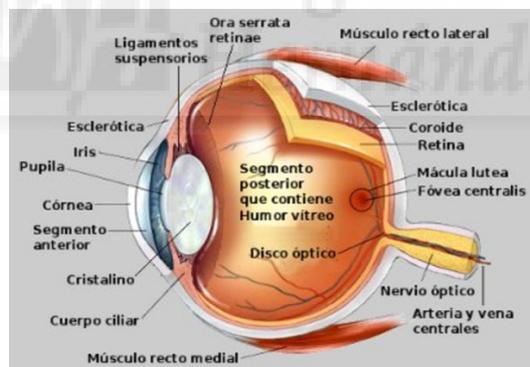
La principal estructura que se ve afectada es la mácula, se trata del área central que recoge las imágenes de forma detallada en el centro del campo de visión y las envía al nervio óptico que las interpreta como visión, cuando se produce la degeneración de las células maculares las imágenes no se perciben de manera correcta.

En las etapas iniciales de la DMAE la visión no se ve afectada, es más tarde cuando las personas comienzan a experimentar visión borrosa u ondulada y finalmente la visión central puede perderse por completo, aún así el resto de la retina funciona, conservando la visión periférica, aunque esta tampoco es muy nítida.

El globo ocular casi esférico se encuentra lleno de líquidos (humores).

Podemos diferenciar 3 capas:

- **La capa o túnica externa** (la esclerótica o blanco del ojo y la córnea) es fibrosa y protectora.
- **La capa de la media** (compuesta por la coroides, el cuerpo ciliar y el iris) es vascular.
- **La capa más interna o retina** es nerviosa o sensorial.



*Ilustración 3 Imagen de la anatomía del globo ocular. Imagen obtenida de la página Sabelotodo. (3)*

Los humores del ojo están separados por el cristalino, detrás de este se sitúa el humor vítreo y por delante el humor acuoso. El cristalino en sí es flexible y está suspendido por ligamentos que le permiten cambiar de forma para enfocar la luz en la retina, la cual está compuesta de neuronas sensoriales.

Otras de las estructuras que debemos mencionar y que afectan a la farmacocinética del fármaco que tendremos en cuenta más adelante son las siguientes:

- **El humor vítreo:** tiene un volumen de 4 ml, y consiste en una matriz 3D basada en colágeno (fibrillas heterotípicas de colágenos tipo II, tipo V / XI y tipo IX) y ácido hialurónico (HA) (glicosaminoglicano que rellenan los espacios entre las fibras). Las funciones principales del humor vítreo son mantener la forma más o menos esférica del globo ocular, proteger las distintas capas de posibles traumatismos y hacer de soporte uniforme para que las imágenes se reflejen nítidamente en la retina.
- **La membrana limitante interna (ILM):** No es una membrana en si, sino que se trata de uniones intercelulares entre las células fotorreceptoras y las células de Muller<sup>1</sup>.
- **EPR:** es una membrana epitelial con uniones intercelulares estrechas que se encuentra entre la retina neural y la circulación sanguínea coroidea constituyendo una barrera importante para las macromoléculas. Nutre el tejido nervioso de la retina y lo mantiene sano mediante el transporte de moléculas dentro y fuera, eliminando las células muertas, segregando hormonas y modulando factores inmunes, todo esto hace que aumente el papel del RPE en la DMAE.
- **La barrera hematorretiniana:** lleva a cabo un control estricto del transporte de líquidos y solutos así como para la prevención de entrada de moléculas tóxicas y componentes del plasma en la retina.

## **DEGENERACIÓN MACULAR: CAUSAS Y TIPOS**

La DMAE es una enfermedad multifactorial que involucra inflamación y neovascularización coroidea (NVC). Se manifiesta de manera característica en dos formas: "seca" y "húmeda". La mayoría de los pacientes con pérdida de visión sufren la forma "húmeda" de DMAE debido a la NVC y patologías relacionadas como hemorragia subretiniana, cicatrización fibrovascular y desprendimiento del EPR.

La formación de NVC implica varios pasos fisiopatológicos:

- *Degeneración senil del EPR.*

---

<sup>1</sup> Célula característica de la zona comprendida entre la membrana limitante externa de la retina y la membrana limitante interna, donde desarrollan funciones estructurales de soporte y metabolismo.

- *Depósito de drusas.*
- *Rotura de la membrana de Bruch.* Capa más interna de la coroides, su grosor aumenta con la edad viéndose reducido el transporte de metabolitos y generando drusas.
- *Formación y cicatrización de NVC.* En la etapa final de la enfermedad, la neovascularización da como resultado una cicatriz macular fibrovascular o atrófica (cicatriz disciforme) y el consiguiente daño permanente de la visión central.

La DMAE se puede dividir de la siguiente forma:

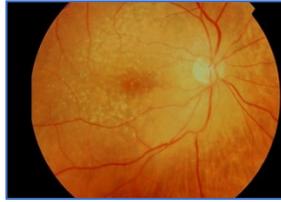
- **Temprana.**
- **Intermedia.**
- **Tardía.**

#### **DMAE seca (atrofia geográfica).**

Se produce cuando las células de la mácula sensibles a la luz se van deteriorando poco a poco. El síntoma más común es tener la visión un poco borrosa, existen problemas a la hora de reconocer rostros y probablemente se necesite más luz para leer y realizar otras tareas. Se caracteriza por una evolución lenta y progresiva.

Una de las primeras señales de este tipo de DMAE es la aparición de drusas (depósitos amarillos debajo de la retina). Los depósitos típicos de drusas se encuentran debajo del epitelio pigmentario de la retina y la membrana de Bruch y varían ampliamente en número, tamaño, forma y distribución. La mayoría de las drusas miden 20-100  $\mu\text{m}$  y se caracterizan por ser duras o blandas. (4)

- **Drusas duras:** aparecen como manchas redondas y discretas de color amarillo-blanco, se identifican comúnmente en muchas poblaciones. No están relacionados con la edad y no conllevan un mayor riesgo de desarrollo de neovascularización.
- **Drusas blandas:** están mal definidas, con bordes irregulares, que miden 63  $\mu\text{m}$  o más. Diferentes estudios y ensayos han indicado que las drusas grandes, suaves y confluentes están relacionadas con la edad y se asocian con un mayor riesgo de desarrollo de DMAE avanzada con neovascularización. (5)

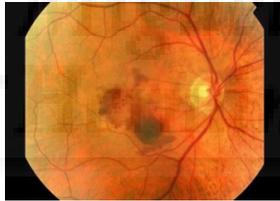


*Ilustración 4 Fotografía del tipo de DMAE seca. Imagen obtenida del Instituto de Oftalmología Avanzada de Madrid. (6)*

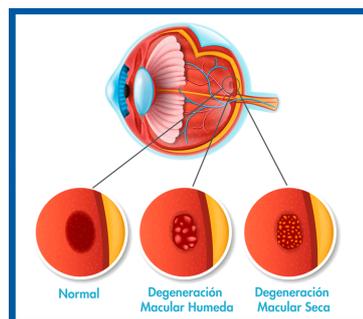
### **DMAE húmeda (DMAE neovascular).**

Ocurre cuando existe neovascularización bajo la mácula debido al factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A), que causa el crecimiento y la secreción de nuevos vasos sanguíneos débiles y muy frágiles que frecuentemente liberan sangre y líquidos dañando la visión central. Además, existe un aumento de la permeabilidad vascular en la retina permitiendo el flujo de moléculas pequeñas.

Con este tipo de DMAE la pérdida de visión sucede muy deprisa y es más severa que la seca. Cabe destacar que las personas que finalmente padecen este tipo de DMAE sufrieron primero la forma seca.



*Ilustración 5 Fotografía del tipo DMAE húmeda. Imagen obtenida del Instituto de Oftalmología Avanzada de Madrid. (6)*



*Ilustración 6 Esquema de los tipos de DMAE. Imagen obtenida de la Clínica González Costea. (7)*

Un factor que debemos tener en cuenta es la predisposición genética, puesto que es el epigenoma<sup>2</sup> quien contribuye sustancialmente a la organización de una retina funcional, así como al desarrollo de la enfermedad a través del ajuste de los patrones de expresión génica, estos cambios epigenéticos específicos se asocian con la DMAE. (8) Los antecedentes familiares también juegan un papel importante ya que el miembro de una familia que posea parentesco directo con otro que padezca DMAE tienen mayor riesgo de heredar esa patología.

Existe una influencia de los factores ambientales en esta expresión génica existiendo una interacción gen-ambiente.

Algunos de los **factores influyentes** son los siguientes: tabaco, alcohol, obesidad, malos hábitos alimenticios, hipertensión arterial, problemas circulatorios, así como la exposición directa y prolongada al sol.

También cabe mencionar los factores sociodemográficos: edad, sexo, raza/etnia y estatus socioeconómico.

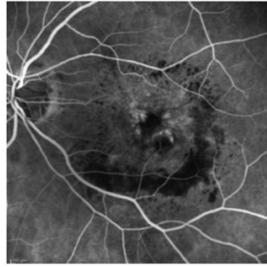
## DIAGNÓSTICO

El examen clínico suele ser suficiente para establecer un diagnóstico de DMAE, aunque las anomalías maculares sutiles se detectan mejor con la ayuda de pruebas auxiliares como la autofluorescencia del fondo de ojo, la tomografía de coherencia óptica (OCT), la angiografía con fluoresceína (Ilustración 6, fondo ocular con DMAE húmeda) y la angiografía con verde de indocianina (Ilustración 7, fondo ocular con DMAE exudativa antes y después del tratamiento con anti-VEGF).

