



**FACULTAD DE FARMACIA**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO: MICROENCAPSULACIÓN DE  
SUSTANCIAS ACTIVAS PARA EL  
TRATAMIENTO DE PATOLOGÍAS DE LA  
VÍA OCULAR**

Autor: Sergio Esteban Pérez

D.N.I.: 70077853G

Tutor: Irene Bravo Osuna

Convocatoria: Junio de 2015

## Índice

Índice.....	1
Introducción y Antecedentes .....	2
Objetivo .....	2
Material y Métodos.....	3
Anatomía ocular .....	3
Principales patologías del segmento posterior del ojo .....	4
Glaucoma .....	4
Degeneración macular asociada a la edad (DMAE) .....	4
Retinopatía diabética .....	5
Vías de administración oculares.....	5
Micropartículas .....	7
Formación de micropartículas.....	7
Caracterización de micropartículas.....	9
Esterilidad de micropartículas.....	11
Estrategias tecnológicas para optimización de micropartículas en formulaciones intraoculares .....	11
Jeringabilidad e Inyectabilidad.....	12
Estudios de tolerancia de microesferas .....	12
Micropartículas en terapéutica ocular.....	13
Artículos reseñables en este campo de investigación .....	13
Ventajas y limitaciones.....	17
Conclusión y perspectivas futuras.....	18
Bibliografía .....	18

## Introducción y Antecedentes

Las patologías que afectan al segmento posterior del ojo se encuentran entre las principales causas de ceguera en países desarrollados.

El tratamiento de estas patologías consiste en la administración reiterada de inyecciones intravítreas para obtener concentraciones terapéuticas sostenidas en el lugar de acción. Esto supone una falta de tolerancia por el paciente y un riesgo incrementado de efectos adversos derivados de la frecuencia de administración.

Esto es consecuencia de la dificultad de acceso del fármaco al tejido diana, además de imposibilitar una terapéutica rápida y eficaz, ya que resulta complicado obtener concentraciones constantes durante largos periodos de tiempo

El empleo de sistemas de cesión prolongada es una alternativa al uso de la terapéutica convencional, constituida por inyecciones intravítreas de repetición, permitiendo distanciar las administraciones. Además, posibilita el empleo de nuevos fármacos tales como anticuerpos de origen monoclonal entre los que destaca el bevacizumab (anti-VEGF), los cuales son francamente útiles en el tratamiento de las patologías del segmento posterior ocular tan prevalentes como la degeneración macular asociada a la edad (DMAE).

En relación a los sistemas de cesión prolongada, las micropartículas de materiales biodegradables permiten ser administradas en el segmento posterior del ojo mediante una sencilla inyección y son capaces de ceder el principio activo de una manera controlada. Además, al emplearse un material biocompatible y biodegradable, éstas van a ser toleradas por el ojo y se produce una posterior degradación biológica en el lugar de acción una vez finalizado su efecto.

## Objetivo

El objetivo de este trabajo radica en mostrar el potencial de las microesferas como sistemas de liberación modificada de fármacos para el tratamiento de patologías oculares, además de un breve estudio anatómico del globo ocular y sus patologías más características.

Otros puntos a tratar son el análisis de las diversas vías de administración oculares, así como las técnicas de fabricación de microesferas a través de los diversos métodos, junto

a las características tecnológicas y sus propiedades físico-químicas para una potencial administración en el ser humano.

Por último, se pretende hacer una revisión de diversos artículos reseñables mostrando el empleo actual de las micropartículas en el tratamiento de patologías del segmento posterior del ojo o la regeneración de tejidos como el retiniano.

## Material y Métodos

Se realiza una revisión bibliográfica de las aplicaciones biomédicas de las micropartículas aplicadas en las patologías del segmento posterior del ojo y sus actuales vías de investigación en las numerosas bases de datos informáticas entre las que destaca Pubmed, así como, diversos libros de Farmacología, oftalmología y Tecnología farmacéutica, entre otros.

## Anatomía ocular

Anatómicamente, el globo ocular se divide en tres cubiertas o capas de revestimiento y contenido intraocular. Las tres capas son de fuera a dentro (1):

- Externa, constituida por la conjuntiva, la esclera y la córnea.
- Media, denominada úvea. Ésta se subdivide en una parte más anterior (iris y cuerpo ciliar) y otra posterior (coroides), en íntimo contacto con la retina.
- Interna o retina, que alberga los fotorreceptores. Es la capa nerviosa.

Para facilitar su estudio, se habla de dos segmentos del globo ocular, a saber, anterior y posterior. El segmento anterior comprende la parte del mismo situada desde la córnea hasta el cristalino inclusive. Éste, a su vez, está subdividido en cámara anterior (entre la superficie corneal y el iris) y posterior (entre el iris y el cristalino); ambas bañadas por humor acuoso. El segmento posterior es la parte situada tras el cristalino, que engloba al cuerpo vítreo, la retina y el nervio óptico.

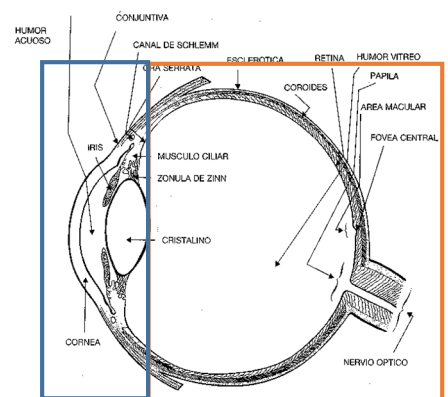


Figura 1. Anatomía del ojo

## Principales patologías del segmento posterior del ojo

Las patologías de mayor prevalencia que causan discapacidad visual irreversible en los países desarrollados son DMAE, el glaucoma y la retinopatía diabética.

