

USO POTENCIAL DE NANOPARTÍCULAS BIODEGRADABLES EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA DE ENFERMEDADES OCULARES

POTENTIAL USE OF BIODEGRADABLE NANOPARTICLES FOR THE PHOTODYNAMIC THERAPY OF EYE DISEASES

VARGAS A, DELIE F¹

La aplicación más difundida de la terapia fotodinámica (TFD) en oftalmología es el tratamiento de ciertas formas de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE). El objetivo de la TFD es producir la oclusión selectiva de los neovasos coroideos subretinianos (NVC), responsables de la profunda pérdida de visión central que caracteriza las formas neovasculares de la DMAE. Durante la TFD, el agente fotosensibilizante (AF) verteporfin encapsulado en liposomas (Visudyne[®]) es administrado por infusión intravenosa. Una vez que el verteporfin se ha acumulado en los NVC es activado mediante iluminación con un láser para generar radicales de oxígeno citotóxicos que, de una forma parcialmente selectiva, producen el cierre de los NVC. La TFD con verteporfin reduce el riesgo de pérdida visual moderada y severa, y estabiliza el desarrollo de la DMAE en muchos pacientes. Sin embargo, la agudeza visual raramente mejora (1). Algunas limitaciones de la TFD con verteporfin incluyen la alta recurrencia de los NVC, implicando la repetición del tratamiento, y la selectividad incompleta del verteporfin por los NVC, lo que puede ocasionar daños en los tejidos normales circundantes, así como fotosensibilidad temporal de la piel.

Recientemente, dos anticuerpos contra el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que es el mayor estímulo de la proliferación vascular anormal, han sido aprobados para uso clínico. La inyección intraocular de los agentes anti-VEGF pegaptanib (Macugen[®]) y ranibizumab (Lucentis[®]), tiene una alta probabilidad de mejorar la agudeza visual en pacientes afectados por formas neovasculares de

la DMAE (1). Por otra parte, la combinación de fármacos anti-VEGF con la TFD produce un efecto sinérgico a largo plazo ofreciendo la posibilidad de reducir la frecuencia de ambos tratamientos.

La selectividad incompleta del verteporfin puede ocasionar el cierre de coriocapilares normales y afectar tanto el epitelio pigmentado retiniano como el segmento exterior de la retina. Este efecto se debe, probablemente, a la naturaleza flexible de los liposomas que contienen el verteporfin y que pueden atravesar el endotelio discontinuo de los NVC y/o los coriocapilares. Por el contrario, las nanopartículas, otro sistema de liberación de fármacos, son sólidas y no deformables. El uso de nanopartículas capaces de permanecer dentro de los NVC aumentaría la dosis del AF en el sitio diana evitando así efectos adversos.

Las nanopartículas son sistemas coloidales (diámetro < 1 μm) formadas por polímeros sólidos en las que el principio activo puede ser encapsulado o adsorbido en su superficie. Estudios pre-clínicos demuestran que la encapsulación de AF en nanopartículas poliméricas mejora la TFD del cáncer pues la concentración del AF en el tumor aumenta. De este modo, las tasas de regresión tumoral son más altas y la fotosensibilidad en la piel es menor (2). Asimismo, el uso de nanopartículas puede sacar provecho de procesos naturales como la elevada internalización de nanopartículas por células de ciertos tejidos, y el pasaje selectivo de éstas a través de barreras biológicas, que es dependiente del tamaño de las nanopartículas, para aumentar la concentración del principio activo en el tejido diana.

¹ Departamento de Farmacia y Biofarmacia, Escuela de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Ginebra, Universidad de Lausana, 30 Quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Geneva 4, Suiza.
e-mail: Florence.Delie@unige.ch

El uso potencial de nanopartículas para la TFD de la DMAE ha sido evaluado pre-clínicamente utilizando la membrana corioalantoica (CAM) del embrión de pollo, que es un tejido altamente vascularizado (3-6). Este modelo animal, en el que la administración intravenosa es posible, es apropiado para la selección de AF destinados al tratamiento de la DMAE (7). Considerando el futuro uso clínico, nanopartículas producidas con polímeros biodegradables aceptados por la FDA, como el ácido poli(D,L-láctico) (PLA) (3,6) y el ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) (PLGA) (4,5) han sido investigadas hasta ahora. Pegaz et al. demostraron que es posible encapsular AF de propiedades fisicoquímicas y fotoquímicas diferentes (3). Cuatro AF con distinto balance hidrofílico-hidrofóbico han sido ya encapsulados en nanopartículas de PLA. El grado más elevado de oclusión vascular en el modelo CAM fue producido por el AF más lipofílico de la serie: la *meso*-tetrafenilporfirina.

Utilizando la *meso*-tetra(*p*-hidroxifenil)porfirina (*m*-THPP) encapsulada en nanopartículas de PLGA se demostró que las nanopartículas permanecen por más tiempo en el torrente sanguíneo que el AF en solución (4). En efecto, después de una administración intravenosa, las nanopartículas circulan en los vasos sanguíneos de la CAM durante al menos 25 minutos mientras que la *m*-THPP no encapsulada pasa rápidamente al espacio extravascular. Igualmente, el uso de nanopartículas mejora considerablemente el efecto fototóxico de la *m*-THPP sobre la vasculatura, permitiendo así disminuir la dosis del AF. Este estudio sugiere que la selectividad en la oclusión vascular depende del tiempo de residencia del AF en los vasos sanguíneos durante su activación por iluminación.

