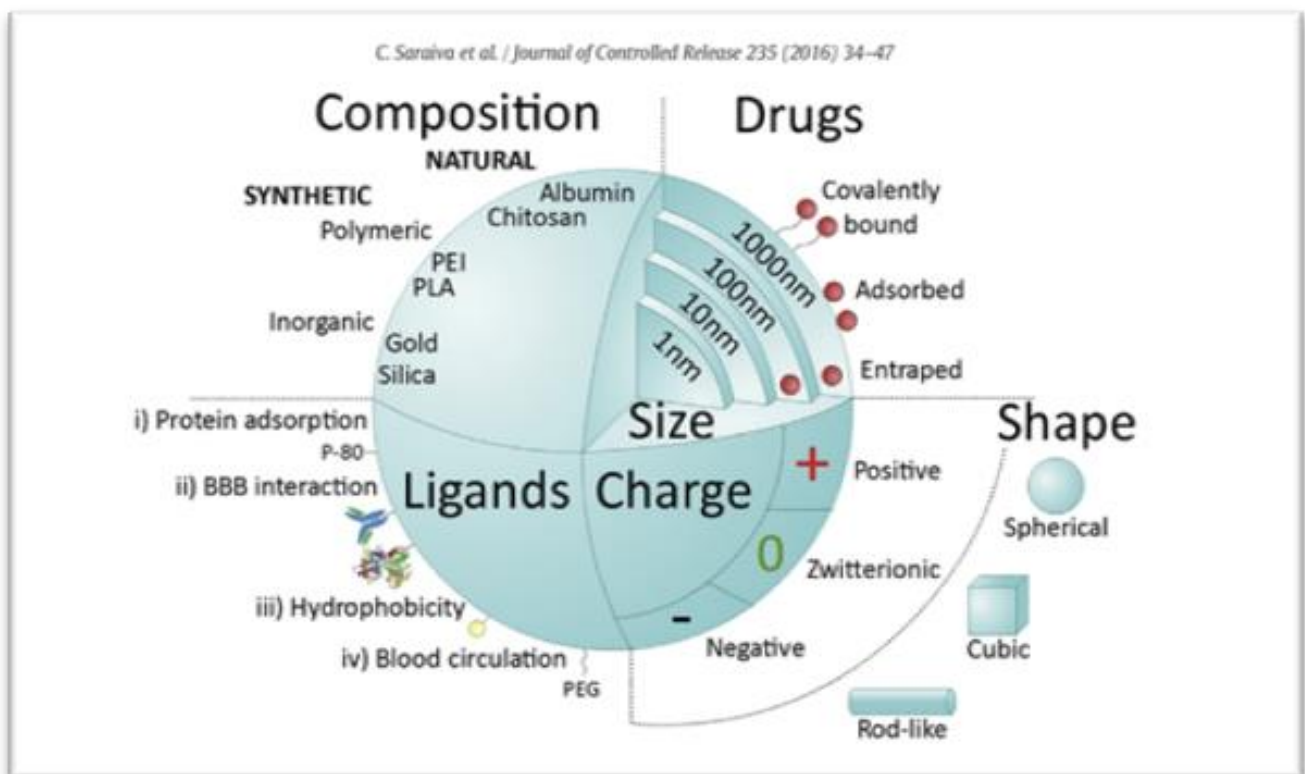


Estrategias para la vehiculización de activos al SNC mediante el uso de nanotransportadores



Olga Salamanca Pérez
Universidad de Sevilla
Facultad de Farmacia





Universidad de Sevilla

Facultad de farmacia

Trabajo de fin de grado

Grado en farmacia

“Estrategias para la vehiculización de activos al SNC
mediante el uso de nanotransportadores”

Olga Salamanca Pérez

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Tutora: Josefa Álvarez Fuentes

Revisión bibliográfica

Sevilla, junio de 2021

INTRODUCCIÓN

La Nanomedicina es una ciencia que se encarga del diseño y modificación de sistemas de pequeño tamaño, y que ha permitido importantes y prometedores avances en el campo del diagnóstico y terapéutica de enfermedades, entre otras, del sistema nervioso central (SNC), enfocados en la mejora de la vehiculización de principios activos para darles acceso a lugares del organismo donde no podían llegar o donde no llegaban a una concentración adecuada.

El SNC es un sistema que cuenta con múltiples mecanismos de defensa que dificultan su acceso a la mayor parte de los principios activos, siendo la barrera hematoencefálica (BHE) un obstáculo insuperable para la mayoría de los principios activos, ya que su permeabilidad selectiva solo permite el paso de pequeñas moléculas lipídicas. De ahí que suponga todo un reto el diseño de fármacos indicados para el SNC.

Una alternativa eficiente para administrar principios activos a través de esta barrera es el empleo de nanotransportadores. Estos no solo son una herramienta con un gran potencial para mejorar el tratamiento con fármacos que ya se usan hoy en día, logrando los mejores efectos terapéuticos y disminuyendo los efectos adversos, sino también para incluir en el arsenal terapéutico otros nuevos fármacos que por sus características fisicoquímicas no podrían atravesar la BHE. Además, la gran variedad de nanotransportadores que existen ayudan a la mejora tanto del tratamiento como del diagnóstico de enfermedades del SNC.

En este trabajo fin de grado se hace una revisión de los nanotransportadores y las estrategias de mejoras de la vehiculización de principios activos a través de la BHE, así como la potencial toxicidad de estos mismos.

Palabras claves: Nanotransportadores, Sistema Nervioso Central, Barrera Hematoencefálica, Vehiculización, Nanosistemas.

ÍNDICE

1. ANTECEDENTES	4
1.1. Barrera hematoencefálica (BHE)	4
1.2. Transporte de principios activos al SNC	5
1.2.1. Técnicas invasivas	5
1.2.2. Técnicas no invasivas	6
1.2.3. Otras técnicas	8
2. OBJETIVOS	9
3. METODOLOGÍA	10
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
4.1. Concepto de Nanotransportadores	11
4.2. Tipos de nanotransportadores	11
4.2.1. Nanotransportadores orgánicos	11
4.2.2. Nanopartículas inorgánicas	16
4.2.3. Otros	18
4.3. Características de los nanotransportadores que condicionan su efecto.	19
4.3.1. Factores físicos	19
4.3.2. Formulaciones	21
4.3.3. Comportamiento de los nanotransportadores	29
4.4. Potencial toxicidad de los nanotransportadores	30
5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFÍA	34

1. ANTECEDENTES

1.1. Barrera hematoencefálica (BHE)

La principal función de la BHE es proteger las neuronas del cerebro y la médula espinal de las fluctuaciones que tiene el plasma, ya que este se ve influido por los cambios en la actividad, la tasa de respiración y la ingesta de nutrientes. Los sistemas de transporte específicos regulan el flujo de los componentes plasmáticos en ambas direcciones, promoviendo así la entrega de nutrientes al cerebro y la eliminación de productos metabólicos. Por ejemplo, la glicoproteína P (P-gp) protege al cerebro de la influencia de muchos compuestos lipofílicos que entran en la sangre a través del tracto gastrointestinal (Khalin *et al.*, 2014).

La barrera hematoencefálica (BHE) se compone de células endoteliales polarizadas conectadas entre sí por capilares cerebrales y variedad de transportadores. La funcionalidad de la BHE se regula por la presencia de distintos tipos de células como astrocitos, pericitos y neuronas (Figura 1). Las células endoteliales están rodeadas por la lámina basal que generalmente es rica en laminina, fibronectina, colágeno de tipo IV y heparán sulfato (Vieira & Gamarra, 2016). La mayoría de los compuestos de la BHE tienen una baja permeabilidad, lo cual permite la separación del sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP). Además, el refuerzo de las funciones de barrera destinadas a discriminar la composición iónica de los compuestos conduce a un aumento general de la función protectora de la BHE (Khalin *et al.*, 2014).