### Glaucoma

El glaucoma es una neuropatía óptica degenerativa asociada a la muerte celular (apoptosis) de las células ganglionares de la retina que puede dar lugar a la pérdida total de visión. La presión intraocular (PIO) elevada es el principal factor de riesgo y su reducción es el objetivo principal en el tratamiento del glaucoma. Esta hipertensión ocular ocurre por un exceso de producción humor acuoso o un fallo en su eliminación. En el sistema trabecular, el humor acuoso se genera en el cuerpo ciliar, circula por la malla trabecular y finalmente es eliminado a través del canal de Schlemm, un pequeño capilar que drena al sistema circulatorio. El humor acuoso también se puede eliminar a través del sistema uveoescleral a través de los tejidos blandos de la zona frontal ocular. En el ojo sano esta situación se encuentra en equilibrio. Cuando se da una disminución en el drenaje del humor acuoso, se produce un aumento de la presión intraocular, que con el tiempo, puede derivar en glaucoma. Se habla de glaucoma si existe daño a nivel de la cabeza del nervio óptico y/o afectación del campo visual secundario a la pérdida de células ganglionares de la retina. Este proceso es irreversible y es una de las primeras causas de ceguera en el primer mundo.

El objetivo del tratamiento es mantener la función y el campo visual protegiendo las estructuras oculares afectadas mediante la reducción de la presión intraocular.

### Degeneración macular asociada a la edad (DMAE)

Es una enfermedad que afecta a una parte de la retina denominada mácula, tejido fotosensible, necesario para la visión en detalle, por lo que en las personas con DMAE, la visión central se deteriora gradualmente. Suele definirse como una pérdida visual en personas mayores de 50 años debido a atrofia del epitelio pigmentario de la retina o a cambios asociados con neovascularización. Existe una forma no evolutiva denominada maculopatía asociada a la edad (MAE) y una forma evolutiva que corresponde al estadio avanzado o tardío de la MAE denominada DMAE. La DMAE se clasifica en seca o atrófica (90%) y exudativa o neovascular.

Actualmente no existe ningún tratamiento que haya demostrado una eficacia clínica suficiente para mejorar o detener la progresión de la DMAE atrófica.

En el caso de la DMAE exudativa el tratamiento consiste en la administración de corticoides solos o en combinados. En esta patología hay una neovascularización por la sobreexpresión del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). Debido a esto, el tratamiento farmacológico más eficaz son los preparados anti-VEGF (ranibizumab, bevacizumab, aflibercept) administrados por vía intravítrea mensualmente, pues la vida media de estos principios activos es corta.

### Retinopatía diabética

Consiste en una microangiopatía retiniana de origen diabético que engloba cambios en los vasos y en la neuroglia, conduciendo a una grave pérdida de visión que puede terminar en ceguera total. Afecta aproximadamente al 30% de los pacientes diabéticos y es la causa de ceguera más frecuente en la población en edad laboral (menores de 60 años). El tratamiento primario se basa en control de los síntomas diabéticos.

### Vías de administración oculares

Comparado con la administración de fármacos en otras áreas del cuerpo, el sistema ocular ha supuesto importantes desafíos a la hora de la administración a través de esta vía. Las principales rutas de administración son (6):

**Administración tópica.** La mayoría de los fármacos se administran en forma de colirios. Es empleada para tratar enfermedades del segmento anterior del ojo ya que está destinada a ejercer efecto sobre las diferentes capas de la córnea, conjuntiva o esclera y otros tejidos del segmento anterior como el iris o el cuerpo ciliar. Las barreras anatómicas afectan negativamente a la biodisponibilidad de las formulaciones tópicas, sumadas a factores precorneales como puede ser el drenaje de la solución, las lágrimas o la película lagrimal.

**Administración parenteral** En cuanto a esta vía, las barreras sangre-humor acuoso y sangre-retina son las principales barreras en el segmento anterior y el posterior respectivamente. Ambas muestran complejos de uniones estrechas evitando la entrada del fármaco en el sistema ocular, es por esto que resultan necesarios sistemas de vectorización específicos por vía oral o intravenosa para transportar moléculas a las capas más profundas de la retina. Recientes avances en nanotecnología han significado vías para superar esa barrera sangre-retina empleando nanopartículas de oro (7).

**Administración oral** Suele realizarse en combinación con colirios. Esta vía es utilizada por diferentes razones, ya la vía tópica por sí misma ha fracasado a la hora de obtener concentraciones terapéuticas en el segmento posterior, además de que la vía oral ha sido planteada como una vía no invasiva y predilecta por el paciente a la hora de tratar patologías crónicas del segmento posterior comparado con la vía inyectable. Uno de los principales problemas de esta vía resulta de la necesidad de una elevada biodisponibilidad del fármaco ya que debe de superar las barreras oculares.

**Administración periocular e intravítrea** A pesar de no resultar ser de las vías de mayor aceptación por parte del paciente, son empleadas para superar la ineficacia de las vías de administración sistémica y tópica para alcanzar concentraciones terapéuticas en el segmento posterior del ojo y, además, la administración sistémica puede llevar a efectos secundarios resultando una vía de administración poco eficaz. La ruta periocular incluye subconjuntiva, subtenon, retrobulbar y peribulbar siendo esta menos invasiva que la ruta intravítrea. La inyección intravítrea ofrece ventajas, ya que las moléculas son directamente inyectadas en el humor vítreo. Sin embargo esta distribución no es uniforme, ya que moléculas pequeñas se pueden distribuir rápidamente a través de él, mientras que la difusión de moléculas de mayor tamaño se encuentra restringida. Otros factores determinantes en el comportamiento de distribución del fármaco son las condiciones fisiopatológicas del globo ocular y el peso molecular del fármaco administrado. Además de ser importante la vida media del fármaco, ya que una vida media corta podría imposibilitar alcanzar concentraciones terapéuticas.