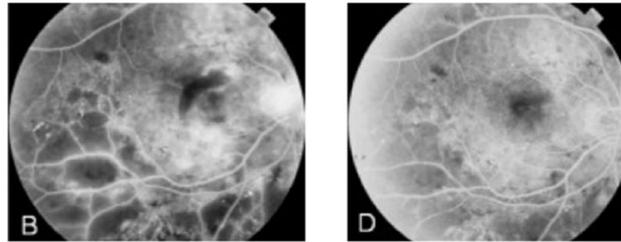
La OCT puede ser una prueba auxiliar útil en cualquier etapa de la DMAE. En pacientes con DMAE seca, las exploraciones High Definition B-scan (ultrasonido ocular) son útiles para evaluar la estructura de las drusas y para examinar las capas retinianas adyacentes que puedan verse comprometidas por el proceso de la enfermedad. (5)

---

<sup>2</sup> Los cambios epigenéticos son los cambios que se producen en el modo en el que los genes se activan o desactivan sin cambiar la secuencia misma del ADN.



*Ilustración 7 Fluoroangiografía. Fotografía de R. Terrana Imagen obtenida de la página Salud ocular by Othea (9)*



*Ilustración 8 Angiografía con verde de indocianina. Fotografía de R. Terrana Imagen obtenida de la página Salud ocular by Othea. (9)*

## TRATAMIENTO

Hoy en día no hay opción de tratamiento para la DMAE temprana; cuando la enfermedad sigue avanzando a su estadio intermedio la alternativa existente es el uso de vitaminas para enlentecer la progresión de la enfermedad ya que algunos estudios dicen que parece haber una relación entre la ingesta de complejos vitamínicos específicos y la ralentización de la progresión. (10)

Para la DMAE de tipo húmeda sí que existe tratamiento y se basa en la utilización de **inyecciones de agentes anti-factor de crecimiento endotelial (VEGF)**. Un procedimiento menos común es el uso de verteporfina, una **terapia fotodinámica (TFD)**, en este procedimiento, la medicación con verteporfina se inyecta en el suministro de sangre venosa y es absorbida por los vasos sanguíneos recién formados. El láser fotodinámico se dirige al ojo afectado con DMAE, lo que activa el medicamento produciendo radicales libres de oxígeno, provocando así la destrucción de los vasos recién formados, al tiempo que salva la arquitectura de los vasos normales. El resultado esperado de este tratamiento es retardar la progresión de la pérdida de visión neovascular "húmeda" de la DMAE. La tercera opción de tratamiento para la DMAE utiliza el **método de fotocoagulación con láser** mencionado por el Instituto Nacional del Ojo de los NIH.

Nos centraremos en la utilización de fármacos **antiangiogénicos (anti-VEGF)** que actúan mejorando o estabilizando la visión. No curan la enfermedad en sí, pero en muchos casos mejoran los síntomas y la calidad de vida de los pacientes. Dichas sustancias se inyectan dentro del ojo (uso intra-vitreo).

Los pacientes afectados por la DMAE requieren controles periódicos por un oftalmólogo especializado y en muchos casos supone un tratamiento regular, la duración de este tratamiento dependerá de cómo evolucione su visión, esto habitualmente conlleva un gasto económico y un desgaste para el paciente.

Para un tratamiento efectivo es necesario que se logren y mantengan las concentraciones terapéuticas del fármaco en los tejidos diana por lo que la inyección intravítrea es la vía de administración de elección para que los fármacos accedan al segmento posterior, pero esta vía tiene como inconveniente que es invasiva y no se encuentra exenta de riesgos.

Los **fármacos** empleados en el tratamiento de este tipo de afección son: antiangiogénicos (*Bevacizumab*, *Aflibercept*, *Ranibizumab*) y corticoides (*Dexametasona*).

El **mecanismo de acción** de los tres primeros es el siguiente:

Se unen a las isoformas del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), bloqueando su unión a los receptores biológicos, los cuales estimularían la neovascularización.

En cuanto a los corticoides:

Se cree que la neovascularización es una respuesta a la hipoxia causada por los depósitos drusos que interrumpen el flujo de oxígeno desde la coroides a través del RPE hacia las células de la retina. El papel de la inflamación en el desarrollo de DMAE neovascular es poco conocido, sin embargo, se cree que la inflamación crónica de bajo grado causa la progresión de la DMAE. (8)

Los corticoides controlan la cascada inflamatoria, y mejoran la agudeza visual al reducir la exudación y el fluido, pero no producen un cese permanente del crecimiento neovascular.

Destacamos el uso de **dexametasona** que parece tener un beneficio visual y anatómico al asociarlo junto a ranibizumab durante la dosis de carga inicial en pacientes con NVC.

Se realizó un estudio con 16 pacientes con NVC subfoveal secundaria a la DMAE y se asignaron aleatoriamente a 2 grupos: **grupo 1** (monoterapia con ranibizumab) y **grupo 2** (terapia combinada con ranibizumab (0,5 mg en 0,05 ml) y dexametasona (0,4 mg en 0,1 ml)). Ambos inyectados con una dosis inicial durante 3 meses, los sujetos fueron reevaluados un mes después de la tercera dosis.

Al comparar la respuesta obtenida en ambos grupos de tratamiento se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en la mejoría de agudeza visual corregida (MAVC) a favor del grupo de terapia combinada, pero no así en la reducción del grosor macular central medio (*central subfield thickness* [CST]), ni del volumen macular medio (*retinal volume*, [RV]).

Aunque son necesarios estudios con mucho mayor seguimiento y tamaño muestral, el presente estudio sugiere que la dexametasona asociada a ranibizumab, con el mismo grado de respuesta anatómica, mejora los resultados visuales en pacientes con NVC secundaria a DMAE. (11)

Finalmente cabe mencionar el uso de **aptámeros**, ligandos oligonucleotídicos de ADN o ARN monocatenario, que se unen a dianas moleculares con alta afinidad y especificidad. Actualmente existe un aptámero (E10030) de ADN indicado contra el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) que estimula la angiogénesis. En la actualidad se encuentra en un ensayo clínico de fase III, en combinación con agentes anti-VEGF para el tratamiento de la DMAE. Los estudios informaron que la inhibición de PDGF aumenta la sensibilidad de las células endoteliales a los agentes anti-VEGF. Por lo que la terapia combinada de anti-VEGF y otros factores de crecimiento puede ser beneficiosa para mejorar la visión. (2)

En la siguiente tabla podemos observar la lista de macromoléculas disponibles para el tratamiento de enfermedades oculares posteriores.

List of commercially available macromolecules/biologics for treatment of posterior ocular diseases

Trade Name	Generic Name	Type of Molecule	Biological Target	Disease	Reference
Lucentis®	Ranibizumab	Humanized monoclonal antibody fragment	VEGF-A isoforms	AMD, DME, DR, RVO	[125-128]
Eylea®	Aflibercept	Fusion protein	VEGF-A, VEGF-B isoforms and PLGF	AMD, DME, DR	[129-131]
Avastin® (off label)	Bevacizumab	Humanized full length monoclonal antibody	VEGF-A isoforms	AMD	[125,132]
Macugen®	Pegaptanib	RNA aptamer	VEGF-A <sub>165</sub> only	AMD	[133]

PLGF = Placental growth factor, VEGF = Vascular endothelial growth factor, RNA = Ribonucleic acid, RVO = Retinal vein occlusion, AMD = Age related Macular Degeneration; CNV = Choroidal Neovascularization, DME = Diabetic Macular Edema

Ilustración 9 Imagen obtenida de Joseph et al. (2)

## VÍA DE ADMINISTRACIÓN: INYECCIÓN INTRAVÍTREA

La inyección intravítrea es una técnica poco invasiva utilizada para administrar fármacos, en el tratamiento de enfermedades oftalmológicas, directamente a la zona posterior del cristalino, en la cavidad vítrea.

Los volúmenes máximos para inyecciones intravítreas son 50 y 100 µl en conejos y humanos, respectivamente, unos volúmenes de inyección mayores aumentarían la presión intraocular, causando así daño ocular. (12)

Se utiliza esta vía para administrar los fármacos porque tanto la administración oral como la intravenosa no permiten que el principio activo alcance concentraciones terapéuticas en el interior del ojo, además de que, en algunos casos, para alcanzar estos niveles, las dosis que deberían utilizarse por vía oral serían demasiado altas y podrían resultar dañinas.

De este modo, la medicación actúa localmente sobre la retina y, en concreto sobre la mácula.

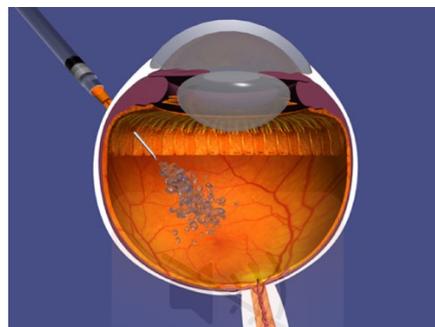


Ilustración 10 Representación de la inyección intravítrea. Imagen obtenida de la página Behance realizada por el Dr. Ezequiel Campos Mollo. (13)

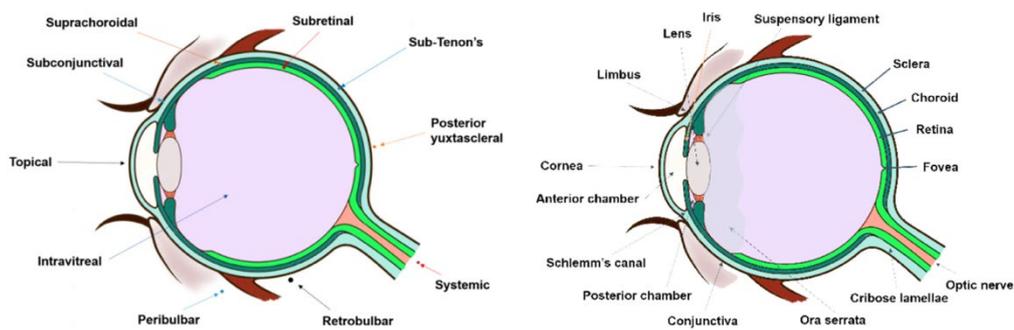


Ilustración 11 Esquema de las diferentes rutas de administración y anatomía del ojo. Imagen obtenida de Varela et al. (14)

Los efectos secundarios son poco frecuentes y muchos se pueden manejar.