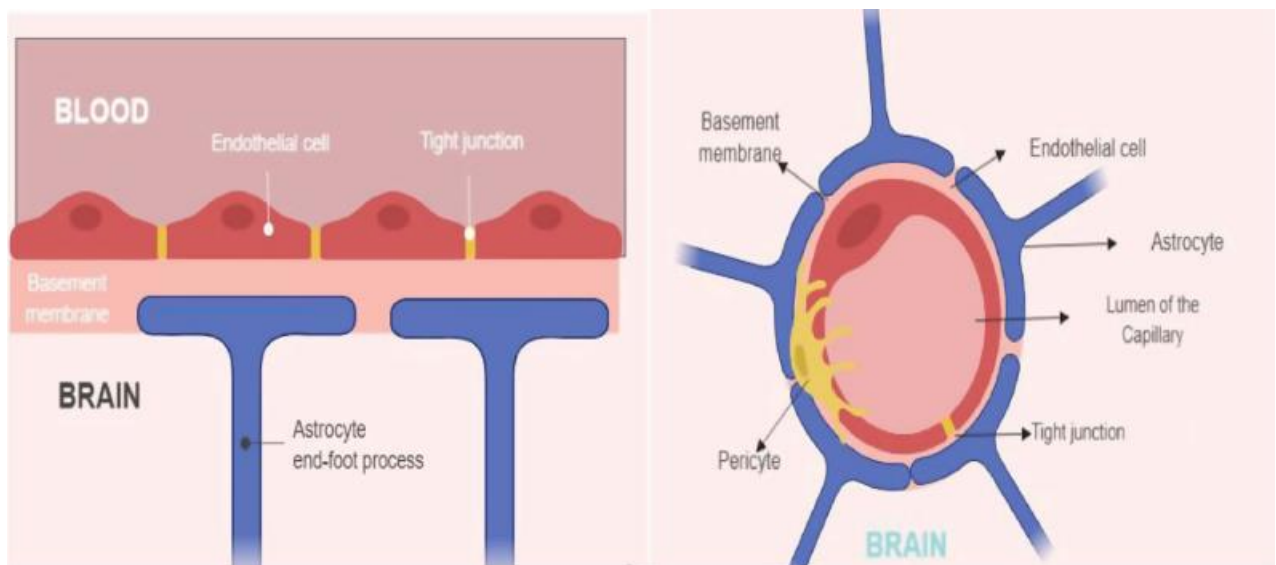


Figura 1: Representación de la BHE tomada de Asha Spandana *et al.*, 2020b

Para evaluar funcionalmente la BHE, es necesario tener en cuenta tanto la barrera física como las características metabólicas, inmunológicas y de transporte. La barrera física presenta uniones estrechas y uniones adherentes entre las células endoteliales adyacentes. Las uniones estrechas, localizadas en la parte apical del espacio paracelular, contienen proteínas transmembrana y proteínas citoplasmáticas unidas al citoesqueleto de actina. Las uniones adherentes se localizan en la parte basolateral del espacio paracelular y están compuestas por cadherinas, integrinas y sus proteínas asociadas. Una combinación de enzimas intra y extracelulares hace las veces de barrera metabólica. La barrera inmunológica está formada por microglía, macrófagos perivasculares, mastocitos y linfocitos. Con respecto a la barrera de transporte

para iones, nutrientes y moléculas endógenas incluye las rutas paracelular y transcelular; la transcitosis mediada por receptores; el sistema de transporte efflux impulsadas por el ATP, como las proteínas multirresistentes y la glicoproteína P; la interacción de compuestos de distinta ionización (cationes e iones); el uso de transportadores que puede o no depender de energía y es saturable; y la disrupción de la BHE en procesos patológicos (Khalin *et al.*, 2014; Patel & Patel, 2017).

1.2. Transporte de principios activos al SNC

Hay muchas maneras de acceder al SNC, pero los principios activos se ven limitados por sus características, las cuales determinan a su vez su farmacocinética y distribución. Hay distintas estrategias para conseguir el acceso de los fármacos al SNC y evitar el impedimento que supone la BHE, las cuales se dividen en técnicas invasivas o no invasivas.

1.2.1. Técnicas invasivas

Implantes intracerebrales

Los implantes intracerebrales consisten en una matriz polimérica biodegradable que contiene los agentes terapéuticos. Se ha utilizado en distintas pruebas clínicas y tiene ventajas claras, aunque las desventajas que presenta son mucho mayores, como el riesgo de trauma y la poca penetración del fármaco más allá de la zona del implante, lo que hace que se convierta en un método poco utilizado (Lu *et al.*, 2014).

Transporte intraventricular/intersticial

El transporte intraventricular/intersticial consiste en la administración directa de los principios activos pasando la BHE. El proceso se puede realizar inyectando directamente desde el cráneo a los ventrículos o desde una inyección lumbar. No es una de las formas más utilizadas ya que necesita una inyección continua de los principios activos, no proporciona una buena distribución cerebral y puede producir infección en el SNC (Tajes *et al.*, 2014). Aunque se considera una forma correcta de tratar tumores primarios cerebrales ya que permite el acceso a la masa tumoral de forma directa y específica (Lu *et al.*, 2014).

Transporte por tejido biológico

Otra forma de alcanzar transporte intersticial es por la liberación de principios activos desde tejidos biológicos. La forma más sencilla es implantar en el cerebro un tejido que va segregando el agente terapéutico deseado. Puede ser utilizado en el tratamiento de patologías como el Alzheimer. La desventaja es que estos tejidos no viven mucho tiempo ya que les falta irrigación vascular (Lu *et al.*, 2014).

Disrupción de la BHE

Existen distintas técnicas que pueden llevar a la alteración de la BHE. La osmótica que emplea soluciones hiperosmóticas para que las células endoteliales se contraigan, alterándose así la BHE durante unas horas. La bioquímica emplea distintos compuestos como disolventes o estabilizantes para incrementar la permeabilidad de la BHE. Además, métodos de ultrasonidos o de radiación electromagnética pueden alterar ciertas partes de la BHE. Todos estos métodos son reversibles, lo cual puede ser tanto una ventaja como una desventaja (Lu *et al.*, 2014, Tajes *et al.*, 2014).

1.2.2. Técnicas no invasivas

Métodos químicos

Estos métodos dependen de la estructura química de los compuestos para mejorar sus propiedades farmacocinéticas y de distribución (Tajes *et al.*, 2014). Algunas de estas técnicas son:

- La utilización de análogos lipofílicos: en el proceso de formulación, se añaden grupos lipídicos a los extremos polares de las moléculas del fármaco para formar análogos lipofílicos, que tienen una mejor permeabilidad cerebrovascular que el fármaco original. Las principales desventajas de los análogos lipofílicos son la baja selectividad de las moléculas al fármaco y la mala distribución en los tejidos. En general, se considera que la difusión pasiva es el principal mecanismo a través de la BHE para las moléculas lipofílicas, sin embargo, el volumen de distribución suele aumentar con el proceso, especialmente cuando éstas pueden unirse a las proteínas plasmáticas en la circulación sanguínea. Además, los análogos lipofílicos pueden afectar a la tasa de metabolismo. Así pues, las ventajas de los análogos lipofílicos para la administración cerebral podrían verse compensadas por el cambio de los parámetros farmacocinéticos del fármaco (Lu *et al.*, 2014).
- El uso de profármacos: una sustancia activa se modifica enmascarando grupos polares con grupos no polares, convirtiendo así una sustancia hidrosoluble en un profármaco lipofílico (Alyautdin *et al.*, 2014). Una vez que el profármaco llega al lugar de destino *in vivo*, el fármaco original se libera por escisión química o enzimática y, a continuación, ejerce su efecto biológico. Normalmente se formula con un aumento de la lipofilia de la molécula o una disminución de su capacidad para unirse a moléculas de hidrógeno, lo cual suele aumentar la captación en el cerebro (Tajes *et al.*, 2014).
- La formulación de sistemas de liberación de principios activos: es muy similar al uso de profármacos la diferencia más característica es que la liberación del principio activo solo conlleva un paso de activación, frente a los múltiples que puede conllevar un profármaco (Lu *et al.*, 2014).
- *Molecular packaging*: se formula tal que el principio activo forma parte de una molécula voluminosa, dominada por los grupos que mejoran la penetración directa en la BHE. Se consigue simultáneamente dos objetivos para mejorar la penetración en la BHE: aumento de la lipofilia para mejorar el transporte pasivo y prevención de la degradación prematura mediante el aumento de la estabilidad enzimática (Lu *et al.*, 2014).

Métodos biológicos

Como explica el estudio Lu *et al.*, (2014) los métodos biológicos son técnicas que basándose en el entendimiento de la fisiología y anatomía del SNC, buscan poder mejorar sus propiedades. Las técnicas más utilizadas son:

- Péptidos quiméricos mediados por receptores: la estrategia de administración de péptidos quiméricos mediada por el receptor se basa en el acoplamiento de un principio activo no transportable a un péptido o proteína transportable, que sufre una transcitosis mediada por el receptor o endocitosis a través de la BHE.

- Utilización de péptidos que penetran las células del SNC como transportadores de los principios activos: esta formulación contiene una secuencia de aminoácidos muy básicos que confieren una carga positiva al péptido. Interactúan con la superficie celular a través de un mecanismo independiente del receptor. Además, pueden transportar las moléculas que llevan marcadas a través de la membrana celular, al citoplasma y al núcleo, y este efecto es independiente del tipo de célula. El principal beneficio del acoplamiento es que, junto con la entrega eficiente de las moléculas, se conserva la actividad biológica de la molécula acoplada.
- Los vectores virales: Los vectores virales se han convertido en una valiosa herramienta para la administración de fármacos en lugares específicos del cerebro. Se emplean distintas estrategias para hacer llegar los principios activos al cerebro y mejorar su distribución. Una de las estrategias consiste en inyectar los vectores virales directamente en los ventrículos laterales cerebrales, con este método, el virus se distribuirá por todo el SNC. Otra estrategia es inyectar en múltiples sitios para cubrir un gran volumen. Aunque los vectores virales han demostrado en general una eficacia satisfactoria para la administración en el SNC, están asociados a varios problemas, como una respuesta inmunitaria no deseada o cambios en las propiedades del virus administrado debido a la recombinación endógena.