En la administración periocular e intravítrea el fármaco puede sufrir dos vías de eliminación siendo estas la ruta anterior y la ruta posterior. La ruta anterior consiste en la difusión del fármaco a través del humor vítreo hacia el humor acuoso y una eliminación final mediante los vasos sanguíneos de la úvea. La ruta posterior trata de una permeación del principio activo a través de la barrera hematorretiniana, esta ruta supone la necesidad de que el principio activo posea una permeabilidad adecuada o resulte ser sustrato de mecanismos de transporte activo.

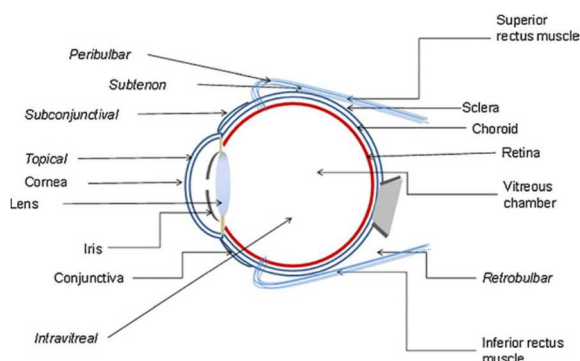


Figura 2. Las diversas vías de administración

## Micropartículas

Son partículas esféricas con un tamaño de partícula comprendido entre una micra y mil micras. En base a su estructura las micropartículas son clasificadas como microcápsulas y microesferas. Las microcápsulas están constituidas por un núcleo de fármaco el cual está recubierto por una capa de polímero (estructura tipo reservorio). A diferencia de las microesferas donde el fármaco se encuentra dispersado en una red polimérica (estructura matricial) (8), encontrándose ambas formadas a partir de materiales biocompatibles y permitiendo un amplio espectro de velocidades de cesión.

Estos materiales biocompatibles han experimentado grandes avances, empleando homopolímeros o copolímeros biodegradables. El término “biomaterial” engloba todos los materiales introducidos en los tejidos corporales con propósitos terapéuticos específicos, de diagnóstico o con propósitos preventivos. Esto supone que no deben generar ninguna respuesta adversa significativa al medio fisiológico. Tras la interacción con este medio, el biopolímero va a degradarse en componentes no tóxicos a través de procesos como la bioerosión o la bioabsorción.

Uno de estos biomateriales más importantes es el polyester PLGA (Figura 3), el cual es un copolímero de ácido poliláctico (PLA) y ácido poliglicólico (PGA). Es el biomaterial mejor desarrollado disponible para la administración de fármacos en cuanto a diseño y rendimiento (10).

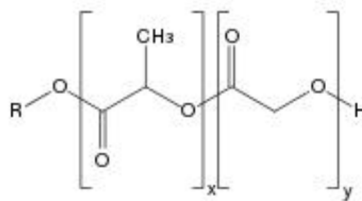


Figura 3. Estructura de PLGA siendo X el número de unidades de ácido láctico e Y el número de unidades de ácido glicólico

## Formación de micropartículas

Existen diferentes modos de elaborar micropartículas. Estos están basados en diferentes eventos fisicoquímicos como son la extracción/evaporación de disolvente de una emulsión, agregación por pH, coacervación a través de separación de fases, polimerización interfacial, gelificación iónica.

La técnica de elaboración de microesferas destinadas a la administración intraocular es la extracción o evaporación de disolvente a partir de una emulsión. Esta técnica consiste en disolver inicialmente el polímero en un disolvente volátil en el cual será incorporado el fármaco (fase interna). Una vez formada esta fase se incorpora un solvente no miscible también denominado fase externa, incorporando un estabilizado para garantizar la formación de partículas esféricas en la fase interior de la emulsión. Entonces la eliminación del solvente volátil es realizada mediante una extracción o evaporación a temperatura ambiente o bajo vacío, cuyo resultado es la formación de micropartículas las cuales son recuperadas mediante filtración o centrifugación y estas son secadas siendo la liofilización la técnica preferida por la alta estabilidad conseguida del producto final.

En el caso del empleo de productos obtenidos a través de la biotecnología se requiere una metodología mucho más sofisticada debido a la baja estabilidad de estos como pueden ser las proteínas las cuales debe prestarse especial atención para preservar su actividad biológica, para ello se realiza una emulsión de acuoleoacuosa (W1/O/W2) en la cual la proteína es disuelta inicialmente en la fase acuosa interna (W1), otras técnicas empleadas son la inclusión de conservantes y estabilizantes de la emulsión o el empleo de la proteína en estado sólido mostrando una mayor protección efectiva de la proteína.

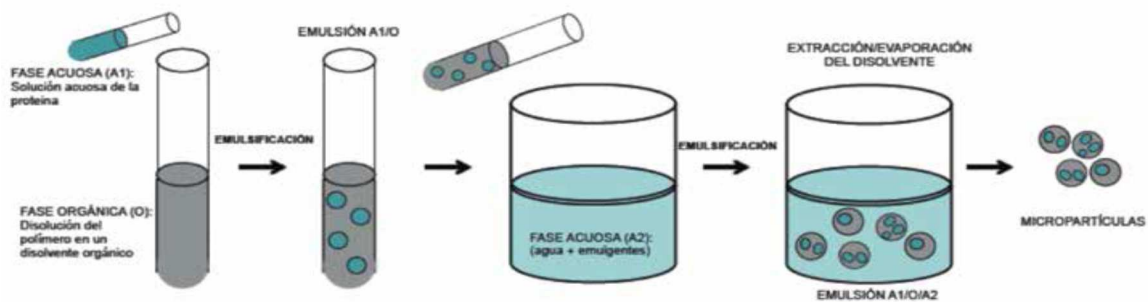


Figura 4. Esquema de la microencapsulación de proteínas mediante la técnica de emulsión A/O/A (acu/oleo/acuosa) extracción- evaporación del disolvente