Pueden incluir:

- Aumento de la presión en el ojo.
- Moscas volantes.
- Inflamación.
- Sangrado.
- Lesiones en la córnea.
- Daño a la retina o nervios y estructuras circundantes.
- Efectos secundarios a raíz de los medicamentos que se utilizan.
- Endoftalmitis.
- Desprendimiento vítreo.
- Hemorragia retiniana.
- Hemorragia conjuntival.
- Toxicidad retiniana.
- Cataratas.
- Pérdida de la visión.
- Pérdida del ojo (muy poco frecuente).

La complicación más temida es la infección (endoftalmitis). Sin embargo, la buena preparación en el quirófano y las condiciones de asepsia hacen que su incidencia sea muy baja. El procedimiento, que se realiza con una aguja muy fina, es indoloro para el paciente, rápido (alrededor de 5 minutos) y sencillo. No obstante, dado la delicadeza de las estructuras oculares que se tratan, es importante que sea realizado por un oftalmólogo especialista para garantizar los mejores resultados y evitar complicaciones. Se deben tomar varias precauciones durante la administración intravítrea, como evitar tocar la retina o el cristalino; la línea de visión debe dejarse intacta (el campo de visión puede bloquearse); y la incisión de inyección debe ser lo más pequeña posible para prevenir el desarrollo de infecciones oculares y la fuga de vítreo. (14)

Antes de realizarse la inyección, se desinfectan los párpados y el ojo del paciente, a quien también se le aplica anestesia tópica (gotas) para que no sienta ninguna molestia durante el procedimiento.

El post tratamiento no es doloroso ni requiere ningún cuidado especial, salvo ponerse colirio antibiótico durante unos días.

Es necesario hacer exámenes previos a la administración de las inyecciones: exploración completa del fondo de ojo, que en la mayoría de los casos incluye la realización de una OCT. También pueden requerirse otras pruebas diagnósticas complementarias como la angiografía fluoresceínica. (14)

El número de inyecciones que deberán aplicarse y su frecuencia de repetición (que normalmente se va espaciando a medida que avanza la terapia) dependerán de las pautas indicadas por el especialista, según cada caso.

Como he comentado se presentan algunos efectos tras la administración de la inyección, surge así la necesidad de encontrar formulaciones de liberación más sostenida para mantener la concentración terapéutica y minimizar el número de inyecciones, de esta manera también disminuiríamos la falta de adherencia al tratamiento.

Son muchas las ventajas que presentan las inyecciones intravítreas como hemos mencionado, no obstante, cuando inyectamos en el humor vítreo también existen desventajas:

- Hemorragia subconjuntival.
- Elevación temporal de la presión intraocular (PIO).
- Buena vía de eliminación de fármacos por lo que resulta difícil llevar a cabo un fenómeno de liberación prolongada.

## FARMACOCINÉTICA

La investigación farmacocinética de las inyecciones intravítreas muestra la dificultad a la hora de obtener muestras para analizar. La mayoría de los estudios in vivo que se han llevado a cabo han sido realizados en conejos como modelo animal experimental, pudiendo ser necesario su sacrificio para recolectar las muestras del humor vítreo, aunque se pueden aplicar técnicas novedosas como la microdiálisis para la recolección continua de muestras sin necesidad de

sacrificar a los animales. De acuerdo con los marcos regulatorios de las 3R, la alternativa es extraer humor acuoso o muestras de sangre y luego hacer una correlación con la concentración del fármaco en el humor vítreo. (14)

La concentración de fármaco que se alcanza tras la inyección intravítrea depende de:

- Volumen de distribución del fármaco.
- Dosis inicial inyectada.
- Tasa de eliminación.
- Tasa de degradación de los materiales poliméricos.

Los dos factores que afectan predominantemente a la farmacocinética de los principios activos inyectados en el vítreo son:

- Distribución en el humor vítreo
- Aclaramiento.

Además, otras barreras oculares pueden limitar el paso del fármaco dependiendo del sitio objetivo dentro de la cavidad vítrea.

HUMOR VÍTREO: Dependiendo de la naturaleza del fármaco y la formulación utilizada, el humor vítreo puede actuar como una barrera importante para la liberación del fármaco o su influencia puede ser insignificante.

Se encuentra cargada negativamente, por lo que las partículas neutras y aniónicas se mueven libremente mientras que la movilidad de las cargadas positivamente se encuentra limitada por las interacciones con los componentes negativos del gel vítreo. Esta estructura actúa como una barrera estática y dinámica. La barrera estática es la estructura vítrea en sí misma, aunque no es una barrera muy restrictiva en términos de movilidad molecular y la barrera dinámica consiste en los procesos de flujo y aclaramiento.

MEMBRANA LIMITANTE INTERNA (ILM): es una barrera mecánica y electrostática ubicada entre el vítreo y la retina compuesta de colágeno, laminina y fibronectina. Su composición y espesor (~4  $\mu\text{m}$ ) pueden variar a lo largo de su estructura, mostrando un tamaño de poro de 10 nm. Limita el acceso de los sistemas de administración de fármacos y las macromoléculas a la retina después de la inyección intravítrea.

BARRERA HEMATO-RETINIANA (BRB): está formado por las células endoteliales capilares retinianas (BRB interno) y las células del EPR (BRB externo), ambos tipos de células restringen el transporte de fármacos entre la retina y la sangre circulante.

El EPR posee una variabilidad de permeabilidad del fármaco en función de las características fisicoquímicas del mismo (peso molecular, lipofilicidad, unión a proteínas, gradiente de concentración del fármaco y su afinidad con los transportadores existentes a ese nivel), que pueden aumentar o disminuir la transferencia del fármaco a través del EPR.

La retención del sistema de administración y sus componentes dentro de la cavidad vítrea depende de:

- Las barreras físicas del ojo.
- La circulación sanguínea.
- Composición química del humor vítreo.

Otro aspecto que debe tenerse en cuenta es el efecto de la inyección en sí, ya que la aguja crea un canal a través del humor vítreo dejando una vía de baja resistencia para el paso de los principios activos debido a un cambio en la integridad de este. (14)

Una vez que inyectamos los principios activos estos se mueven hasta llegar a su zona objetivo mediante dos fenómenos de transporte:

- **Difusión:**

El movimiento de las moléculas se consigue mediante gradientes de concentración, una vez que se administra el principio activo las partículas se mueven por el humor vítreo hasta alcanzar un equilibrio de concentración y llegar finalmente a la zona deseada, en este momento no se produce más difusión.

La velocidad con la que el fármaco difunde depende de:

- Propiedades fisicoquímicas del mismo:
  - *Peso molecular*: los bajos pesos moleculares no presentan restricción a través de la malla polimérica vítrea (tamaño de malla límite del vítreo es de 550 nm) (15) por lo que su coeficiente de difusión es mayor.

- *Carga neta de las partículas:* Los fármacos con partículas neutras o aniónicas se pueden mover libremente en el humor vítreo, siendo idóneas para la administración intravítrea.
- Retención vítrea.
- Componentes estructurales.

Respecto a la restricción de carga cabe mencionar una técnica denominada **iontoforesis ocular**, con ella se consigue que los fármacos penetren la membrana de forma ionizada mediante la aplicación de una corriente eléctrica, por lo que se restringe a sustancias activas capaces de ionizarse. La corriente eléctrica favorece el paso del fármaco a través de la barrera celular. Esta técnica permite variar la densidad de la corriente y el tiempo de aplicación consiguiendo distintos efectos. La iontoforesis se puede aplicar tanto en la córnea (iontoforesis transcorneal) como en la conjuntiva y esclera (iontoforesis transconjuntival/escleral) y ha permitido incrementar las concentraciones de fármaco en vítreo y retina.

- **Convección:**

Este proceso se lleva a cabo gracias a las diferencias de presión y temperatura entre la cámara anterior y la superficie retiniana, ya que el flujo convectivo intravítreo depende de la presión, un aumento de esta podría cambiar los valores de flujo en el humor vítreo, por ejemplo, en algunas patologías como el glaucoma y el desprendimiento de retina, donde se notan valores de presión intraocular más altos, se ha observado un aumento en la convección. Se advierte también que existe un mayor impacto en las moléculas grandes.

Debemos tener en cuenta la **licuefacción** del humor vítreo, degeneración asociada al envejecimiento que varía la proporción entre la forma líquida y gelatinosa aumentando la primera, factor que influye en los procesos de difusión y convección y por tanto en la farmacocinética del principio activo.