Transportadores coloidales

Son suspensiones formadas por partículas dispersas que miden normalmente entre 2 - 200 nm. Podemos encontrar: micelas, nanopartículas, dendrímeros, etc.

Pueden ser administrados tanto por vía intravenosa como intranasal para acceder al sistema nervioso central.

Al administrarse por vía intravenosa, por tanto, con una administración y distribución sistémica, hay que tener en cuenta, en primer lugar, que no se elimine el nanosistema por el sistema reticuloendotelial, es decir, que no sea eliminado por macrófagos o fagocitado en la sangre. A continuación, el nanotransportador debe poder atravesar la BHE.

Para que estos nanotransportadores puedan atravesar la BHE existen dos estrategias principales según el estudio de Jo *et al.*, (2015):

- La utilización de ligandos específicos de diferentes receptores de las células endoteliales de la BHE. Se trata de péptidos específicos, como aquellos capaces de interactuar con el receptor de la transferrina o el receptor de la lipoproteína de baja densidad, que ayudarán a estos nanotransportadores a atravesar la barrera gracias a endocitosis mediada por estos receptores.
- El aumento de permeabilidad de la BHE ocasionada por ciertas enfermedades, unido al tamaño de los nanotransportadores, facilitan la distribución los principios activos al SNC.

En este tipo de transporte las propiedades fisicoquímicas de la nanopartícula son mucho más importantes para obtener el efecto deseado.

1.2.3. Otras técnicas

Transporte intranasal

Es una ruta alternativa y no invasiva para administrar principios activos al SNC. Según Jo *et al.* (2015), la vía intranasal es muy interesante porque permite un acceso directo del principio activo al cerebro. Este tipo de administración posibilita que los principios activos “viajen” a través de los axones del nervio olfativo, para acumularse en el bulbo olfativo y la parte anterior del cerebro, y finalmente distribuirse al resto del cerebro. Estos principios activos tienen que ser moléculas pequeñas lipofílicas. Sin embargo, hay muchas variables fisiológicas que pueden condicionar la administración, como un pH más elevado, una alta actividad enzimática del epitelio, irritación de la mucosa o incluso patologías nasales como un simple resfriado. Por todo ello, esta vía se ha limitado a la terapia con nanotransportadores (Tajes *et al.*, 2014).

Iontoforesis

La iontoforesis es un método para transportar moléculas ionizadas a través de la BHE utilizando energía eléctrica recurrente aplicada de forma externa. Utilizan la vía del nervio olfatorio. Además, estos dispositivos pueden ser programados, produciendo una administración controlada de principios activos al cerebro (Lu *et al.*, 2014).

2. OBJETIVOS

La BHE es una barrera de permeabilidad altamente selectiva, esto ha supuesto que el desarrollo de terapias efectivas a nivel del SNC sea un área de investigación muy activa para poder aumentar la llegada de los principios activos a sus células diana.

El objetivo general de esta revisión bibliográfica es recopilar información relevante sobre las nanopartículas aplicadas en el transporte de principios activos al SNC.

Así, el trabajo se organiza en torno a distintos objetivos parciales:

- Describir los distintos tipos nanotransportadores como sistemas de transporte de fármacos que facilitan el acceso de los principios activos a través de la BHE.
- Revisar las estrategias que utilizan estos nanotransportadores para vehicular los principios activos al SNC, abarcando aspectos tales como: sus características, formulaciones y propiedades.
- Estudiar la potencial toxicidad que los nanotransportadores pueden acarrear al SNC.

3. METODOLOGÍA

La metodología para realizar este trabajo fin de grado de tipo bibliográfico se ha basado en la búsqueda de artículos científicos, principalmente en inglés y en menor medida en español. Se ha empleado para ello las bases de datos Scopus y Web of Science, por medio de la Biblioteca de la Universidad de Sevilla.

Las palabras claves que se han utilizado en el trabajo fueron: “nano*”, “CNS” y “BBB”. El asterisco fue empleado para que la búsqueda fuese tanto de nanotransportadores como nanosistemas. CNS son las siglas de sistema nervioso central y BBB las de barrera hematoencefálica, ambas en inglés.

Como se muestra en la figura 2, el tema del trabajo es bastante novedoso, antes de 2007 apenas hay resultados y, desde entonces, estos suben de manera exponencial.

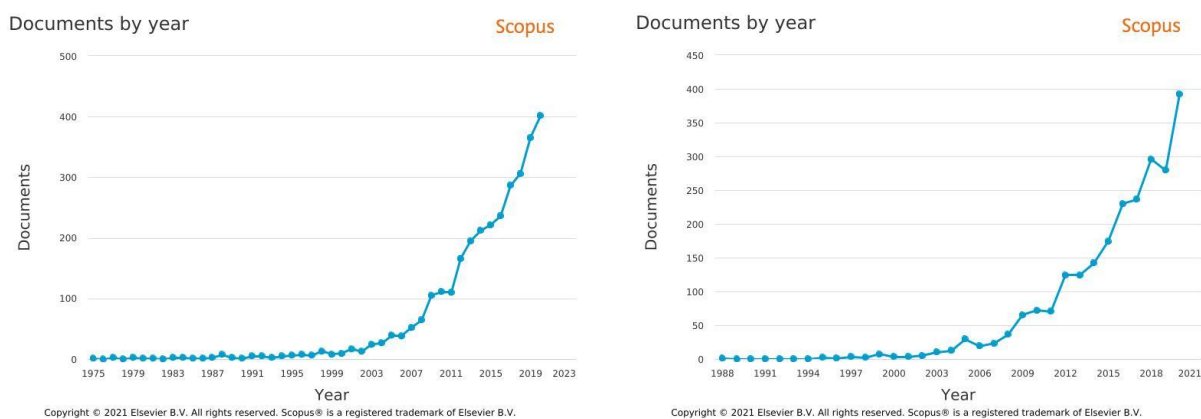


Figura 2 representación gráfica de nano AND CNS (izquierda) y nano* AND BBB (derecha) de Scopus*

Al buscar “nano* AND CNS” en Scopus encontramos 3.313 resultados frente a los 3.900 de *Web of Science*. Los resultados de la búsqueda “nano* AND BBB” son 2569 en *Scopus* y 2.580 en *Web of Science*.

Los criterios fundamentales para la selección de artículos ha sido limitarlos a los 10 últimos años y a aquellos trabajos con un número considerable de citas, con la excepción de los artículos del 2020 y 2021 ya que no han tenido tiempo a ser citados. Existe una excepción, que son aquellos artículos con más de 10 años que eran citados desde los que sí cumplían los criterios fundamentales y que se consideraron importantes en algún punto del desarrollo de este trabajo. Además, se han empleado otros criterios de elección como solo elegir artículos y revisiones, que el idioma utilizado fuese inglés o español o que el artículo no esté pendiente de publicación. De los obtenidos se escogieron los 60 más relevantes sobre el tema tratado en el trabajo, de los cuales se han citado alrededor de 40.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se ha explicado en los antecedentes, la administración de principios activos para que actúen a nivel del SNC es complicada, ya que, o bien se administran a nivel sistémico y deben atravesar la barrera hematoencefálica, o se deben ser administrados de forma invasiva directamente en el cerebro. Los nanotransportadores pueden ser una solución o, al menos, una alternativa a esas intervenciones invasivas.

4.1. Concepto de Nanotransportadores

Los nanotransportadores son elementos coloidales que incorporan principios activos y que son considerados entidades que controlan la liberación y lugar de acción de esos principios activos en los sistemas biológicos (Singh & Lillard, 2009). Pueden considerarse uno de los avances más importantes de la nanomedicina. A pesar de lo que indica su nombre, el término nanotransportador no siempre se refiere a sistemas de tamaño nanométrico, sino a partículas muy pequeñas con características comunes en el organismo (por el método de fabricación, los materiales, el tamaño o el uso).

Como dicen los investigadores Soni *et al.* (2016) estos sistemas deberán cumplir las siguientes características:

- deben ser biodegradables, no tóxicos y biocompatibles;
- de propiedades físicas fácilmente modificables;
- con especificidad por el órgano o la célula a la que deben distribuir el principio activo; y,
- deben poder formularse con un coste no elevado.

4.2. Tipos de nanotransportadores

Estos nanotransportadores se pueden dividir en orgánicos e inorgánicos (Yareli Rojas-Aguirre, 2016).

Los nanotransportadores orgánicos más comunes son: nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas sólidas, micelas, liposomas y dendrímeros.

Dentro de los inorgánicos se incluyen: nanopartículas metálicas, magnéticas, de sílice mesoporosa, de óxido metálico (óxido de Zn), nanotubos de carbono y puntos cuánticos.

Además, existen otros tipos de nanotransportadores como son los nanogeles, las nano-emulsiones y las nano-suspensiones.

A continuación, se describirán todos ellos.