Uno de los parámetros que gobierna el paso de los sistemas de liberación de fármacos a través de barreras fisiológicas es su tamaño. En consecuencia, el uso de nanopartículas lo suficientemente grandes como para no atravesar el endotelio discontinuo de los NVC permitiría aumentar la selectividad de la TFD. De hecho se demostró que la *m*-THPP encapsulada en nanopartículas de PLGA de diámetros alrededor de 100 nm, 300 nm y 600 nm permanecen en el compartimiento intravascular durante al menos 25 minutos después de su administración intravenosa (5). Sin embargo, el efecto fotodinámico sobre la vasculatura disminuyó al aumentar el tamaño de las nanopartículas. La misma tendencia fue observada usando nanopartículas de PLA de

diámetros menores a 350 nm encapsulando la *meso*-tetra-(carboxifenil)porfirina (6).

Si bien la localización intravascular de las nanopartículas depende en gran medida de su tamaño, los experimentos realizados en el modelo CAM demostraron que la actividad de las nanopartículas de diámetro mayor a 100 nm es baja. El uso de nanopartículas en TFD es un concepto nuevo y por el momento se desconoce el impacto de la encapsulación sobre las propiedades fotoquímicas de los AF. Estudios preliminares de nuestro laboratorio sugieren que el estado de agregación del AF dentro de la matriz polimérica, así como su perfil de liberación influyen la eficiencia de las nanopartículas. Además, el alto grado de empaquetamiento en el que se encuentra el AF una vez encapsulado parece disminuir su actividad. Por esta razón y con el objeto de aumentar la actividad de las nanopartículas grandes se propone la disminución de la cantidad del AF encapsulada o su adsorción sobre la superficie de las nanopartículas.

Aunque la TFD ha sido más investigada para el tratamiento de formas neovasculares de la DMAE su uso en oftalmología se está ampliando al tratamiento de NVC asociados a otras afecciones retinocoriales o a la distrofia macular, a NVC idiopáticos, así como a enfermedades que no presentan NVC, como es el caso de los tumores oculares (8). Si bien la optimización de las nanopartículas para el tratamiento fotodinámico de enfermedades oculares es necesaria, éstas poseen propiedades atractivas para esta aplicación como la posibilidad de modulación del efecto fotodinámico y del perfil de liberación del AF, así como una buena tolerabilidad in vivo. Además, las nanopartículas permiten la administración de AF hidrófobos en medio acuoso. El desarrollo futuro de nanopartículas para la TFD del ojo podría incluir el recubrimiento de la superficie de las nanopartículas con ciertos ligandos específicos para los tejidos diana como se ha propuesto en la terapias contra el cáncer (9). De este modo, sería posible que las nanopartículas se conviertan en una herramienta valiosa para la liberación controlada de AF en oftalmología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schmidt-Erfurth UM, Prunte C. Management of neovascular age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2007; 26: 437-451.
2. Zeisser-Labouèbe M, Vargas A, Delie F. Nanoparticles for photodynamic therapy of cancer. In: Kumar CS. Nano-

- materials for Cancer Therapy. Weinheim: Wiley-VCH; 2006; 40-86.
3. Pegaz B, Debefve E, Borle F, Ballini JP, van den Bergh H, Kouakou-Konan YN. Encapsulation of porphyrins and chlorins in biodegradable nanoparticles: The effect of dye lipophilicity on the extravasation and the photothrombic activity. A comparative study. *J Photochem Photobiol B* 2005; 80: 19-27.
 4. Vargas A, Pegaz B, Debefve E, Konan-Kouakou Y, Lange N, Ballini JP, et al. Improved photodynamic activity of porphyrin loaded into nanoparticles: an in vivo evaluation using chick embryos. *Int J Pharm* 2004; 286: 131-145.
 5. Vargas A, Eid M, Fanchaouy M, Gurny R, Delie F. In vivo photodynamic activity of photosensitizer-loaded nanoparticles: formulation properties, administration parameters and biological issues involved in PDT outcome. *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 69: 43-53.
 6. Pegaz B, Debefve E, Ballini JP, Konan-Kouakou YN, van den Bergh H. Effect of nanoparticle size on the extravasation and the photothrombic activity of meso(p-tetracarboxyphenyl) porphyrin. *J Photochem Photobiol B* 2006; 85: 216-222.
 7. Lange N, Ballini JP, Wagnieres G, van den Bergh H. A new drug-screening procedure for photosensitizing agents used in photodynamic therapy for CNV. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 38-46.
 8. Mennel S, Barbazetto I, Meyer CH, Peter S, Stur M. Ocular photodynamic therapy-standard applications and new indications (part 1). *Ophthalmologica* 2007; 221: 216-226.
 9. Cirstoiu-Hapca A, Bossy-Nobs L, Buchegger F, Gurny R, Delie F. Differential tumor cell targeting of anti-HER2 (Herceptin®) and anti-CD20 (Mabthera®) coupled nanoparticles. *Int J Pharm* 2007; 331: 190-196.