Este proceso podría causar un aumento en la difusividad del fármaco, debido a que la malla de fibras presenta menos restricción de movimiento frente a las moléculas de su interior conduciendo así a un incremento de la eliminación, a su

vez debida a la pérdida de homogeneidad vítrea se produce un aumento en el flujo convectivo. (14)

## ELIMINACIÓN DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS

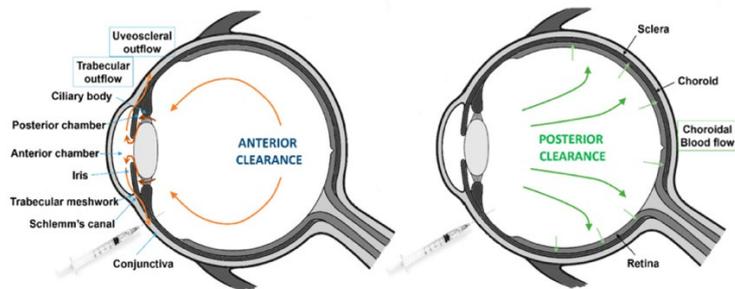


Ilustración 12 Imagen obtenida de Varela et al. (14)

Tras la administración intravítrea, el aclaramiento del fármaco puede ocurrir mediante dos vías, la anterior o posterior como se muestra en la imagen previa.

- Aclaramiento anterior: El principio activo difunde cruzando el cristalino y el cuerpo ciliar hasta la cámara posterior, su eliminación se produce con el recambio del humor acuoso hasta la cámara anterior donde se eliminan por el flujo de salida trabecular y uveoesclerar.

La ruta de eliminación anterior es accesible a todo tipo de medicamentos, ya que pueden moverse libremente a través de la membrana, generalmente los fármacos que se eliminan por esta vía son **moléculas hidrofílicas y grandes**.

Los datos de eliminación de esta vía presentan vidas medias más altas en comparación con la de la ruta posterior, se sabe que la presencia del fármaco es mayor en el humor acuoso, es decir, se elimina por la vía anterior, ya que la vida media es mayor. (14)

- Aclaramiento posterior: Produce una rápida eliminación del vítreo (semividas en el intervalo de horas) debido a la gran superficie disponible para la permeación y la presencia de transportes activos por el flujo sanguíneo coroideo.

Se ha identificado una relación entre las propiedades fisicoquímicas del fármaco y sus vidas medias dentro del humor vítreo, el peso molecular del

fármaco, su lipofilia y la relación dosis / solubilidad a pH 7,4 son los principales parámetros que afectan la vida media del fármaco en el vítreo.

De esta manera las **moléculas pequeñas y lipofílicas** son las que se eliminan por esta vía.

La distribución de fármacos en el segmento posterior del ojo es un paso crucial en el tratamiento de patologías oculares para obtener un efecto farmacológico en el sitio correcto. Los factores que afectan a la distribución del fármaco en el humor vítreo son predominantemente:

- La diferencia de presión del vítreo que afecta al flujo convectivo del segmento anterior al posterior (tiene más impacto en moléculas grandes).
- El tamaño de las partículas como he mencionado anteriormente.
- Las posibles interacciones farmacológicas con los elementos del humor vítreo, como por ejemplo las proteínas. La albúmina, que es la más abundante puede producir una disminución del fármaco libre, el cual es capaz de ejercer función farmacológica.

En la siguiente tabla podemos ver las estructuras involucradas en las distintas vías (BAB: Blood-Aqueous Barrier; BRB: Blood-Retinal Barrier).

Features	Anterior Route	Posterior Route
Tissue involved	BAB	BRB
Elimination pathway	Aqueous humor outflow	Choroidal flow
Molecule characteristics	Hydrophilic High molecular weight	Lipophilic Small molecular weight

*Ilustración 13 Imagen obtenida de Varela et al.(14)*

## OBJETIVOS

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado es explorar las formulaciones de liberación sostenida que hay en investigación para el tratamiento de la degeneración macular.

En concreto, los objetivos específicos son:

- Ventajas biofarmacéuticas y farmacocinéticas de las formulaciones no convencionales.
- Determinar las características de las formulaciones para inyecciones intravítreas.
- Selección de la formulación más prometedora.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizará una revisión bibliográfica de varios estudios recogiendo información para comparar las distintas presentaciones de fármacos de inyección intravítrea en el tratamiento de la DMAE.

Para ello hemos visitado distintas paginas web con el fin de poder aportar la información general sobre el tema.

También se ha recopilado información a través de la base de datos Medline, mediante PubMed (motor de búsqueda gratuito mantenido por el Centro Nacional de Información sobre Biotecnología).

Los descriptores que se han utilizado, obtenidos a través de la página Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) para la realización de la búsqueda de artículos, fueron los siguientes: población “Macular degeneration”, intervención “Intravitreal injections”, resultados “Administration”, además añadimos otros descriptores, “Polysaccharides” y “Pharmacokinetics”, y finalmente cada tipo de formulación “Hydrogel”, “Drug Implants”, “Nanoparticles” y “Liposomes”.

- (intravitreal injections) AND (administration) Filters: Free full text, in the last 10 years = 1647 resultados.
- (hydrogel) AND (intravitreal injections) Filters: Free full text, in the last 10 years = 12 resultados.
- (drug implants) AND (intravitreal injections) Filters: Free full text, in the last 10 years = 188 resultados.
- (polysaccharides) AND (intravitreal injections) Filters: Free full text, in the last 10 years = 32 resultados.
- (pharmacokinetics) AND (intravitreal injections) Filters: Free full text, in the last 10 years = 129 resultados.

- ((nanoparticles) AND (intravitreal injections)) AND (macular degeneration) Filters: Free full text, in the last 10 years = 15 resultados.
- ((drug implants) AND (intravitreal injections)) AND (macular degeneration) Filters: Free full text, in the last 10 years = 127 resultados.
- ((liposomes) AND (intravitreal injections)) AND (macular degeneration) Filters: Free full text, in the last 10 years = 5 resultados.

Los únicos criterios de inclusión que he añadido han sido: “*Free full text*”, “*in the last 10 years*”, no he acotado por rango de edad ya que se trata de una enfermedad asociada a gente mayor y tampoco he hecho distinción entre hombre o mujeres porque no hay evidencias de que se presente de manera desigual entre ambos, solo se puede puntualizar que las mujeres son más propensas a padecerla.

Finalmente he de destacar que, una vez realizadas las búsquedas, ya que muchas de ellas no trataban la DMAE, accedí a distintos artículos que habían sido citados en mis búsquedas iniciales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El desarrollo de los sistemas de administración de fármacos intravítreos (Drug Delivery Systems DDS) se basa en el análisis farmacocinético para evaluar la liberación prolongada del fármaco.

Uno de los materiales más habituales en la formulación de los DDS son los polisacáridos, destacando los **naturales** por ser económicos, fácilmente disponibles, no tóxicos, potencialmente biodegradables y generalmente biocompatibles, algunos de los que se pueden utilizar son: ácido hialurónico (HA), ácido algínico (ALG), quitosano, pectina, goma de xantano, polietilenglicol (PEG).

En cuanto a las formas de DDS para la administración de fármacos que podemos encontrar son las siguientes:

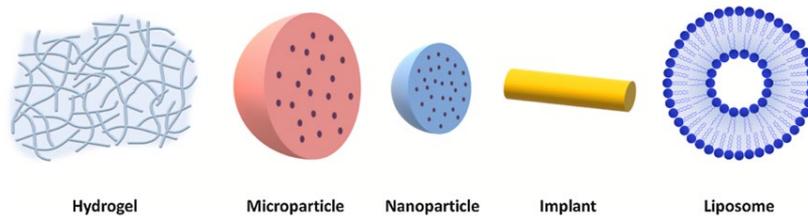


Ilustración 14 Imagen obtenida de Luaces et al. (16)

- Hidrogeles.
- Sistemas particulados:
  - Micropartículas.
  - Nanopartículas.
- Implantes.
- Liposomas.

A continuación, se describen los tipos de DDS:

#### HIDROGELES:

Los hidrogeles son depósitos poliméricos que retienen físicamente las moléculas del fármaco para permitir la liberación controlada del mismo. La formación de la red de hidrogel es mediante la reticulación de macromoléculas a través de enlaces químicos (covalentes) y / o interacciones físicas (asociaciones hidrofóbicas, interacciones electrostáticas). Las matrices de hidrogel resultantes generan barreras físicas o químicas que limitan la difusión de las moléculas del fármaco, proporcionando así la base para la liberación controlada del fármaco.

Son una buena alternativa, hay dos tipos:

- Biodegradables: su ventaja de que solo se necesita una primera inyección para su colocación y posteriormente se degradan solos.
- Naturales: HA, quitosano, alginato, dextranos y polímeros de seda.
- Sintéticos: PEG, poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA), poli-ε-caprolactona (PCL) y mezclas de estos y con otros.

Los naturales presentan la ventaja de una mínima toxicidad y alta compatibilidad ocular, no obstante, la liberación es más corta en comparación con los sintéticos.

- No biodegradables.

Otro de los tipos de hidrogeles interesantes para administración ocular es:

- Termosensibles: a temperatura ambiente se encuentran en estado líquido, una vez en contacto con el globo ocular y a una temperatura corporal de 35-37 grados la formulación se convierte en gel. En estos casos la difusión a través de la estructura del gel es relativamente rápida, lo que limita su utilidad como formulaciones de liberación prolongada. No obstante, podría ser un buen punto de partida.
- No termosensibles: también contienen PEG, pero su comportamiento de gelificación se ve menos afectado por los cambios de temperatura.

A continuación, se describen los diferentes hidrogeles que se desarrollaron con varias asociaciones de polímeros.