4.2.1. Nanotransportadores orgánicos

Nanopartículas lipídicas sólidas

Las nanopartículas (NP) lipídicas sólidas son sistemas compuestos por lípidos fisiológicos como triglicéridos, esteroides o ceras (figura 3), que son dispersados en agua o en soluciones acuosas

surfactantes y que se solidifican al enfriarse, conteniendo fármacos en su interior (Vijayaraghavalu *et al.*, 2020).

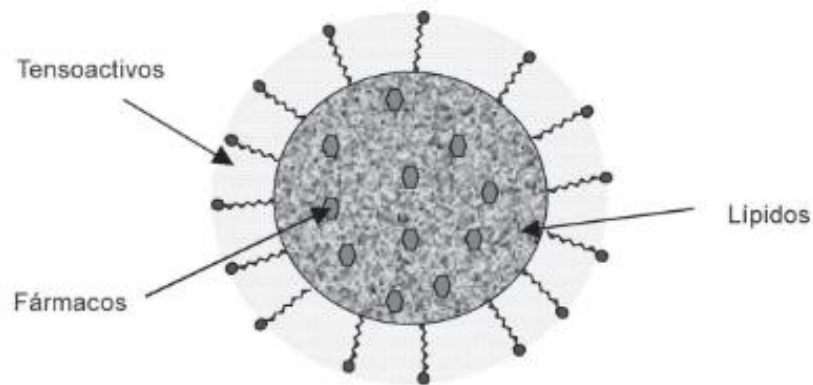


Figura 3 : Representación de una NP lipídica sólida tomada de Villafuerte R. *et al.*, 2008

Este tipo de NP se emplean, principalmente, por su facilidad de síntesis y de conjugación con distintos principios activos de diferente naturaleza, así como por su estabilidad (Lu *et al.*, 2014).

Las nanopartículas lipídicas sólidas pueden dividirse a su vez en nanoesferas y nanocápsulas. Las nanocápsulas son sistemas vesiculares en los que el fármaco se localiza solo en el interior de la partícula, generalmente disuelto en un vehículo oleoso. Las nanoesferas, en cambio, son sistemas de tipo matricial donde el fármaco se suele encontrar disperso por toda la matriz (Rocha *et al.*, 2009).

Gracias a este tipo de transportador podemos llevar al SNC moléculas insolubles, de forma que pueden ser también protegidas de la eliminación por tener una membrana semipermeable de un polímero sintético, nanofibras y polímeros 3D. Por último, estos fármacos encapsulados podrían insertarse en el tejido dañado del cerebro, por distintos mecanismos, como la transcitosis mediada por receptor o la difusión pasiva simple; estos mecanismos facilitan su entrada en las células tumorales por una permeabilidad alterada. Esto lleva a la liberación dirigida y controlada de proteínas y varios fármacos (Saeedi *et al.*, 2019).

Actualmente este tipo de nanotransportadores, las nanopartículas lipídicas sólidas, se están estudiando para ser empleados tanto para el tratamiento de tumores cerebrales como de enfermedades neurodegenerativas y algunos de ellos ya están en uso (Wong *et al.*, 2012).

Nanopartículas poliméricas

Los materiales más empleados para estas nanopartículas son polímeros biodegradables y biocompatibles como: copolímeros formados por unidades monoméricas de ácido láctico y glicólico (PLGA), cianoacrilato de butilo (PBCA) y ácido poliláctico (PLA) (Urrejola *et al.*, 2018).

Otra ventaja de la que nos hablan estos investigadores es de la posibilidad de transportar varios principios activos, para con un solo transportador ser capaz de hacer el tratamiento completo. Además, como dicen Rocha *et al.* (2009), si se modifica el peso molecular, su hidrofilia y la proporción de cada uno de los polímeros se puede controlar la velocidad de degradación de estos, así como el grado de encapsulación y el de liberación del fármaco o principio activo.

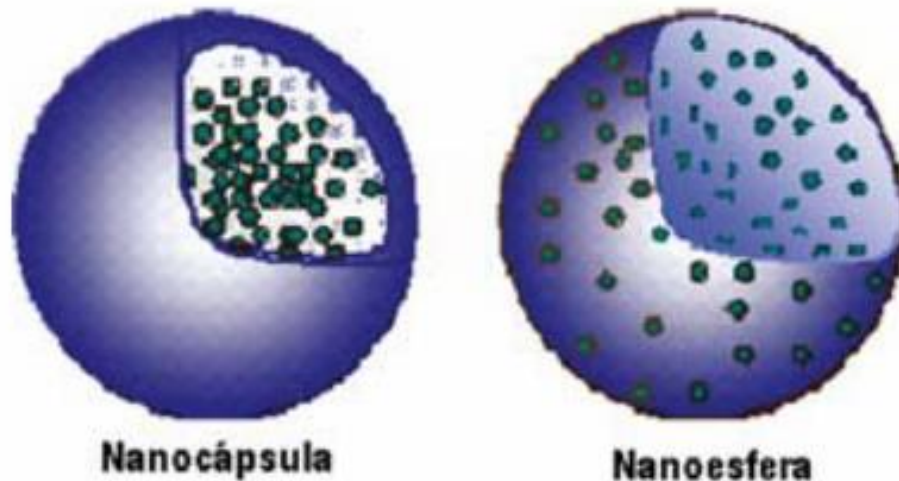


Figura 4: Representación de nanoesfera y nanocápsula tomada de Rocha et al., 2009

Según el método de preparación, también podemos hablar de dos tipos de nanopartículas poliméricas: nanoesferas y nanocápsulas (figura 4).

Como definen Urrejola *et al.*, (2018) las nanoesferas poliméricas son sistemas, que presentan el principio activo disperso en una matriz de manera homogénea, mientras que las nanocápsulas son sistemas vesiculares que rodean al fármaco dentro de una cavidad rodeada por una cubierta polimérica, que controla su liberación dependiendo de su naturaleza.

Estas diferencias hacen que ambos tipos de nanopartículas tengan distintas propiedades en la biodistribución. La elección de ellas dependerá del método de elaboración, y de las propiedades químicas, físicas y características del principio activo a encapsular (Urrejola *et al.*, 2018).

Micelas

Las micelas son agregados de moléculas anfifílicas o polímeros de cargas contrarias, dispersas en una fase líquida (figura 5) (Wong *et al.*, 2019). Un compuesto lipofílico, poco soluble, puede ser añadido para facilitar su administración, produciendo además una liberación más lenta y dirigida de los fármacos (Urrejola *et al.*, 2018).

Suelen tener un tamaño entre 10 y 100 nm.

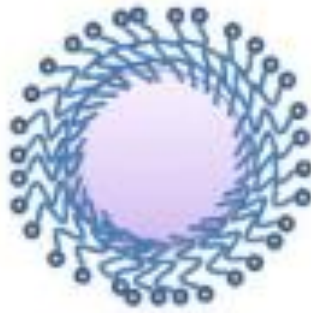


Figura 5 : Representación de una micela por Yareli Rojas-Aguirre, 2016

El núcleo de la micela puede estar cargado con proteínas hidrosolubles, mejorando la estabilidad y biodisponibilidad de este tipo de activos peptídicos. En general, la envoltura micelar protege al principio activo de interactuar con las células sanas. Gracias al mecanismo de difusión, los principios activos contenidos en la micela alcanzan las células diana haciendo su transporte muy sencillo. Además, las micelas poseen una estructura simple y fácil de manufacturar (Saedi *et al.*, 2019).

Liposomas

Como indica Zhou *et al.* (2019), los liposomas son vesículas esféricas que tienen una o varias bicapas lipídicas, de modo que quedan constituidos por un compartimiento acuoso y una cubierta exterior lipofílica (figura 6). Suelen estar compuestos por fosfolípidos y pueden prepararse mediante la alteración de las membranas biológicas.

Su tamaño suele estar comprendido entre 20 y 5.000 nm.

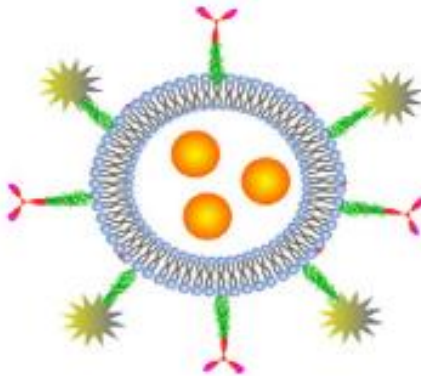


Figura 6: Representación de un liposoma por Markman et al., 2013

Los liposomas suelen incorporar colesterol y otros lípidos de alta temperatura de transición de fase para aumentar la estabilidad de la capa bilipídica, e igual que con otros nanotransportadores orgánicos se pueden recubrir con polietilenglicol para aumentar la biodisponibilidad. Dado que los liposomas son altamente lipofílicos, son rápidamente eliminados de la circulación por los macrófagos del sistema reticuloendotelial (RES). Para evitar al sistema reticuloendotelial y así aumentar su biodisponibilidad, suelen someterse a esta modificación para disminuir su lipofilia (Tajes *et al.*, 2014).