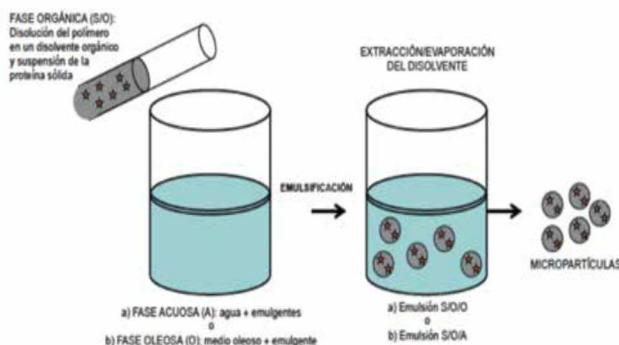


Figura 5. Esquema de la microencapsulación de sustancias activas (a) mediante la técnica de emulsión S/O/O (sólido /oleo/oleosa) extracción-evaporación del disolvente y (b) mediante la técnica de emulsión S/O/A (sólido/oleo/acuosa) extracción-evaporación del disolvente

Otras técnicas de formación de micropartículas son (9):

El proceso de separación de fases consistente en la suspensión de las partículas de fármaco en una disolución con el polímero, añadiendo a continuación un segundo polímero que va a causar la precipitación del primero en forma de gotas líquidas o partículas sólidas. La formación de las micropartículas se va a conseguir adicionando un precipitante del que posteriormente se van a aislar. Estos procesos pasan por muchas variables que deben ser controladas para obtener un resultado satisfactorio, como puede ser la porosidad de las micropartículas influenciada por la velocidad de eliminación del disolvente

El proceso de secado por atomización: el fármaco en disolución acuosa o en forma de partículas sólidas es dispersado en una disolución de polímero disuelto en un disolvente. Esta mezcla se bombea hacia el atomizador de aire caliente donde se secan y se llevan a un separador para ser recogidas.

## Caracterización de micropartículas

Posteriormente a su elaboración, las micropartículas deben ser caracterizadas (12). Este proceso consiste en determinar su eficacia de encapsulación, es decir, determinar el porcentaje de fármaco que ha sido introducido en el interior de las micropartículas y se encuentra dispuesto para ser cedido al medio.

Junto a la determinación de la cantidad de micropartículas obtenidas en relación a la materia prima empleada siendo esto denominado rendimiento total, el rendimiento total es empleado para determinar si el proceso de elaboración de las micropartículas ha sido eficaz.

Seguido de un análisis morfológico con técnicas de imagen, la observación a través de un microscopio óptico y un análisis más preciso realizado a través de un microscopio electrónico.

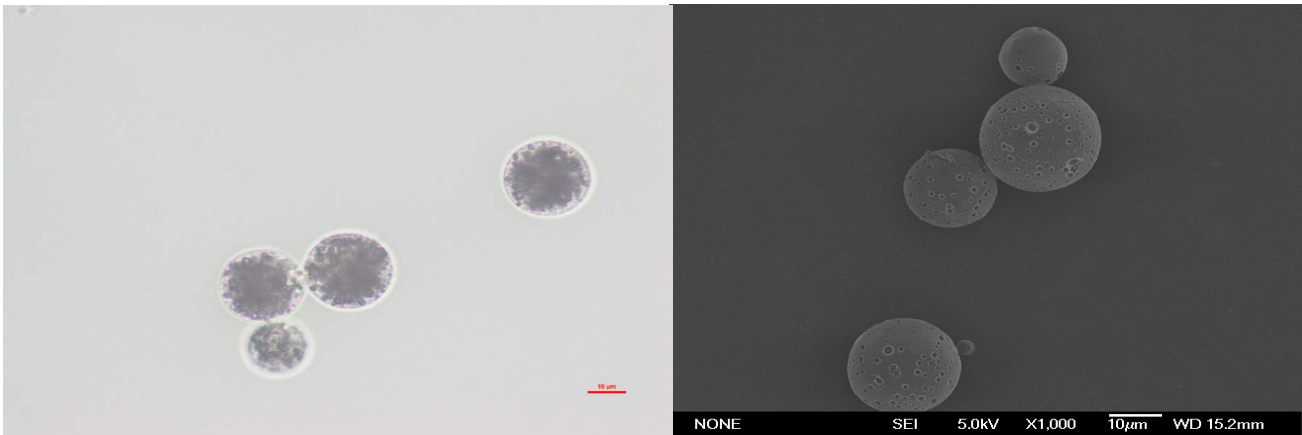


Figura 6. Análisis morfológico de micropartículas cargadas con dexametasona pudiendo observar a la derecha una imagen de un microscopio óptico a 4x mientras que a la izquierda se observan a través de un microscopio electrónico de barrido

Las propiedades físico-químicas van a estar determinadas por el tipo de fármaco y la aplicación *in vivo* en que se va a emplear (9):

- Tamaño de partícula. Es un factor importante ya que la ruta de administración determinará el tamaño requerido para las micropartículas.
- Área superficial / porosidad. Las matrices de porosidad variable facilitan la modulación de la liberación del fármaco. Las micropartículas porosas son esenciales para la liberación de sustancias de elevado peso molecular que no podrían difundir desde una matriz no porosa.
- Contenido fármaco / liberación del fármaco. Esta variable depende de la dosis que se trata de alcanzar y la cantidad de fármaco por tiempo a ceder en cada tratamiento en particular. Los medicamentos de potencia baja deben proporcionarse en dosis elevadas de modo que las micropartículas deben estar muy cargadas de fármaco.
- Tiempos de biodegradación. El tiempo requerido para degradar las micropartículas viene completamente gobernado por la ruta de administración y la frecuencia de las dosis. Por ejemplo, en las rutas de inhalación se requiere un polímero de rápida degradación para evitar acumulaciones, mientras que en una

liberación subcutánea o intramuscular se puede tolerar una degradación más lenta.