- **TERMOSENSIBLES:**
- **ESHU** es un hidrogel termosensible diseñado por Park et al (17) formado por el polímero poli (etilenglicol) -poli- (serinol hexametilenuretano). La ESHU sufre inmediatamente la transición de fase sol-gel y forma un hidrogel esférico. En estudios **in vitro** no se alcanzó la meseta de liberación durante las 17 semanas, si que se observó que al aumentar el porcentaje de polímero hasta un 20% el hidrogel era más rígido y por tanto la liberación explosiva inicial del fármaco más baja (17). En cuanto a los estudios **in vivo** se utilizaron conejos blancos de Nueva Zelanda y se compararon los efectos de administrar ESHU frente a una única inyección intravítrea en bolo. Se inyectaron 1,25 mg de bevacizumab (50  $\mu$ L) en los ojos de ambos grupos, observándose que en el grupo ESHU al 15% la liberación de Bevacizumab de mantuvo durante **más de 9 semanas**. En la gráfica se muestra en escala semilogarítmica la concentración de fármaco a lo largo del tiempo. (18)

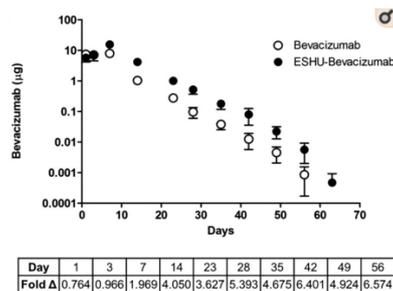


Ilustración 15 Liberación de bevacizumab in vivo. Imagen obtenida de Rauck et al. (18)

En un animal que permaneció bajo observación durante 18 semanas, el gel se volvió más transparente con el tiempo, lo que sugiere la aparición de degradación. Previamente, se demostró que ESHU sufre una degradación de aproximadamente 10% y 20% después de **45 días** in vitro. (18)

- **mPEG-PLGA-BOX** hidrogel formulado por Hu et al (19), se utilizó PEG que forma parte de geles anfífilos (hidrófilos e hidrófobos) y consiste en copolímeros de bloque de metoxi-poli (etilenglicol) -bloque-poli (ácido láctico-co-glicólico). En los estudios **in vitro** la liberación de bevacizumab a partir de hidrogeles de mPEG-PLGA-BOX al 20% (p / p) y al 25% (p / p) duró hasta un mes, sin un efecto de explosión significativo. Además, el **día 30**, la liberación total acumulada de bevacizumab de estos hidrogeles fue del 55% y el 65%, respectivamente. Respecto a los estudios **in vivo** los resultados mostraron que el bevacizumab liberado del hidrogel mPEG-PLGA-BOX sensible al calor suprimió la angiogénesis de los ojos de conejos, sin embargo, es necesario la realización de más ensayos a pesar de los resultados prometedores.

Se ha demostrado que el hidrogel descrito es un vehículo adecuado para albergar fármacos inyectables intravítreos, en concreto para la administración de bevacizumab. La histomorfología de la retina del conejo indicó que mPEG-PLGA-BOX intravítrea no es tóxico. (19)

- **PLGA-PEG-PLGA** se trata de un gel formulado por Xie et al (20) formado por poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) -poli (etilenglicol) - poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) en el que también se utilizó PEG. Los ensayos in vitro mostraron una liberación de ráfaga inicial de bevacizumab (15% liberado en las primeras 6 h) seguida de una fase de liberación lenta durante hasta **14 días**, en lo referente a los ensayos **in vivo** se utilizaron ratas Sprague-Dawley

a las que se les inyectó 1,5 µl del hidrogel (18,75 µg de bevacizumab, 20% (p / v) de PLGA-PEG-PLGA), se observó que un día después de la inyección, las concentraciones de bevacizumab en el humor vítreo alcanzaron 56,56 µg / ml y 59,31 µg / ml para la solución acuosa de bevacizumab y para el hidrogel respectivamente. A las **4 semanas** la concentración de bevacizumab en el humor vítreo fue de 0,03 µg / ml en animales inyectados con el hidrogel mientras que no se detectó fármaco en el humor vítreo de animales inyectados con la solución acuosa. Como se ha demostrado, los autores detectaron pequeñas diferencias en la liberación de bevacizumab, por lo que estos resultados deben interpretarse con cautela. (20)

- **PEOz-PCL-PEOz** es un hidrogel biodegradable del polímero tribloque poli (2-etil-2-oxazolina) -b-poli (ε-capro-lactona) -b-poli (2-etil-2-oxazolina) creado por Wang et al (21). De manera **in vitro** se liberó Bevacizumab a una velocidad constante de 40 µg / día durante 11 días sin un efecto de explosión inicial, también se observó que el 80% del bevacizumab cargado se liberó en **20 días**, sin embargo, no se alcanzaron concentraciones terapéuticas en los momentos iniciales con este hidrogel. (21)
- **PNIPAm-PEG DA** Awwad et al (22) creó este hidrogel formado por poli (N-isopropilacrilamida) termorresistente reticulado con diacrilato de poli (etilenglicol). En ensayos **in vitro** se observó un perfil de liberación bimodal formado por una primera fase de ráfaga (60% de bevacizumab se eliminó después de **5 días**) seguida de una fase de liberación prolongada más lenta hasta el día 28. No se tienen datos de estudios en modelos animales. (22)
- NO TERMOSENSIBLES
- **PEG-Mal** de 4 brazos y **PEG-SH** de 4 brazos fue sintetizado por Yu et al (23), al tratarse de un hidrogel no termosensible su comportamiento de gelificación se ve menos afectado por los cambios de temperatura, en los ensayos **in vitro** se apreció que un aumento en la densidad de reticulación en estos geles produce una disminución en la tasa de liberación de Bevacizumab, por lo que la liberación más lenta se logró con el hidrogel que poseía la densidad de reticulación más alta (solución de PEG-SH de 4 brazos al 7,5% (p / v)) con

aproximadamente un 20% de bevacizumab liberado en un día y casi un 70% de bevacizumab liberado en los siguientes **14 días**.

El tiempo de gelificación, tamaño de poro, relación de hinchamiento y propiedades mecánicas de este hidrogel se pueden controlar modulando la concentración de PEG-SH de 4 brazos. (23)

- **(HA-VS) y dextrano tiolado in situ** se trata de un hidrogel sintetizado por Yu et al (24) que utilizó HA como uno de los componentes principales porque se encuentra de manera natural en el ojo. De manera **in vivo** se utilizaron conejos blancos de Nueva Zelanda a los que se les inyectaron 40  $\mu$ L del hidrogel, la concentración de Bevacizumab en el vítreo estaba a un nivel terapéuticamente relevante (alrededor de 50  $\mu$ g / ml) a los **6 meses** aproximadamente 107 veces mayor en comparación con una solución de Bevacizumab. Además, los autores afirman que la estabilidad de las proteínas no se ve comprometida puesto que no existen interacciones hidrofóbicas entre el anticuerpo y el polímero. (24)

La siguiente imagen muestra la concentración de Avastin (Roche Ltd, Bevacizumab) comparando la inyección en gel frente a la inyección en bolo.

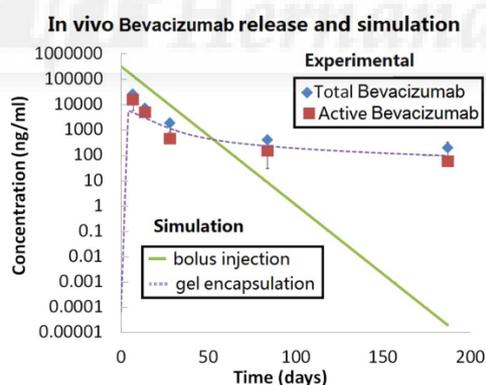


Ilustración 16 Imagen obtenida de Yu et al (24).

- **Fibroína de seda** es el componente de este hidrogel sintetizado por Lovett et al (25), de manera **in vitro** probaron una dosis estándar (1,25 mg de bevacizumab) y una dosis alta (5,0 mg de bevacizumab) en formulaciones de hidrogel. Ambos tipos de hidrogeles mostraron una alta liberación de

explosión hasta el día 7 y una liberación final acumulada del 40% y 62% después de **91 días**, respectivamente. En cuanto a los ensayos **in vivo** se inyectaron intravitreamente (50  $\mu$ L / ojo) en conejos Dutch-belted y se obtuvieron semividas vítreas de 10 días para la dosis alta y 13,1 para la dosis estándar, ambos fueron significativamente más altas en comparación con el control de dosis estándar (4.32 días). Teniendo en cuenta estos resultados a los **90 días** para los hidrogeles y a los 30 días para el control, los autores concluyen que estas formulaciones en gel pueden proporcionar niveles terapéuticos de bevacizumab durante al menos tres veces más que con la dosis en solución. No obstante, se ha encontrado algo de inflamación leve en el vítreo y la córnea en los conejos después de la inyección de hidrogel, lo que podría comprometer sus buenos resultados de liberación. (25)

#### SISTEMAS PARTICULADOS:

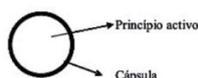
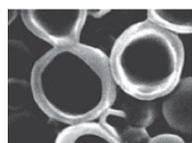
Las partículas nanométricas y microscópicas se pueden utilizar como DDS para administración intravítrea ya que permiten prolongar la vida media en el humor vítreo, al liberar el fármaco de forma más controlada y verse menos afectados por los mecanismos de depuración vítreos. Un aspecto negativo de este tipo de DDS al inyectarse es que pueden causar visión borrosa debido a la flotación de las partículas. (2)

Estos sistemas particulados se pueden dividir en dos, según el tamaño de partícula que obtengamos:

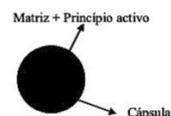
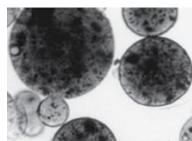
- **Nanopartículas (NP; 1-1000nm).**
- **Micropartículas (MP; 1-1000 $\mu$ m).**

Tanto las NP como los MP se pueden dividir a su vez en dos subtipos según su estructura:

- *Nano / microcápsulas:* para estructuras de reservorio.
- *Nano / microsferas:* para estructuras de matriz.