Tanto Zhou *et al.* (2019) como Chountoulesi *et al.* (2020) están de acuerdo, por varias razones, en que los liposomas son uno de los sistemas más estudiados para la administración de principios activos. Son muy biocompatibles y biodegradables, con una baja toxicidad, muy versátiles y son capaces de incorporar fármacos tanto hidrofóbicos como hidrofílicos. Además, pueden modificarse fácilmente en su superficie con biomateriales funcionales, con el fin de adquirir propiedades avanzadas, como escapar de la rápida eliminación en la circulación y presentar una mayor focalización en los tejidos patológicos (Zhou *et al.*, 2018; Chountoulesi & Demetzos, 2020).

Los liposomas también pueden ser empleados para ser administrados por vía intranasal, ya que se ha demostrado que este tipo de sistemas no presentan toxicidad ni en mucosa ni en las células diana. Los liposomas son capaces de encapsular proteínas, impiden la degradación enzimática y aumenta la captación por las células diana (Khan *et al.*, 2017). Si además son liposomas catiónicos aumentan el tiempo en la mucosa nasal por interacción con ésta, y favorecen su transporte por la misma, ya que mejora la adhesión a la mucosa. Se cree que, tras administrarlos vía nasal, podrían llegar al cerebro por el nervio olfatorio o el trigémino. Estos resultados son una gran esperanza para la terapia génica, los tumores cerebrales y los trastornos neuropsiquiátricos (Khan *et al.*, 2017).

Su empleo se está estudiando en numerosas enfermedades, desde enfermedades autoinmunes hasta cánceres, pasando por enfermedades neurodegenerativas (Vieira & Gamarra, 2016).

Dendrímeros

Dendrímero es una palabra que viene del griego “*dendros*” que significa árbol. Se denominan así a un tipo de nanotransportadores constituidos por moléculas sintéticas tridimensionales con partes ramificadas. Son nanosistemas muy versátiles que muestran un buen potencial en la administración de fármacos en el cerebro (Lu *et al.*, 2014).

Los dendrímeros se componen de un núcleo central recubierto por varias capas internas (unidades repetitivas) y grupos superficiales activos terminales (figura 7). El número de grupos activos se aumentan con el número de ramificaciones (Lu *et al.*, 2014; Saeedi *et al.*, 2019).

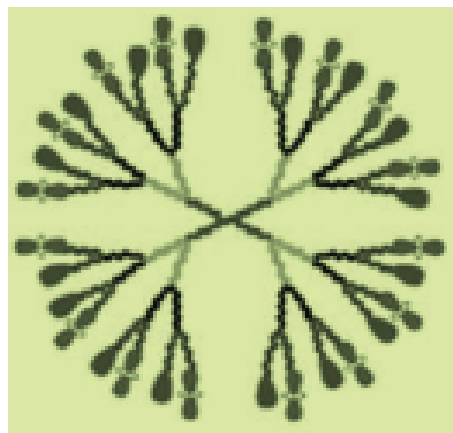


Figura 7: Representación de un dendrímero de Upadhyay, 2014

Su tamaño depende del número de ramificaciones y está comprendido entre 5 y 20 nm.

La funcionalidad y la eficacia de los dendrímeros dependen del monómero utilizado y de la estructura del polímero obtenido. Por ello los materiales más utilizados para producir dendrímeros son la poliamidoamina (PAMAM), el polipropileno imina (PPI) y la polilisina, útiles tanto para vehicular fármacos hidrofóbicos como hidrofílicos (Soni *et al.*, 2016).

Como expone Soni *et al.* (2019), la baja dispersión y la alta funcionalidad de estos dendrímeros se ofrecen como una herramienta terapéutica útil en la ciencia biomédica y farmacéutica. La alta capacidad de penetración, la alta densidad y la reactividad del grupo funcional periférico también se consideran ventajas destacadas como vehículo de medicamentos. El grupo superficial terminal, la biocompatibilidad y la multivalencia de los dendrímeros tridimensionales han demostrado su importancia en el surgimiento de la nanomedicina. Por ejemplo, los dendrímeros de poliamidoamina cargados de colesterol informaron sobre el tratamiento de la neuroinflamación. De forma similar, la incorporación de nanopartículas de dendrímero con anticuerpos también desempeñó un papel importante en la orientación específica en el SNC.

Cuando se utilizan para vehicular activos farmacológicos, el fármaco puede quedar atrapado físicamente en el dendrímero, o unirse covalentemente a moléculas que se encuentran en la periferia del dendrímero para formar conjugados dendrímero-fármaco (Sony *et al.*, 2016).

4.2.2. Nanopartículas inorgánicas

Nanopartículas metálicas

Tienen una estructura similar a las micelas. Presentan un núcleo inorgánico que contiene plata, oro, cobre y hierro. Mientras su exterior está compuesto de polímeros orgánicos o metales (Ahmad *et al.*, 2021).

Como indica Ahmad *et al.* (2021), estas partículas ofrecen además la ventaja de tener altas propiedades ópticas por lo que puede ser usadas en técnicas de imagen como la resonancia magnética, tomografía computarizada o de emisión de positrones.

Como desventaja, las nanopartículas de plata pueden causar inflamación de la BHE dependiendo de la concentración a la que se usan (Zeiadeh *et al.*, 2018).

Nanopartículas magnéticas

Las más comunes están formadas por dispersiones coloidales de óxido de hierro paramagnético. Son útiles no solo por su capacidad para traspasar la BHE, sino también por sus propiedades magnéticas. Debido a esto, puede ser usadas tanto en diagnóstico como en el tratamiento de enfermedades (Hu & Gao, 2010).

Nanopartículas de Sílice mesoporosa

La sílice es uno de los minerales más abundantes de la tierra y tiene aplicaciones en ortopedia, dermatología y odontología. Como biomaterial la sílice mesoporosa es aquella cuyos poros que miden entre 2 y 50 nm (figura 8). Entre las características específicas se pueden citar la facilidad de síntesis de estas nanopartículas, la posibilidad de varias modificaciones de la superficie, la capacidad de obtener un

tamaño de partícula ajustable, un tamaño de poro uniforme, una buena biocompatibilidad y estabilidad química (Abouaitah & Lojkowski, 2021).

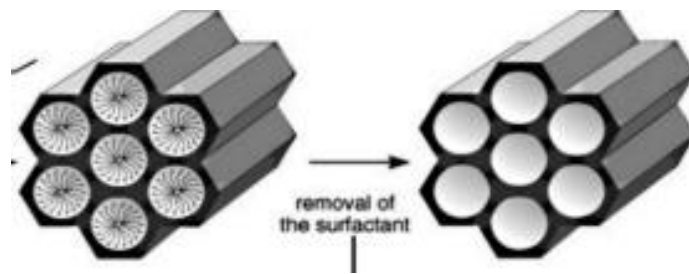


Figura 8: Representación de una nanopartícula de sílice mesoporosa tomada de Abouaitah & Lojkowski, 2021

Como explica Abouaitah & Lojkowski (2021), este tipo de nanopartículas presentan distintas estructuras y morfologías atendiendo a la aplicación médica que cumplan. Su administración puede ser por distintas vías, por ejemplo, la intravenosa o la oral.

Óxido metálico (óxido de Zn)

Las nanopartículas de óxido de Zn (ZnO) (20-80 nm) son productos comerciales comunes ampliamente utilizados en el dopaje y la catálisis debido a sus propiedades fisicoquímicas. Además, se ha demostrado que influyen en la función de células y tejidos específicos. El estudio sobre su influencia en la BHE o el SNC se ha realizado en ratones suizos machos para examinar el efecto del tratamiento de la depresión con ZnO en el SNC. En resumen, se demostró que el deterioro conductual y cognitivo de los ratones podía mejorarse con las nanopartículas de ZnO al promover la plasticidad sináptica neuronal. Sin embargo, se necesitan más estudios para comprender el mecanismo (Zhou *et al.*, 2018).

Nanotubos de carbono

Como se puede ver en la figura 9 los nanotubos de carbono consisten en una hoja de grafito enrollada en forma cilíndrica. Estas hojas están formadas por hexágonos de carbono unidos entre sí y mallas de pentágonos de carbono en los extremos (Lu *et al.*, 2014). Miden menos de 100 nm, lo que los hacen muy útiles para atravesar la BHE (Soni *et al.*, 2016).

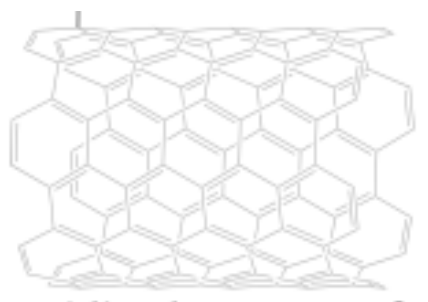


Figura 9: Representación de un nanotubo de carbono tomada de Wong et al., 2013

Podemos encontrar distintos tipos de nanotubos de carbono empleados en la vehiculización de principios activos al SNC. Entre ellos, los nanotubos de pared simple y los de pared compuesta cuya

diferencia radica en el conjunto de hojas de grafito enrolladas en forma cilíndrica; los fullerenos, que son molécula de 60 carbonos, poliaromáticas, simétricas, de forma esférica y huecas; y los grafenos, que son unas moléculas aromáticas policíclicas compuestas por una lámina de átomos de carbono en dos dimensiones con uniones sp^2 entre ellos (Redondo-Gómez *et al.*, 2020).