## Esterilidad de micropartículas

Teniendo en cuenta que las micropartículas están destinadas a una potencial administración sistémica u otros órganos que requieren de la ausencia de carga microbiana (como puede ser la administración intravítrea), es necesario que pasen por un proceso de esterilización, siendo éste un requisito indispensable (13).

Este requerimiento puede suponer una limitación a la hora del empleo de métodos de esterilización en micropartículas, estas limitaciones normalmente se encuentran relacionadas a la estabilidad de los materiales (fármaco o principio activo) o la generación de productos tóxicos. Además algunos biomateriales como el PLGA son sensibles a los métodos de esterilización convencionales de esterilización como el calor o el etileno (8).

Una de las posibles técnicas de esterilización es la esterilización mediante radiación gamma sobre las microesferas debido a su elevada capacidad de penetración sin embargo esta técnica puede afectar al peso molecular reduciéndolo además de a las propiedades del producto final, para evitar estos problemas se emplea una técnica de radiación gamma empleando bajas temperaturas ya que se ha demostrado que no afecta el proceso de esterilización en estas condiciones a las micropartículas (8).

## Estrategias tecnológicas para optimización de micropartículas en formulaciones intraoculares

En relación a la terapéutica, se debe basar en una medicina personalizada, cubriendo los requerimientos personalizados del paciente. Ante la etiología multifactorial de las patologías del segmento posterior del ojo resulta especialmente interesante emplear diversos excipientes que se ajusten a los requerimientos terapéuticos del paciente. (14)

- Excipientes hidrófilos. Han sido empleados para incrementar la eficiencia de encapsulación, como puede ser el empleo de Lysozima. En el caso del  $\text{NaHCO}_3$ , sin embargo, las características de cesión in-vitro pueden empeorar. Otros coadyuvantes como el polietilenglicol o la gelatina aumentan la liberación de fármaco en las microesferas de PLGA (14).

- Excipientes lipófilos. Han sido incluidos como aditivos en las microesferas para modular la liberación de fármaco. En caso de emplear la técnica de preparación de microesferas de emulsión-evaporación de solvente, se adicionarían en la fase orgánica donde posteriormente se formarían las micropartículas. Además, se ha observado que no solo pueden modular la liberación del fármaco, sino ser capaces de aumentar la eficiencia de encapsulación o incluso proteger el producto de una degradación biológica (14).
- Excipientes con propiedades farmacológicas. Una ventaja adicional de usar adyuvantes es que algunos de ellos tienen sus propias propiedades farmacológicas haciendo de estos interesantes en la terapéutica oftálmica. Como por ejemplo el empleo del ácido retinoico y la vitamina E que además de poseer propiedades antiproliferativas y antioxidantes, resultan útiles permitiendo una liberación del principio activo más prolongada. Cabe destacar el empleo de vitamina E en combinación con el factor neurotrófico derivado de células ganglionares de la retina (GDNF) para aumentar la eficacia de encapsulación, protegerlo de la degradación además de aumentar la liberación del mismo (14).

## Jeringabilidad e Inyectabilidad

Estos dos factores resultan clave en las formas de administración intraocular. El primero se refiere a la capacidad de atravesar una aguja del vial a la jeringa mientras que el segundo está relacionado con el paso de la formulación intraocular durante la inyección. Una adecuada jeringabilidad e inyectabilidad permiten administrar la correcta dosis de la sustancia prescrita. Al encontrarse las microesferas como una suspensión convencional se debe de tomar especial cuidado en la preparación de una dispersión de partícula homogénea (14).

## Estudios de tolerancia de microesferas

Los estudios de tolerancia resultan cruciales a la hora de poder emplear las microesferas en terapéutica, por ello se realizan varios estudios *in vitro* e *in vivo*, éstos últimos ambos en animales y humanos (14).

- Estudios de tolerancia *in vitro*. Estos estudios proporcionan información preliminar sobre la respuesta de las células a estas formulaciones y permite

reducir el empleo de animales en las etapas iniciales del desarrollo de un medicamento. En el ámbito de la administración intravítrea, las células inmortalizadas de epitelio pigmentario de la retina y células derivadas de fotorreceptores son las más empleadas.

- Estudios de tolerancia en animales. La administración local de microesferas está principalmente involucrada en la inyección intravítrea y periocular, Los volúmenes administrados se encuentran entre 50 y 100  $\mu$ l. La toxicidad y biocompatibilidad de la administración de fármacos en sistemas de PLGA ha sido evaluada después de la inyección, siendo las principales reacciones producidas la formación de un depósito en la zona de administración o la proliferación de células sin relación con la retina u otras estructuras oculares. En otro aspecto, no se ha observado reacciones inflamatorias en retina ni otros tejidos circundantes.

## Micropartículas en terapéutica ocular

En relación al potencial empleo de micropartículas, éstas han permitido emplear un importante abanico de fármacos para su empleo en la terapéutica del globo ocular, empleando el biomaterial PLGA, además de emplear la ruta periocular o la intravítrea como las principales vías de administración. Algunas de estas formulaciones pueden ser, microesferas cargadas con adriamicina y ácido retinoico las cuales han sido formuladas para el tratamiento de retinopatías proliferativas; antiinflamatorios e inmunosupresores como la dexametasona y la ciclosporina para uveítis; budesonida y celecoxib para retinopatías diabéticas; factores neurotróficos como el GDNF para neuroprotección en glaucoma y agentes inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial (anti-VEGF) para la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) (14).