Nano/microcápsula



Nano/microesfera

*Ilustración 17 Imagen obtenida de Yang et al. (26)*

Para poder inyectar las NP / MP con una aguja y sin realizar una incisión quirúrgica deben suspenderse en un medio compatible. En este sentido, los parámetros como jeringabilidad<sup>3</sup> e inyectabilidad<sup>4</sup> son de gran importancia para el desarrollo de formulaciones intravítreas.

Un estudio demostró que una NP de 200nm podía penetrar en la retina de los conejos, mientras que una MP de 2  $\mu$ m se mantenía dentro del humor vítreo (27). Sin embargo, se considera que el tiempo de liberación proporcionado por los NP es más corto en comparación con los MP. Por tanto, su utilidad radica en sus características de penetración en la retina e internalización celular. (28)

Estas partículas están compuestas por polímeros biocompatibles y biodegradables, los más utilizados son PLGA, quitosano y el HA. Podemos observar que los resultados son dispares por las diferencias en los materiales, los métodos de síntesis, la eficiencia de encapsulación (EE) o el anticuerpo utilizado.

El sistema de administración de nanopartículas tiene varias ventajas que mejoran la biodisponibilidad del principio activo en comparación con los sistemas de administración convencionales (2):

- Mayor penetración corneal.
- Liberación prolongada.
- Gran área de disolución.

<sup>3</sup> Facilidad de inyección del producto.

<sup>4</sup> Facilidad de penetración del producto a través de una fisura.

- **Copolímeros pentabloques biodegradables** es un novedoso sistema de NP creado por Patel et al (2) para encapsular productos biológicos como IgG, bevacizumab y FITC-BSA. En estudios **in vitro** se muestra una liberación sostenida de Bevacizumab durante **4 meses**. Las NP no demostraron ninguna citotoxicidad ni liberación de mediadores inflamatorios, hace que sea un buen sistema de liberación de fármaco para disminuir el número de inyecciones. (2)
- **eBev-DPPN y cBev-DPN** son nanopartículas de poli (D, L-lactida-co-glicólido) / polietilenimina (eBev-DPPN) llevadas a cabo por Liu et al (29) cargadas con dexametasona conjugado electrostáticamente con bevacizumab para el tratamiento combinado angiogénico de enfermedades oculares frente a nanopartículas de PLGA cargadas con dexametasona (cBev-DPN) conjugadas químicamente con bevacizumab.

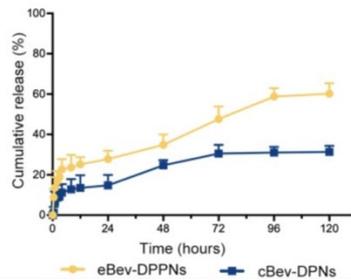
La diferencia entre estas dos partículas es el uso de polietilenimina (PEI) polímero que presenta un efecto captador de protones; se ha informado que la PEI tiene una carga positiva alta, lo que la hace interactuar electrostáticamente con moléculas cargadas negativamente. El bevacizumab se adsorbió sobre las superficies de las nanopartículas mediante interacciones electrostáticas, en los estudios **in vivo**, realizados con conejos blancos de Nueva Zelanda y conejos Chinchillaf, se dividieron en cinco grupos de 3 conejos cada uno. La solución del fármaco (dexametasona, bevacizumab y eBev-DPPN o cBev-DPN) en solución salina se inyectó intravítreamente durante 28 días y, se realizó angiografía del fondo del ojo con fluoresceína para detectar anomalías vasculares.

Bevacizumab estaba más integrado en la superficie de los eBev-DPPN que en los cBev-DPN, lo que indica que la estrategia de conjugación electrostática tuvo mejor eficacia terapéutica. (29)

Los eBev-DPPN liberaron dexametasona un poco más rápido que los cBev-DPN. Este resultado podría deberse al hecho de que bevacizumab se disoció más lentamente de la superficie de las cBev-DPN que de las eBev-DPPN, la liberación más rápida de dexametasona y bevacizumab de eBev-DPPN

proporciona una ventaja clave que beneficia al tratamiento al permitir que la ventana terapéutica se alcance más rápidamente.

Se liberó una ráfaga inicial de dexametasona de los eBev-DPPN y los cBev-DPN, con un 25,2% y un 13,5% liberados en 12 h, respectivamente. A las 120 h, la liberación acumulada de bevacizumab fue del 60,2% y del 31,4% de los eBev-DPPN y los cBev-DPN, respectivamente. (29)



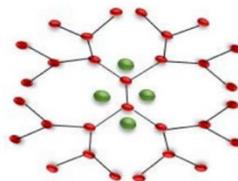
*Ilustración 18 Liberación in vitro de bevacizumab de eBev-DPPN y cBev-DPN. Imagen obtenida de Liu et al. (29)*

Otro sistema nanoportador que se ha explotado son los **dendrimeros**. Se define como una estructura ramificada en el exterior y un núcleo central para encapsular y dirigir una variedad de moléculas. Los dendrimeros pueden atrapar numerosos pesos moleculares de moléculas hidrófilas o hidrófobas.

Al diseñar un dendrímero, es fundamental considerar:

- El peso molecular.
- El tamaño.
- La carga superficial
- La geometría molecular.
- El grupo funcional.

Estos parámetros desempeñan un papel clave en la administración del fármaco.



Dendrimers

*Ilustración 19 Imagen obtenida de Joseph et al. (2)*

- **Dendrimeros de aminoácidos** fueron utilizados por Marano et al para administrar oligonucleótidos anti-VEGF en el ojo así tratar la NVC inducida por láser. De manera **in vivo** se mostró inhibición de la NVC y se observó un

oligonucleótido en las capas de células de la retina, el efecto se dio entre **4-6 meses**.

A pesar de las muchas ventajas, los usos del dendrímeros en la administración ocular de fármacos se han limitado debido al alto perfil de toxicidad. La interacción entre la carga positiva de estos y la carga negativa de la membrana biológica provoca la rotura y erosión de la misma. (30)

### IMPLANTES INTRAVÍTREOS:

Son un modo popular de administración ocular. Los implantes disponibles comercialmente incluyen dexametasona (Ozurdex®), fluocinolona (Iluvien®, Retisert®) y ganciclovir (Vitrasert®). La mayoría de estos implantes se limitan a fármacos de moléculas pequeñas y tienen volúmenes de entre 1,5 a 30 µl. Se trata de dispositivos sólidos que pueden introducirse quirúrgicamente o inyectarse en el humor vítreo.

Uno de los aspectos a tener en cuenta en el desarrollo de implantes es el tamaño ya que deben ser lo suficientemente grandes para garantizar una carga proteica adecuada, pero a su vez deben ser lo suficientemente pequeños para caber dentro del cuerpo vítreo.

Respecto a los **polisacáridos** utilizados en este tipo de DDS también se clasifican en **biodegradables** y **no biodegradables**, siendo más prometedores los primeros ya que los no biodegradables requieren su retirada quirúrgicamente del ojo una vez que se ha agotado el fármaco.

Actualmente se encuentra en experimentación y esperando a ser autorizado el implante Port Delivery System (Genentech) es un implante no biodegradable que se aplica para administrar ranibizumab en la cavidad vítrea durante un período de tiempo prolongado. La principal característica importante de este implante es su capacidad para rellenarse mediante inyección transconjuntival. Está desarrollado por la empresa farmacéutica Roche y el estudio que se está llevando a cabo se llama Archway, está investigando la seguridad y la tolerabilidad a largo plazo del PDS para el tratamiento de la DMAE. (31)

Los resultados completos del estudio Archway se presentarán en una próxima reunión médica y se enviarán a las autoridades sanitarias de todo el mundo, incluida la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU. Y la Agencia Europea de Medicamentos, para considerar la aprobación regulatoria para el tratamiento de DMAE.

En cuanto a la investigación preclínica:

- Implante formado por dos películas nanoporosas mediante sellado térmico de **poli (caprolactona) biodegradable** de 10 mm creado por Lance et al (32) que contenían entre ellas una pastilla de ranibizumab de 3 mm de diámetro. En los ensayos **in vitro** se produjo una liberación bifásica de ranibizumab: una liberación repentina en las primeras cinco semanas seguida de una segunda fase de liberación que disminuye gradualmente hasta la semana 16 (se libera el 62,8% de la carga útil inicial), sugiere que en las condiciones **in vitro** puede alcanzar una vida útil de aproximadamente **25 semanas**. En cuanto a los ensayos **in vivo** se administró este implante en conejos blancos de Nueva Zelanda y el ranibizumab fue detectable en el vítreo hasta las **12 semanas**. (32)

#### LIPOSOMAS:

Los liposomas son pequeñas vesículas cerradas compuestas por una bicapa de fosfolípidos, los fármacos solubles en agua pueden incorporarse a su fase acuosa, mientras que los fármacos liposolubles pueden incorporarse a su fase lipídica. El tamaño de las bicapas varía entre 0.01 a 1  $\mu\text{m}$ . (33)

Se trata de nanoportadores vesiculares no tóxicos y biocompatibles, que se pueden usar para encapsular agentes terapéuticos y así proporcionar una liberación sostenida. Su tamaño, carga, rigidez de membrana y eficiencia de encapsulación se pueden modificar fácilmente. (34) Encontramos los siguientes:

- **Nanoliposomas compuestos por el fosfolípido fosfatidilcolina de huevo y colesterol** en una proporción 1:1 M propuestas por Abrishami y col. (35) que encapsulan Bevacizumab con una EE de 45,5%. En estudios **in vivo** se utilizaron conejos albinos de nueva Zelanda inyectando 1.25 mg de

bevacizumab. La concentración media de fármaco libre en los ojos que recibieron bevacizumab liposomal en comparación con los ojos inyectados con bevacizumab soluble fue 48 frente a 28  $\mu\text{g} / \text{ml}$  en el día 28 y 16 frente a 3,3  $\mu\text{g} / \text{ml}$  el día 42. (35)