Puntos cuánticos

Según Li *et al.* (2017) los puntos cuánticos son una clase de nanopartículas coloidales compuestas por un núcleo cristalino metaloide y una capa metálica intermedia no reactiva que protege el núcleo. Tienen la posibilidad de ser incorporados con una gran variedad de moléculas diagnósticas y terapéuticas, por su alta área superficial, para la terapia dirigida de los trastornos del SNC. Los puntos cuánticos también mostraron potencial como vehículo portador para la administración de fármacos de la sangre al cerebro.

El recubrimiento exterior de los puntos cuánticos puede ser funcionalizado químicamente con moléculas bioactivas que promueven la solubilidad acuosa y la bioactividad deseada, permitiendo así, el transporte de moléculas terapéuticas (Li *et al.*, 2017).

Se pueden obtener de dos maneras “top-down” (de arriba abajo) y el “bottom-up” (de abajo a arriba).

El primer método se basa en la oxidación de los dobles enlaces de la macromolécula que forma el punto cuántico. Mientras que la metodología “bottom-up” implica la unión de muchos monómeros del material para formar la estructura del punto cuántico (Zhou *et al.*, 2018).

4.2.3. Otros

Nanogeles

Los nanogeles (nanopartículas de hidrogel) son materiales de hidrogel de tamaño nanométrico formados por redes poliméricas reticuladas, capaces de retener agua en mayor cantidad, sin disolverse en el medio acuoso. Dado que contiene cadenas de polímeros solubles en agua, también se consideran hidrogeles (Asha Spandana *et al.*, 2020a).

Nanoemulsión

Las nanoemulsiones son sistemas termodinámicamente estables en los que dos líquidos inmiscibles se mezclan para formar una sola fase. Están formadas por la fase oleosa, los tensioactivos de la fase acuosa y los surfactantes, y se preparan dispersando un líquido en otro en forma de gota fina, lo que suele denominarse emulsiones O/W o emulsiones W/O. El tamaño de las gotas oscila entre 20 y 200 nm (Asha Spandana *et al.*, 2020b).

Como explica Asha *et al.* (2009), las nanoemulsiones pueden mejorar la biodisponibilidad al evitar el metabolismo de primer paso y facilitar el transporte a través de la BHE. También tienen las ventajas de una alta carga de fármaco, una mayor solubilidad del fármaco poco soluble, una liberación controlada del fármaco y una protección contra la degradación química o enzimática y la administración selectiva del fármaco.

Nanosuspensión

Las nanosuspensiones son formulaciones de partículas muy finas o cristales de fármacos. Suelen desarrollarse para compuestos muy lipofílicos con muy mala administración por su baja solubilidad. Los fármacos sólidos pueden homogeneizarse, dispersarse y estabilizarse con tensioactivos para formar nanosuspensiones. La gran superficie efectiva de las nanosuspensiones puede ayudar a aumentar su biodisponibilidad tanto en la circulación sistémica como en el cerebro (Wong *et al.*, 2012).

4.3. Características de los nanotransportadores que condicionan su efecto.

La figura 10 describe la gran cantidad de características que condicionan el efecto de los nanotransportadores empleados para la administración de principios activos al SNC: desde la composición hasta los ligandos que se añaden en su superficie, pasando por las propiedades físicas del propio transportador.

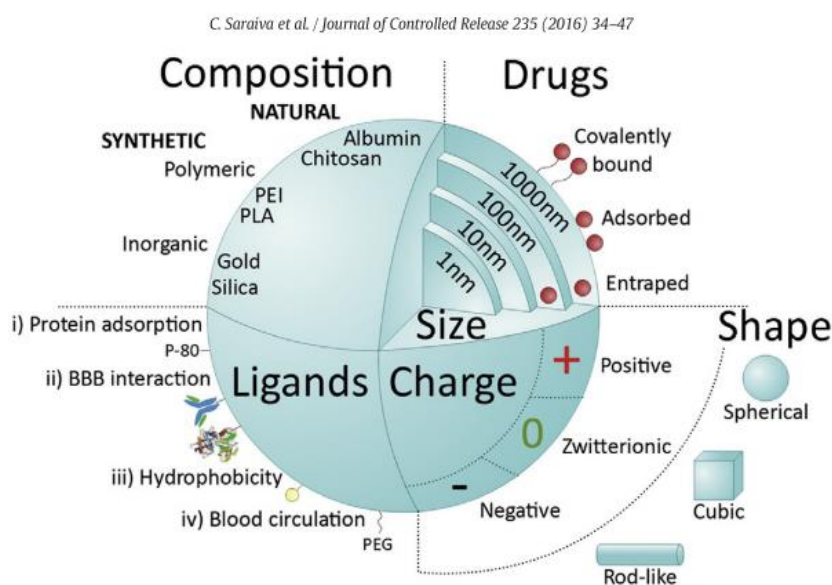


Figura 10: representación de características que condicionan el efecto de los nanotransportadores tomada de Saraiva *et al.*, 2016

4.3.1. Factores físicos

Algunos de los factores físicos que se tienen en cuenta para la optimización de los nanotransportadores es el tamaño, la forma o la carga neta.

Con respecto al tamaño, los nanotransportadores son adecuados para transporte sistémico ya que su tamaño está comprendido entre 2 y 200 nm. Cuando se administran por vía intravenosa, tienen que ser diseñados de manera que se pueda evitar la eliminación pulmonar, en el hígado o los riñones, para que efectivamente llegue al SNC. Si las partículas son más pequeñas serán eliminadas por excreción renal sin llegar al cerebro (Jo *et al.*, 2015).

Según el estudio de Kulkarni & Feng (2013) la mayor eficacia de captación celular se observó en las partículas de 100 nm en comparación con otros tamaños. El tamaño de las nanopartículas desempeña un

papel fundamental en su adhesión e interacción con las células biológicas, y las partículas de 100-200 nm pueden ser internalizadas mejor por endocitosis mediata del receptor, mientras que las partículas más grandes tienen que ser captadas por fagocitosis. Además, si las nanopartículas son demasiado pequeñas, su energía superficial no sería suficiente para la energía de flexión necesaria en el proceso de endocitosis.

Además, el tamaño afecta al tiempo de degradación de las partículas ya que a menor tamaño más tardan en degradarse, lo que provoca que la liberación de principios activos sea más sostenida en el tiempo (Villafuerte R. *et al.*, 2008).

Los nanotransportadores inorgánicos presentan como ventaja sobre los orgánicos, que es más sencillo controlar su tamaño. Las técnicas de elaboración que se emplean en su producción, la de varillas y la de puntos, permiten que se puedan obtener nanotransportadores del tamaño que interese (Urrejola *et al.*, 2018).

Otro factor importante es la lipofilia. En este sentido, las nanopartículas lipídicas sólidas, al poseer características lipofílicas y un pequeño tamaño, pueden entrar al cerebro por difusión pasiva tanto por la ruta transcelular como paracelular (Agrawal *et al.*, 2020).

Por otro lado, la forma de los nanotransportadores influye en su distribución corporal y en la posible captación celular. Debemos destacar que las formas más comunes de los nanotransportadores son, entre otras, las formas esféricas, cúbicas y en forma de varilla (Saraiva *et al.*, 2016).

La mayoría de los estudios se han realizado con NPs esféricas, ya que son relativamente fáciles de preparar. Pero las NPs no esféricas tienen la propiedad de "evasión celular" y los efectos de esta forma de circulación *in vivo* podrían influir en la eficacia terapéutica de las nanopartículas. Curiosamente, las partículas no esféricas tienden a mostrar un comportamiento hidrodinámico desviado en los vasos sanguíneos, con flujo de cizallamiento.

Además, la forma determina el patrón de adhesión de las nanopartículas, lo que da lugar a una mayor eficacia de los portadores de fármacos con forma no esférica (Jo *et al.*, 2015).

Los estudios *in vitro* también han demostrado que las que tienen forma de varilla recubiertos con anticuerpos específicos tienen una mayor adhesión a sus homólogos esféricos. Concretamente, las NPs de poliestireno con forma de varilla recubiertas con un anticuerpo contra el receptor de la transferrina mostraron *in vivo* un aumento de 7 veces en la acumulación en el cerebro en comparación con sus NPs esféricas análogas (Saraiva *et al.*, 2016).