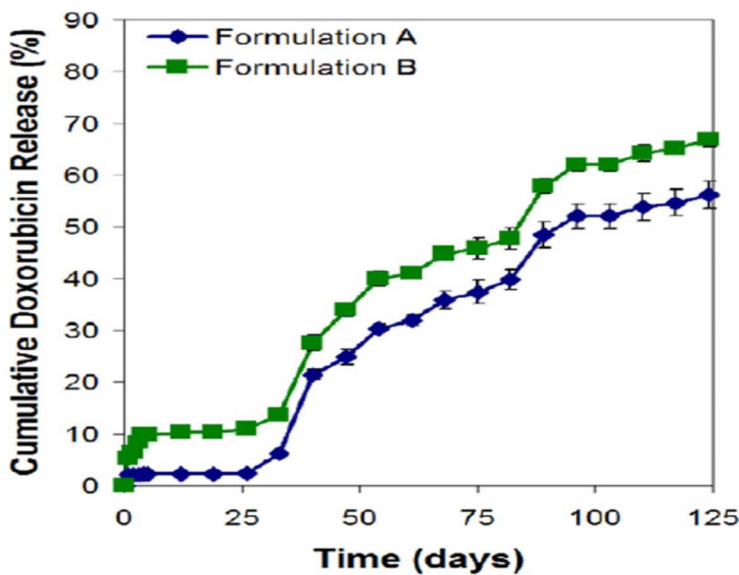
## Artículos reseñables en este campo de investigación

Se ha realizado una selección de algunos artículos en los que se muestra el potencial de las micropartículas para tratar diferentes patologías a nivel ocular.

**Mechanism of drug release from double-walled PDLA(PLGA) microspheres  
Qingxing Xu, Shi En Chin, Chi-Hwa Wang, and Daniel W. Pack; Biomaterials  
2013**

Este estudio consistió en un análisis del comportamiento de cesión y degradación de dos formulaciones de microesferas cargadas con doxorubicina encapsuladas en un núcleo de PLGA recubierto por poli D-L Láctico (PDLA) de diferente peso molecular respectivamente. Partiendo del postulado que diferentes pesos moleculares del recubrimiento exterior puede modular la erosión de la capa exterior y por tanto regular la entrada al núcleo cargado de doxorubicina y liberarlo de manera progresiva y por tanto controlar la liberación del fármaco.

Figura 7. Perfil de cesión de la doxorubicina donde se observa que la formulación A de bajo peso molecular en el recubrimiento y la formulación B de elevado peso molecular mostrando ambos un perfil de cesión francamente similar



Sin embargo como se puede apreciar en la figura 8 la capa exterior no regula la liberación de la doxorubicina, por tanto se concluye que el peso molecular del polímero no controla el perfil de cesión si no otros factores como puede ser el ratio de penetración de

agua a la micropartícula, el grado de poros formados y el ratio de degradación del polímero donde se encuentra el fármaco resultando estos factores críticos.

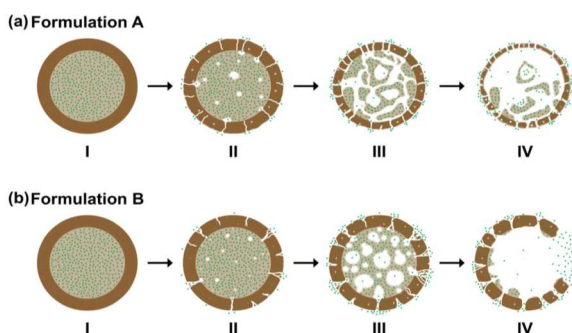


Figura 8. Donde se muestra una ilustración esquemática proponiendo los mecanismos de liberación de la doxorubicina en las 2 formulaciones realizadas. Fase I la microesfera inicial antes de la degradación. Fase II penetración de agua en la capa exterior

de PDLLA e inicio de formación de los poros. Fase III aumento del tamaño y número de poros en la capa exterior y elevada erosión del núcleo de PLGA. Fase IV Liberación de la doxorubicina al medio acuoso a través de poros y cavidades de las microesferas

**Retinal ganglion cells survival in a glaucoma model by GDNF/Vit E PLGA microspheres prepared according to a novel microencapsulation procedure**  
**Patricia Checa-Casalengua, Caihui Jiang, Irene Bravo-Osuna, Budd A. Tucker, Irene T. Molina-Martínez, Michael J. Young, Rocío Herrero-Vanrell. Journal of Controlled Release, 2011**

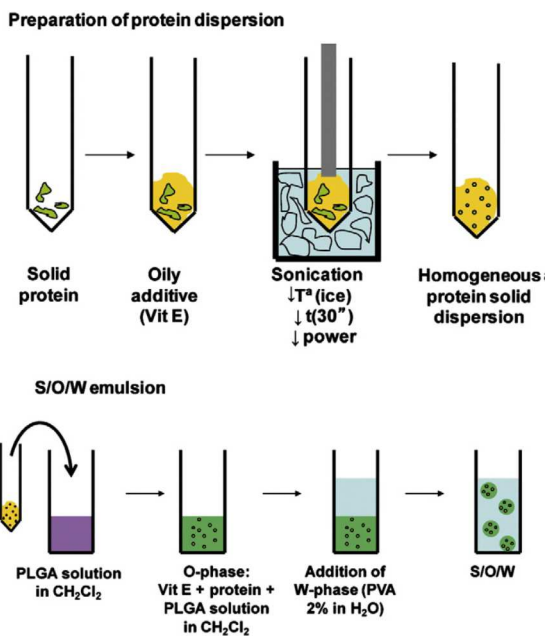
Este estudio describe el empleo de un nuevo método de encapsulación de proteínas con el objetivo de proteger su actividad biológica durante el proceso de microencapsulación. Con este fin la proteína es incluida en PLGA sin ninguna manipulación previa, a diferencia del método tradicional de S/O/A (sólido en aceite y agua) que conlleva un proceso de disolución inicial y posterior liofilización. La técnica presentada implica el empleo de un aditivo oleoso como es la vitamina E, útil desde el punto de vista tecnológico, proporcionando una protección adicional a la proteína y desde un punto de vista farmacológico, gracias a sus propiedades antioxidantes y antiproliferativas.