- **Bev-MVL** se trata de liposomas multivesiculares cargados con Bevacizumab (mediante doble emulsificación **(W/O/W)**) preparados por Mu et al (36). Se mezclaron lípidos (que contiene 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, colesterol y trioleína) con una relación de volumen de 1:1, obteniendo una EE% de 80,65%. De manera **in vitro** la liberación por ráfaga inicial fue inferior al 30% y el **día 13** se liberó aproximadamente el 90% de bevacizumab, en lo referente a los estudios **in vivo** se utilizaron conejos albinos de Nueva Zelanda a los que se les inyectó 0,25 mg de bevacizumab / 10  $\mu\text{L}$ , de Bev-MVL y Bevacizuman en solución (Bev-S). En el humor vítreo los resultados fueron 37.22 y 11.23  $\mu\text{g}/\text{ml}$  a los 28 días y las concentraciones finales a los **56 días** fueron 3.24 y 0.016  $\mu\text{g}/\text{ml}$  respectivamente. (36)

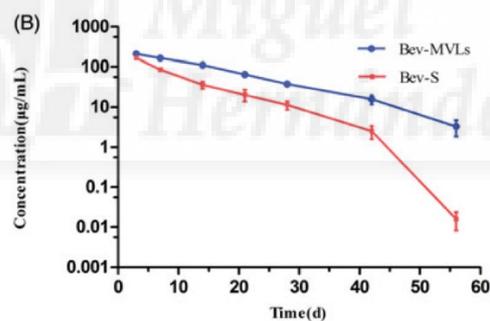


Ilustración 20 Imagen obtenida de Mu et al. (36)

### SISTEMAS COMBINADOS:

Se pueden asociar los distintos DDS para poder aprovechar sus respectivas ventajas.

- **Diacrilato de poli (etilenglicol) (PEG-DA) y N-isopropilacrilamida (NIPAAm)**, este hidrogel termosensible generado por Osswald and Kang-Mieler (37) estaba formado por microesferas de PLGA de  $\sim 7 \mu\text{m}$  cargadas con aflibercept (40 mg / ml) como fase acuosa interna.

Se realizó esta incorporación de las MP al hidrogel para disminuir la liberación de ráfaga inicial de las mismas. (37) En los estudios **in vivo** se utilizaron diez macacos rhesus sanos (*Macaca mulatta*) a los que se les administraron 50  $\mu$ l de aflibercept-DDS por vía intravítrea en el ojo derecho y posteriormente se midió la concentración vítrea de aflibercept bioactivo (Ilustración 19). La muestra del cuarto mes no se analizó al haber alcanzado una temperatura ambiente. Se detectó una concentración constante de aflibercept durante los primeros 5 meses, observándose una disminución de la concentración (<1 ng /  $\mu$ L) a los **6 meses**. (38)

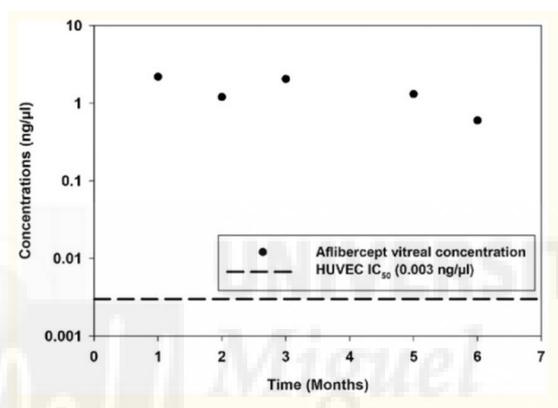


Ilustración 21 Imagen obtenida de Kim et al. (38)

El estudio actual mostró seguridad, tolerabilidad y biocompatibilidad *in vivo* por lo que aflibercept-DDS puede ser un método eficaz para administrar agentes anti-VEGF al reducir la frecuencia de inyecciones y proporcionar una liberación controlada del fármaco. No se apreciaron anomalías en el segmento anterior, ni cambios significativos en la estructura o función de la retina, no obstante, si que existió una leve reacción focal a cuerpo extraño. (38)

- **NP de bevacizumab en implante de ácido hialurónico** llevadas a cabo por Badiee et al (39) las NP estaban formadas por quitosano y cargadas con Bevacizumab mediante el método de gelificación iónica, estas se insertaron en la matriz de ácido hialurónico y sulfato de zinc. En los estudios **in vitro** se observó un perfil de liberación sostenida y se liberó un 46,70% de anticuerpo igual a 934  $\mu$ g después de **60 días** del implante.

En las siguientes gráficas se observa que la presencia de una concentración adecuada de albúmina de suero bovino (Bovine serum albumin BSA) era necesaria para la protección del anticuerpo durante el tiempo de liberación. En la gráfica A' (a gran escala) se observa el medio de liberación sin BSA y en la gráfica B el medio contenía 1% de BSA, en ambos observamos el porcentaje de Bevacizumab liberado del implante frente al tiempo en el humor vítreo.

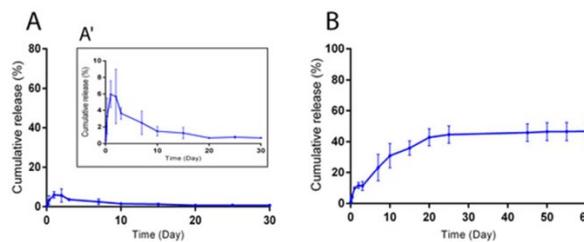


Ilustración 22 Imagen obtenida de Badiee et al. (39)

- **NPinPMP:** son NP de ácido poliglicólico (PLA) recubiertas con Bevacizumab y encapsuladas en MP porosas de PLGA al 10% p/p llevadas a cabo por Yandrapu et al (40). El tamaño medio de partícula de PLGA MP simple fue de 1,6  $\mu\text{m}$  y 265 nm la NP de PLA recubierta con bevacizumab. De manera **In vitro** se observó una liberación sostenida sin cambios durante **4 meses** en un medio con PBS pH 7,4. (40)

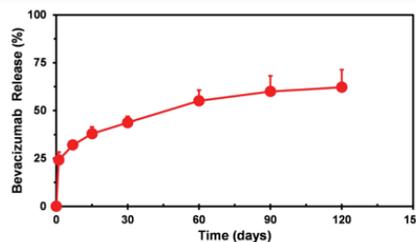


Ilustración 23 Imagen obtenida de Yandrapu et al. (40)

En cuanto a los ensayos **in vivo** se utilizaron ratas para llevarlos a cabo, la concentración fue de 21,1  $\mu\text{g} / \text{ml}$  en el vítreo durante el día 1, 13,96  $\mu\text{g} / \text{ml}$  en el día 45 y finalmente la concentración de Bevacizumab volvió al valor inicial en el **día 60**, esto muestra una liberación sostenida. En la siguiente gráfica podemos observar los niveles de fluoresceína que muestran la concentración de Bevacizumab frente al tiempo.

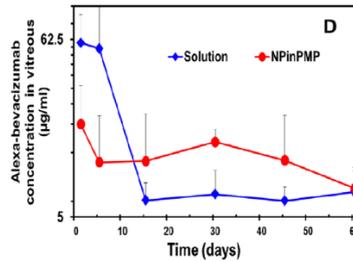


Ilustración 24 Imagen obtenida de Yandrapu et al. (40)

## CONCLUSIONES

- La ventaja que presenta esta vía de administración es la capacidad para que el PA alcance concentraciones terapéuticas en el ojo sin resultar tóxicas como sería por vía oral o sistémica; actuando localmente sobre la retina y la mácula. Las formulaciones con liberaciones sostenidas permiten espaciar las inyecciones intravítreas lo que supone un beneficio para el paciente y un menor gasto para el sistema sanitario.
- Los estudios llevados a cabo en animales indican que las formulaciones no convencionales con materiales más fisiológicos generalmente hidrófilos permiten una liberación más lenta y parecen ser las indicadas para el tratamiento de la degeneración macular.
- No es posible hacer una comparación exacta de los distintos DDS puesto que cada ensayo se llevo a cabo en condiciones muy dispares al igual que el análisis de sus resultados. Podríamos destacar que los hidrogeles son las formulaciones más prometedoras puesto que son los DDS con más estudios, no obstante, el implante de poli (caprolactona) biodegradable que contenía ranibizumab presentó in vitro la liberación más prolongada durante 25 semanas (~ 6 meses), siendo el principal objetivo de la administración intravítrea, buscar una formulación que permita espaciar las inyecciones del fármaco.