El potencial zeta es otro parámetro importante que afecta al paso de las nanopartículas a través de la BHE. Se ha demostrado que las NPs con alto potencial zeta (alta carga positiva) causan una toxicidad inmediata en la BHE. Por ello, la mayoría de las formulaciones de NPs descritas para la administración cerebral tienen potenciales zeta negativos. Sin embargo, algunas formulaciones de NPs con un potencial zeta positivo moderado han sido capaces de atravesar la BHE y, en algunos casos, son sistemas de administración cerebral eficientes. Además las NPs neutras y zwitteriónicas tienen un tiempo de circulación más largo después de la administración intravenosa, en contraste con las NPs cargadas negativa y positivamente (Saraiva *et al.*, 2016).

Esta carga positiva de la NP es responsable de la mucoadhesividad en la cavidad nasal atribuida a la interacción con el ácido siálico cargado negativamente en la capa de la mucosa.

En la figura 11 (Agrawal *et al.*, 2020), se muestra cómo se incrementa significativamente la permeabilidad del fármaco al encapsularlo en comparación con la solución de este. No se observó ninguna toxicidad, o muy poca, en el epitelio nasal y las células neuronales. Además, el estudio de biodistribución *in vivo* demostró una concentración de fármaco considerablemente mayor en el cerebro tras la administración de NPs vía intranasal con una concentración periférica reducida que también minimiza el efecto secundario sistémico del fármaco.

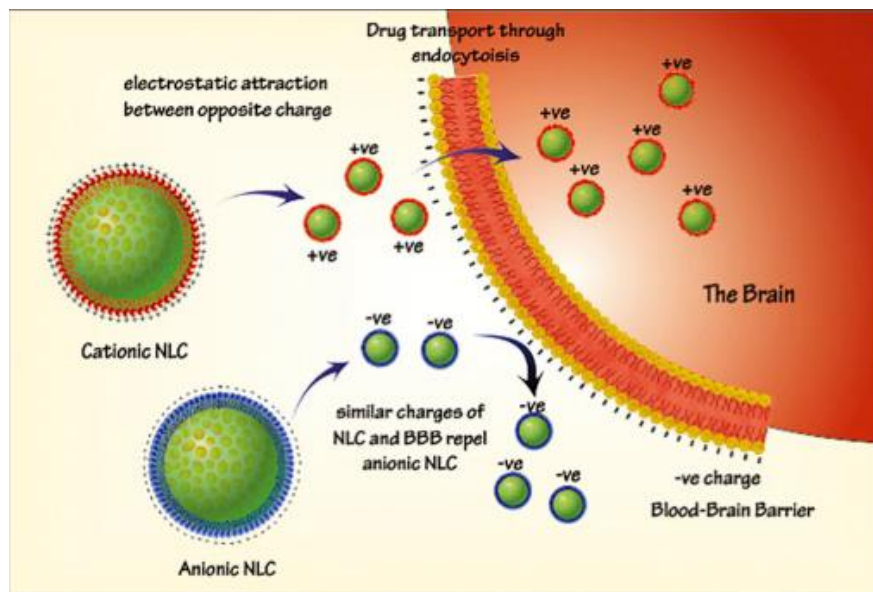


Figura 11: Representación efecto de la carga en los nanotransportadores tomada de Agrawal *et al.*, 2020

Una parte más interesante de las nanopartículas es que se pueden modificar sus propiedades fisicoquímicas durante el proceso de síntesis. Además, estas características de las nanopartículas afectan directamente a sus efectos terapéuticos *in vivo*. En este contexto, es esencial comprender los efectos de las propiedades de las nanopartículas en sus acciones biológicas. Además, también hay que investigar a fondo las acciones de las nanopartículas en diferentes entornos biológicos. Por tanto, estas variables deben tenerse en cuenta en el diseño de las nanopartículas para su aplicación biomédica (Jo *et al.*, 2015).

Para esta caracterización de estas propiedades fisicoquímicas de los nanotransportadores se usan distintas técnicas. Para estudiar el tamaño y la morfología de los nanotransportadores se utiliza la microscopía electrónica de barrido o la difracción láser. La carga superficial se estudia mediante anemometría láser Doppler o por técnicas electroforéticas (Rocha *et al.*, 2009).

4.3.2. Formulaciones

Los nanotransportadores se fabrican con numerosos materiales, cada uno de ellos les aporta distintas propiedades.

- **Lípidos:** aunque se utiliza una gran variedad de ellos, tienen características comunes como que son sólidos a temperatura ambiente y corporal y tienen un bajo punto de fusión. Algunos de los principales lípidos que se utilizan son monoestearina, el alcohol estearílico, el ácido esteárico, el monoestearato de glicerol y el palmito de cetilo (Tapeinos *et al.*, 2017). Paralelamente, los lípidos de carácter líquido más

comúnmente utilizados son: aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de almendras, aceite de cacahuete, aceite de soja, ácido oleico, aceite de maíz, lecitina de soja, fosfatidilcolina, cetiol, miristato de isopropilo, vitamina E, etc (Agrawal *et al.*, 2018).

A base de estos lípidos se pueden elaborar, por ejemplo, las Nanopartículas Lipídicas Sólidas. Como explica Agrawal *et al.* (2020), la elección de una mezcla de lípidos y el método de preparación pueden afectar a los tipos y características de las nanopartículas lipídicas sólidas, que se clasifican a su vez en: imperfectas, amorfas y de tipos múltiples como, por ejemplo, NLC de tipo O/F/W (figura 12). A continuación, explicamos cada una de ellas.

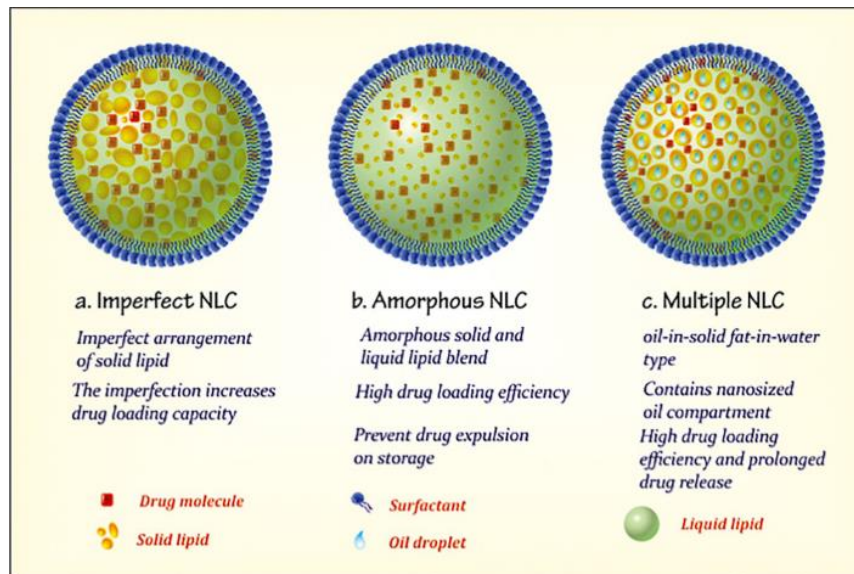


Figura 12: Representación tipos de NP lipídicas sólidas tomada de Agrawal *et al.*, 2020

- Imperfecta: la estructura cristalina del núcleo lipídico se ve alterada por la adición de una pequeña cantidad de diferentes aceites/lípidos. La mezcla de diferentes lípidos, como varios tipos de glicéridos, da lugar a una imperfección de la estructura cristalina, lo que mejora aún más la eficacia de la carga del fármaco.
- Amorfas: La mezcla de algunos lípidos específicos como el miristato de iso-propilo, el hidroxiotacosanil hidroxiestearato, etc., combinados con lípidos sólidos, da lugar a la formación de nanopartículas lipídicas sólidas amorfas. Este núcleo amorfo impide la expulsión del fármaco en el momento de su administración.
- Múltiple (tipo Oil/Fat/Water): La múltiple de tipo O/F/W consiste en una matriz lipídica sólida con varios compartimentos de aceite nanoestructurados. Estos compartimentos de aceite nanoscópicos mejoran la solubilidad del fármaco y, por lo tanto, aumentan la eficacia de la carga del fármaco. También prolonga el comportamiento de reaprovisionamiento debido a la matriz lipídica sólida que rodea los compartimentos de aceite.
- Surfactantes: Los agregados estables de lípidos solo se formarán si se emplea un tensioactivo a la concentración adecuada en la formulación, y estos suelen elegirse en función de su HLB. Los principales tensioactivos que actúan como estabilizadores son el poloxámero (184 y 388), el Tween® (80 y 20), el

bromuro de dimetil-diocadecilo-amonio (DDAB), Cremophor® EL, Cremophor® RH, Lutrol® F68, Tego Care 450, Span® 85 y polisorbato 80 (Blasi *et al.*, 2007; Kreuter, 2014).

Los autores Blasi *et al.* (2007) estudiaron la distribución corporal *in vivo* de NPs de polimetilmetacrilato recubiertas y no recubiertas. Se utilizó una serie de poloxámeros y polisorbatos como material de recubrimiento para investigar la posible correlación entre las propiedades superficiales de las NP y su biodistribución *in vivo*, las conclusiones se resumen en:

- no existe ninguna correlación entre el patrón de distribución corporal y el ángulo de contacto de los materiales de recubrimiento de las NP,
- todos los tensioactivos utilizados disminuyeron la captación en el hígado y aumentaron la captación en otros órganos y tejidos,
- el polisorbato 80 y el poloxámero 184 produjeron la mayor acumulación en el corazón, los músculos, los riñones y el cerebro.