Este nuevo método se encuentra descrito en la figura 8. La proteína en su estado sólido en el medio oleoso de vitamina E es sonicada originando una dispersión de proteína homogénea suspensión que posteriormente va a ser vertida sobre la solución de PLGA originando la fase oleosa de la emulsión del método tradicional S/O/A fase a la cual se va a adicionar posteriormente la fase acuosa donde se fan a formar las micropartículas.

Este método permite la encapsulación y la liberación controlada de proteínas asegurando su bioactividad durante largos periodos de tiempo mínimo tres meses. Además se administró una única inyección intravítrea en un animal modelo de

glaucoma y se observó que fue efectiva durante once semanas. Esta aproximación puede resultar útil en el tratamiento futuro de enfermedades degenerativas retínales.

Figura 9. Esquema de preparación de la dispersión de proteína en el aditivo oleoso y posterior emulsión S/O/W

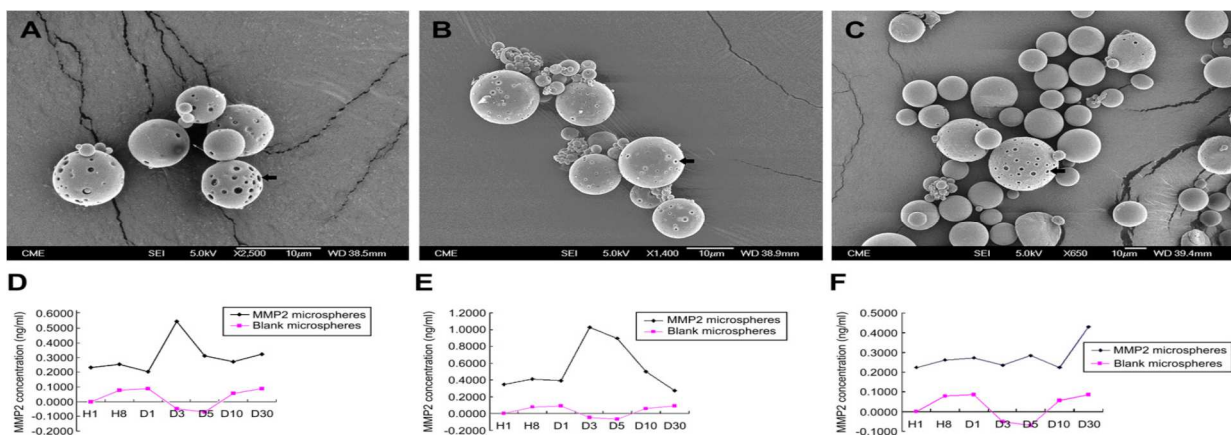


**Preservation of biological activity of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) after microencapsulation and sterilization by gamma irradiation** Checa-Casalengua, P; Jiang, C; Bravo-Osuna, I; Tucker, BA; Molina-Martínez, IT; Young, MJ; Herrero-Vanrell, R. *International Journal of Pharmaceutics*, 2012

Se emplearon microesferas de PLGA para encapsular mediante la técnica de emulsificación y evaporación de solvente el factor neutrófico derivado de células ganglionares de la retina (GDNF) con el fin de evaluar la capacidad de poder ceder GDNF por parte de las microesferas antes o después de la esterilización, además de valorar si la actividad del producto biotecnológico se preserva después de este proceso clave a la hora de mostrar su validez para la administración intravítrea, mostrando como el empleo de coadyuvantes como la vitamina E puede ser un punto de inicio para desarrollar formulaciones capaces de preservar la actividad biológica del GDNF después de la radiación gamma a baja temperatura (16).

**Robust cell integration from co-transplantation of biodegradable MMP2-PLGA microspheres with retinal progenitor cells** Jing Yao Budd A. Tucker Xinmei Zhang Patricia Checa-Casalengua Rocio Herrero-Vanrell Michael J. Young; *Biomaterials* 2013

En este estudio se encapsulo metaloproteinasa-2 (MMP2) la cual puede degradar la matriz inhibitoria extracelular la cual impide la regeneración de la retina mediante la degradación de moléculas como CD44 y neurocan, con el objetivo de aumentar la integración celular y le repoblación retiniana, además se incorporó a la formulación células de progenitores retinianos observando como la MMP2 (figura 9) degradaba estas moléculas anteriormente citadas y se observaba como había un incremento significativo de células migrando hacia la retina degenerada. Llevando a la conclusión de que ha sido desarrollado un vehículo el cual permite la liberación controlada de MMP2, además de células progenitoras de retina las cuales permiten la recuperación retiniana sin una pérdida de la propia retina. De este modo se podrían emplear las microesferas de una



manera práctica y efectiva para la reparación retiniana (17).

Figura 10. En esta figura observamos cómo es cedido MMP2 en 3 formulaciones diferentes. En la gráfica D e imagen A podemos observar el comportamiento de cesión de microesferas de tamaño entre 2 y 10  $\mu\text{m}$ , en las imágenes B y E podemos observar el comportamiento de las microesferas de un tamaño de partícula mayor entre 20 y 40  $\mu\text{m}$ , y en el otro par de formado por las letras C y F podemos observar el comportamiento de cesión de microesferas elaboradas con un biomaterial diferente al de las 2 formulaciones anteriores

## Ventajas y limitaciones

Una de las principales ventajas de las micropartículas es la posibilidad de poder emplear un sistema que nos permite tener una liberación controlada y prolongada en el tiempo del principio activo, además de usar un material totalmente biodegradable y biocompatible.

Otro aspecto que resulta una ventaja es la posibilidad de encapsular prácticamente cualquier principio activo, aumentando el arsenal terapéutico permitiendo emplear sustancias activas que por inconvenientes biofarmacéuticos impiden una adecuada administración.