## BIBLIOGRAFIA

1. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE) [Internet]. [cited 2020 Nov 1]. Available from: <https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/oftalmologicas/degeneracion-macular-asociada-edad-dmae.html>
2. Joseph M, Trinh HM, Cholkar K, Pal D, Mitra AK. Recent perspectives on the delivery of biologics to back of the eye [Internet]. Vol. 14, Expert Opinion on Drug Delivery. Taylor and Francis Ltd; 2017 [cited 2020 Oct 13]. p. 631–45. Available from: [/pmc/articles/PMC5570518/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35570518/)
3. Anatomía del ojo humano [Internet]. [cited 2020 Nov 1]. Available from: <http://www.sabelotodo.org/anatomia/globoocular.html>
4. DMAE: Síntomas y tratamientos | IMO [Internet]. [cited 2020 Mar 27]. Available from: <https://www.imo.es/es/dmae>
5. Gheorghe A, Mahdi L, Musat O. AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION. Vol. 59, Romanian Journal of Ophthalmology.
6. Desprendimiento de Vitreo-Retina, DMAE | IOA Madrid [Internet]. [cited 2020 May 19]. Available from: <https://ioamadrid.com/problema-de-division/vitreo-retina>
7. ¿Qué es la Degeneración Macular? Causas y Tratamiento [Internet]. [cited 2020 Apr 7]. Available from: <https://www.clinicagonzalezcostea.es/que-es-la-degeneracion-macular-causas-y-tratamiento/>
8. Gemenetzi M, Lotery A J. Epigenetics in age-related macular degeneration: new discoveries and future perspectives. 2020 [cited 2020 Apr 21];77:807–18. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03421-w>
9. DMAE, Diagnóstico | Salud Ocular [Internet]. [cited 2020 Nov 2]. Available from: <http://salud-ocular.com/la-dmae/diagnostico-y-autodiagnostico/>
10. Kassoff A, Kassoff J, Buehler J, Eglow M, Kaufman F, Mehu M, et al. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. Arch Ophthalmol [Internet]. 2001 [cited 2020 Nov 2];119(10):1417–36. Available from:

/pmc/articles/PMC1462955/?report=abstract

11. Dexametasona intravítrea como potenciador del tratamiento anti-VEGF en la degeneración macular asociada a la edad neovascular: recuperando un viejo aliado [Internet]. [cited 2020 Sep 28]. Available from: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-66912010000200006](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-66912010000200006)
12. Subrizi A, del Amo EM, Korzhikov-Vlakh V, Tennikova T, Ruponen M, Urtti A. Design principles of ocular drug delivery systems: importance of drug payload, release rate, and material properties [Internet]. Vol. 24, Drug Discovery Today. Elsevier Ltd; 2019 [cited 2020 Nov 2]. p. 1446–57. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.02.001>
13. Ilustraciones Oftalmológicas on Behance [Internet]. [cited 2020 Nov 3]. Available from: <https://www.behance.net/gallery/3655047/Ilustraciones-Oftalmológicas>
14. Varela-Fernández R, Díaz-Tomé V, Luaces-Rodríguez A, Conde-Penedo A, García-Otero X, Luzardo-álvarez A, et al. Drug delivery to the posterior segment of the eye: Biopharmaceutic and pharmacokinetic considerations. Vol. 12, Pharmaceutics. MDPI AG; 2020.
15. Ilochonwu BC, Urtti A, Hennink WE, Vermonden T. Intravitreal hydrogels for sustained release of therapeutic proteins. 2020 [cited 2020 Oct 20]; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.07.031>
16. Ba J, Peng RS, Xu D, Li YH, Shi H, Wang Q, et al. Intravitreal anti-VEGF injections for treating wet age-related macular degeneration: A systematic review and meta-analysis [Internet]. Vol. 9, Drug Design, Development and Therapy. Dove Medical Press Ltd.; 2015 [cited 2020 Sep 15]. p. 5397–405. Available from: </pmc/articles/PMC4592052/?report=abstract>
17. Park D, Shah V, Rauck BM, Friberg TR, Wang Y. An Anti-angiogenic Reverse Thermal Gel as a Drug-Delivery System for Age-Related Wet Macular Degeneration. *Macromol Biosci*. 2013;13(4):464–9.
18. Rauck BM, Friberg TR, Medina Mendez CA, Park D, Shah V, Bilonick RA, et al. Biocompatible reverse thermal gel sustains the release of intravitreal bevacizumab in vivo. *Investig Ophthalmol Vis Sci* [Internet]. 2013 Dec 26

- [cited 2020 Nov 3];55(1):469–70. Available from: [/pmc/articles/PMC3901415/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3301415/)
19. Hu C-C, Chaw J-R, Chen C-F, Liu H-W, Kong S, Memorial WH-S. Controlled release bevacizumab in thermoresponsive hydrogel found to inhibit angiogenesis. 2014;
  20. Xie B, Jin L, Luo Z, Yu J, Shi S, Zhang Z, et al. An injectable thermosensitive polymeric hydrogel for sustained release of Avastin1 to treat posterior segment disease. *Int J Pharm.* 2015;490(1–2):375–83.
  21. Wang CH, Hwang YS, Chiang PR, Shen CR, Hong WH, Hsiue GH. Extended release of bevacizumab by thermosensitive biodegradable and biocompatible hydrogel. *Biomacromolecules.* 2012;13(1):40–8.
  22. Awwad S, Al-Shohani A, Khaw PT, Brocchini S. Comparative Study of In Situ Loaded Antibody and PEG-Fab NIPAAm Gels. *Macromol Biosci.* 2018;18(2):1–12.
  23. Yu J, Xu X, Yao F, Luo Z, Jin L, Xie B, et al. In situ covalently cross-linked PEG hydrogel for ocular drug delivery applications. *Int J Pharm.* 2014;470(1–2):151–7.
  24. Yu Y, Lau LCM, Lo AC, Chau Y. Injectable Chemically Crosslinked Hydrogel for the Controlled Release of Bevacizumab in Vitreous: A 6-Month In Vivo Study. *Transl Vis Sci Technol.* 2015;4(2):5.
  25. Lovett ML, Wang X, Yucel T, York L, Keirstead M, Haggerty L, et al. Silk hydrogels for sustained ocular delivery of anti-vascular endothelial growth factor (anti-VEGF) therapeutics. *Eur J Pharm Biopharm [Internet].* 2015;95:271–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.12.029>
  26. Yang W, Yin G, Zhou D, Gu J, Li Y. In vitro characteristics of surface-modified biphasic calcium phosphate/poly(L-Lactide) biocomposite. *Adv Eng Mater.* 2010;12(4):19–23.
  27. Sakurai E, Ozeki H, Kunou N, Ogura Y. Effect of particle size of polymeric nanospheres on intravitreal kinetics. *Ophthalmic Res.* 2001;33(1):31–6.
  28. Huang X, Chau Y. Intravitreal nanoparticles for retinal delivery. *Drug Discov Today [Internet].* 2019;24(8):1510–23. Available from:

- <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.05.005>
29. Liu J, Zhang X, Li G, Xu F, Li S, Teng L, et al. Anti-angiogenic activity of bevacizumab-bearing dexamethasone-loaded PLGA nanoparticles for potential intravitreal applications. *Int J Nanomedicine* [Internet]. 2019 [cited 2020 Oct 7];14:8819–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31819410/>
  30. Marano RJ, Toth I, Wimmer N, Brankov M, Rakoczy PE. Dendrimer delivery of an anti-VEGF oligonucleotide into the eye: A long-term study into inhibition of laser-induced CNV, distribution, uptake and toxicity. *Gene Ther*. 2005;12(21):1544–50.
  31. La administración de ranibizumab a través del sistema Port Delivery System muestra resultados positivos en fase III en degeneración macular asociada a la edad neovascular | Roche España [Internet]. [cited 2020 Nov 5]. Available from: [https://www.roche.es/es\\_es/comunicacion/actualidad/2020/mayo/la-administracion-de-ranibizumab-a-traves-del-sistema-port-deliv.html](https://www.roche.es/es_es/comunicacion/actualidad/2020/mayo/la-administracion-de-ranibizumab-a-traves-del-sistema-port-deliv.html)
  32. Lance KD, Bernards DA, Ciaccio NA, Good SD, Mendes TS, Kudisch M, et al. In vivo and in vitro sustained release of ranibizumab from a nanoporous thin-film device. *Drug Deliv Transl Res* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2020 Oct 16];6(6):771–80. Available from: </pmc/articles/PMC5097678/?report=abstract>
  33. Gote V, Sikder S, Sicotte J, Pal D. Ocular drug delivery: Present innovations and future challenges. *J Pharmacol Exp Ther*. 2019;370(3):602–24.
  34. Joseph RR, Tan DWN, Ramon MRM, Natarajan J V., Agrawal R, Wong TT, et al. Characterization of liposomal carriers for the trans-scleral transport of Ranibizumab. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2020 Oct 17];7(1). Available from: </pmc/articles/PMC5711922/?report=abstract>
  35. Abrishami M, Ganavati SZ, Soroush D, Jaafari MR. Intravitreal Administration. *Ophthalmology*. 2009;29(5):699–703.
  36. Mu H, Wang Y, Chu Y, Jiang Y, Hua H, Chu L, et al. Multivesicular liposomes for sustained release of bevacizumab in treating laser-induced

- choroidal neovascularization. *Drug Deliv* [Internet]. 2018;25(1):1372–83. Available from: <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1474967>
37. Osswald CR, Kang-Mieler JJ. Controlled and Extended Release of a Model Protein from a Microsphere-Hydrogel Drug Delivery System. *Ann Biomed Eng*. 2015;43(11):2609–17.
  38. Kim S, Kang-Mieler JJ, Liu W, Wang Z, Yiu G, Teixeira LBC, et al. Safety and biocompatibility of aflibercept-loaded microsphere thermo-responsive hydrogel drug delivery system in a nonhuman primate model. *Transl Vis Sci Technol* [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 7];9(3). Available from: </pmc/articles/PMC7354880/?report=abstract>
  39. Badiie P, Varshochian R, Rafiee-Tehrani M, Abedin Dorkoosh F, Khoshayand MR, Dinarvand R. Ocular implant containing bevacizumab-loaded chitosan nanoparticles intended for choroidal neovascularization treatment. *J Biomed Mater Res - Part A*. 2018;106(8):2261–71.
  40. Yandrapu SK, Upadhyay AK, Petrash JM, Kompella UB. Nanoparticles in porous microparticles prepared by supercritical infusion and pressure quench technology for sustained delivery of bevacizumab. Vol. 10, *Molecular Pharmaceutics*. 2013. 4676–4686 p.