Además de evitar problemas asociados con la administración de sustancias activas como el desprendimiento de retina asociado a inyecciones intravítreas repetidas para el tratamiento de patologías del segmento posterior del ojo

A todo esto cabría sumar la posibilidad de vectorizar el fármaco para alcanzar concentraciones del mismo más eficaces en lugares de difícil acceso como en la terapéutica ocular.

Por otro lado, existen diversas limitaciones a la hora del empleo, como la necesidad de ser esterilizados, lo cual puede originar una pérdida de actividad del principio activo debido a la degradación del mismo. Sin embargo su principal limitación radica a la hora de obtener un perfil de cesión constante ya que las diferencias intrínsecas relacionadas a la elaboración de micropartículas pueden resultar en perfiles de cesión diversos, originando que formulaciones teóricamente similares en la práctica se comporten de una manera diversa. Esto se podría controlar combinando diversas formulaciones hasta conseguir un perfil idóneo y personalizado en cada caso.

## Conclusión y perspectivas futuras

Las micropartículas son uno de los nuevos sistemas de administración de fármacos junto a otros sistemas como las estructuras nanométricas (nanopartículas, liposomas, niosomas, dendrímeros, etc) que están destinados a suponer un avance francamente importante en la terapéutica ocular y general, permitiendo la vectorización y liberación controlada de principios activos que actualmente no pueden ser empleados o nuevos principios activos como los derivados de la industria de la biotecnología, capaces de crear péptidos y otras estructuras proteicas respecto a las cuales los sistemas de administración convencionales no permiten su administración.

Otro aspecto importante de las mismas es la terapéutica regenerativa, la cual permitirá regenerar tejidos a través de la encapsulación celular.

Es por esto que en un futuro próximo, estas formas de administración se postulan como una respuesta interesante a patologías que actualmente no tienen tratamiento o poseen un elevado número de efectos adversos y permitiéndonos evitarlos, mejorando la calidad de vida del paciente.

## Bibliografía

1. Guyton A. Tratado de Fisiología Humana. Decima Edición ed.: McGrawHill; 2005.
2. Oftalmología SEd. Sociedad Española de Oftalmología. [Online].; 2014 [cited 2015 Febrero 04. Available from:  
[http://www.ofthalmoseo.com/nova/NNws\\_ShwNewDup?codigo=5045&cod\\_primaria=1607&cod\\_secundaria=100807#.VNJIjizR3gc](http://www.ofthalmoseo.com/nova/NNws_ShwNewDup?codigo=5045&cod_primaria=1607&cod_secundaria=100807#.VNJIjizR3gc).
3. Torras J. Lagrimas Artificiales. Annals d'Oftalmologia. 2006; 2(14).
4. Oftalmología SEd. Sociedad Española de Oftalmología. [Online].; 2014 [cited 2015 Febrero 04. Available from:  
[http://www.ofthalmoseo.com/nova/NNws\\_ShwNewDup?codigo=5045&cod\\_primaria=1607&cod\\_secundaria=100807#.VNJIjizR3gc](http://www.ofthalmoseo.com/nova/NNws_ShwNewDup?codigo=5045&cod_primaria=1607&cod_secundaria=100807#.VNJIjizR3gc).
5. Oftalmología SEd. Sociedad Española de Oftalmología. [Online].; 2014 [cited 2015 Febrero 4. Available from:  
[http://www.ofthalmoseo.com/nova/NNws\\_ShwNewDup?codigo=5041&cod\\_primaria=1607&cod\\_secundaria=100807#.VNJORizR3gc](http://www.ofthalmoseo.com/nova/NNws_ShwNewDup?codigo=5041&cod_primaria=1607&cod_secundaria=100807#.VNJORizR3gc).
6. Gaudana R. Ocular Drug Delivery. The AAPS Journal. 2010 September; 12(3).

7. Kim J. Intravenously administered gold nanoparticles pass through the blood-retinal barrier depending on the particle size and induce no retinal toxicity. *Nanotechnology*. 2009; 20(101).
8. R. Herrero-Vanrell MVdlTVAGDBAITMMIBO. Nano and microtechnologies for ophthalmic administration, an overview. *J. DRUG DEL. SCI. TECH.* 2013; 23(2).
9. Sáez V. Liberación controlada de fármacos. Micropartículas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. Julio de 2004;: p. Volumen 5(2).
- 10 Hirenkumar K. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable. *Polymers*. 2011;: p. 1377-1397.
11. I. Bravo-Osuna PCCITMMYRHV. Microencapsulación de proteínas con fines terapéuticos. *Pharmatech*. 2014 Julio/Agosto; 9.
12. Wang Y. Microspheres prepared with PLGA blends for delivery of dexamethasone for implantable medical devices. *Pharm Res*. 2014 February; 31(2).
13. Barbosa D. Diseño y evaluación de nano- y micropartículas biodegradables para inyección periocular. 2011. Tesis Doctoral defendida en la Facultad de Farmacia, Dirigida por Dras. Rocio Herrero Vanrell e Irene Bravo Osuna.
14. Herrero-Vanrell R, Bravo-Osuna I, Andres-Guerrero V, Vicario-de-la-Torre M, Molina-Martínez I. The potential of using biodegradable microspheres in retinal diseases. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2014 Mayo; 42.
15. Qingxing X. Mechanism of drug release from double-walled PDLLA(PLGA). *Biomaterials*. 2013 May; 34(15).
16. P. Checa-Casalengua, C. Jiang, I. Bravo-Osuna, B.A. Tucker, I.T. Molina-Martínez, M.J. Young, R. Herrero-Vanrell. Preservation of biological activity of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) after microencapsulation and sterilization by gamma irradiation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012; 436.
17. Jing Yao, Budd A. Tucker, Xinmei Zhang, Patricia Checa-Casalengua, Rocio Herrero-Vanrell, Michael J. Young. Robust cell integration from co-transplantation of biodegradable MMP2-PLGA microspheres with retinal progenitor cells. *Biomaterials*. 2011; 32.