Por lo tanto, se pensó que los polisorbatos y los poloxámeros podrían ser útiles para la focalización específica en los órganos que no son del sistema reticuloendotelial. En particular, la cantidad total de NPs en el cerebro aumentó con todos los tensioactivos hasta las 24 horas, especialmente con los polisorbatos 60 y 80, los poloxámeros 407, 184 y 338 y la poloxamina 90. Sin embargo, a medida que aumentaba el tiempo los niveles disminuían acercándose a los de las NPs de polimetilmetacrilato sin recubrimiento. El polisorbato 80 ha sido considerado el estándar de oro ya que demostró ser eficaz para la entrega en el cerebro de diferentes tipos de nanopartículas.

- **Polímeros:** son macromoléculas compuestas de un gran número de unidades repetitivas idénticas. Su organización se produce sobre una arquitectura molecular de tipo cadena que exhibe una multiplicidad de composiciones, estructuras y propiedades (Urrejola *et al.*, 2018). Estos polímeros pueden aportar características tanto en la formulación principal del nanosistema, como al añadirlo en la superficie de este. Es importante que los polímeros sean biocompatibles y de rápida degradación, por esta razón se utilizan, entre otros, tres tipos de materiales (Kreuter, 2014): los policianoacrilatos alquílicos, como el policianoacrilato de butilo (PBCA) o el policianoacrilato de isohexilo (PIHCA); el poli-ácido láctico (PLA) o su copolímero lactida-co-glicolida (PLGA); y la albúmina de suero humano (HSA). Estos portadores pueden transportar fármacos por adsorción, atrapamiento o unión covalente a los mismos. Por otro lado, las nanopartículas llamadas naturales se producen a partir de polímeros naturales, como polisacáridos (quitosano o chitosán y alginato), aminoácidos (polilisina, poliácido aspártico (PASA)) o proteínas (gelatina y albúmina). Las nanopartículas naturales tienen la ventaja de poder interactuar con receptores específicos expresados por las células endoteliales, de modo que actúan como transportadores de membrana. No obstante, tienen el inconveniente de presentar una importante variabilidad entre lotes de producción y una escasa capacidad de seguimiento a través de plataformas de obtención de imágenes (Saraiva *et al.*, 2016).

Empezando con las propiedades de los poli-cianoacrilatos de alquilo, estos tienen una rápida eliminación probablemente por su bajo peso molecular, esta degradación se produce por la escisión enzimática del enlace éster de la cadena lateral de alquilo del polímero, lo que resulta en la formación de los productos solubles en agua de baja toxicidad (ácido de policianoacrilato y el alcohol apropiado). Las

nanopartículas de poli(lactida-co-glicolida) parecen ser degradadas por las lipasas, mientras que las esterasas parecen ser responsables de la degradación de los cianoacrilatos. Probablemente, la tasa de degradación de las nanopartículas de albúmina también es bastante rápida. Además de los materiales mencionados, el quitosano puede ser otro polímero útil. Las nanopartículas de quitosano también son biodegradables y biocompatibles, poseen una buena estabilidad, una baja toxicidad y pueden fabricarse mediante métodos de preparación sencillos y suaves (Kreuter, 2014).

El estudio de Nance *et al.*, (2014) demostró que una nanopartícula polimérica biodegradable y clínicamente relevante puede llegar con éxito al cerebro. Anteriormente demostraron que unas NPs de ácido poli(láctico-co-glicólico) - polietilenglicol (PLGA-PEG) similares en tamaño y carga superficial a unas NPs de poliestireno-PEG, eran capaces de difundirse en el tejido cerebral normal.

Las nanopartículas lipídicas sólidas son menos eficaces para encapsular compuestos hidrofílicos y pueden requerir el calentamiento para su preparación, lo que puede degradar los fármacos termolábiles. La eficacia de la encapsulación para compuestos hidrofílicos puede mejorarse incluyendo un polímero anfifílico a los lípidos para formar complejos con las moléculas de fármacos cargados y solubles en agua. Estas modificaciones se conocen como nanopartículas anfifílicas poliméricas. Para abordar el problema de la degradación térmica, se han desarrollado varios métodos nuevos de preparación de estas NPs, como la técnica de homogeneización en frío y la técnica de evaporación de disolventes. Estos métodos son capaces de reducir o eliminar totalmente el paso de fusión de los lípidos y pueden aplicarse a compuestos muy poco estables, como el ARN de pequeña interferencia (H. L. Wong *et al.*, 2012).

Por otro lado, las nanopartículas poliméricas basadas en quitosano, o chitosán, de bajo peso molecular, son candidatos prometedores para el transporte no invasivo de fármacos a través de la BHE debido a sus numerosas ventajas, como su baja toxicidad, biodegradabilidad, biocompatibilidad y mucoadhesividad. Es eficaz para la administración de fármacos en el cerebro, debido a la propiedad mucoadhesiva del quitosano. Sin embargo, el quitosano ofrece algunas ventajas más además de la mucoadhesión, como es la facilidad de funcionalización de su superficie gracias a los grupos funcionales de su estructura (Caprifico *et al.*, 2020).

Por último, no solo se pueden utilizar en la formulación principal, sino que, tanto el quitosano como el polietilenglicol, se puede usar también como material de recubrimiento en la superficie de la nanopartícula para conseguir la mejora del suministro de principios activos en el interior del cerebro, además de la propia estabilidad de la partícula (Jo *et al.*, 2015).

Igualmente el polietilenglicol también se utiliza para aumentar la capacidad de carga de activo de la nanopartícula, así como su capacidad para controlar la liberación de los fármacos (Villafuerte *et al.*, 2008). Las nanopartículas producidas por la técnica de precipitación, y modificadas superficialmente con PEG, consiguen mejorar la farmacocinética y distribución del fármaco encapsulado. En definitiva, la PEGilación prolonga el tiempo de circulación de los nanotransportadores en la sangre, ya que lo protege del sistema fagocítico sanguíneo y, también, lo protege de la degradación enzimática, lo que ayuda a una mayor concentración del fármaco en el cerebro (Agrawal *et al.*, 2020).

Se conoce que los lípidos PEGilados tienen una concentración micelar crítica (CMC) extremadamente baja. Esta propiedad confiere algunas características positivas a las micelas formuladas con este tipo de lípidos, como una mayor solubilización de los fármacos hidrofóbicos y una mayor estabilidad

termodinámica frente a la dilución que se produce al hacerse disponibles en un gran volumen de sangre tras la administración intravenosa. Además de solubilizar fármacos hidrofóbicos, las micelas de copolímeros en bloque también pueden dirigir sus cargas útiles a tejidos específicos por medios pasivos o activos. Según los resultados de Shao *et al.*, (2010) el grado de acumulación de las micelas poliméricas en el SNC, puede mejorarse significativamente mediante la modificación de su superficie con ligandos como anticuerpos, péptidos, lectinas, sacáridos, hormonas y algunos compuestos de bajo peso molecular. Además, la PEGilación se utiliza para prolongar el tiempo de circulación de las micelas *in vivo*, lo cual es un requisito previo para el éxito de la administración de fármacos.

Los copolímeros de bloque plurónicos utilizados en micelas son de los más estudiados. Su efecto en la mejora del transporte de fármacos a través de la BHE se ha demostrado tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*. Su utilización está respaldada por los hallazgos *in vivo* de que las micelas plurónicas pueden aumentar los niveles de fármacos en el cerebro. Aunque el mecanismo que subyace a este efecto no está totalmente estudiado, el agotamiento del ATP parece desempeñar un papel importante. Se necesitan más trabajos para aclarar estos hallazgos (Wong *et al.*, 2012). Las micelas de copolímeros en bloque plurónicos pueden inhibir los transportadores efflux de fármacos y mejorar el transporte de fármacos al SNC. Además, no demuestran ninguna toxicidad para la BHE (Lu *et al.*, 2014).

- Materiales metálicos: este tipo de materiales aportan más control sobre el tamaño y la forma. Además, tanto su función como su preparación son más sencillos. También es importante indicar que son más fáciles de rastrear mediante técnicas de microscopía (por ejemplo, resonancia magnética (MRI)) o técnicas analíticas (por ejemplo, ICP-MS) (Saraiva *et al.*, 2016). A partir de materiales metálicos se elaboran, por ejemplo, las nanopartículas de oro que pueden utilizarse para administrar pequeñas moléculas como proteínas, ADN o ARN, ya que no es tóxico y la carga terapéutica puede ser forzada a liberarse del conjugado debido a sus propias propiedades físicas. Los fármacos encapsulados pueden adherirse fácilmente a través de enlaces iónicos o covalentes, o mediante adhesión. El citrato de sodio también puede utilizarse como agente reductor para la formación de oro y como estabilizador para evitar la agregación durante la síntesis (Markman *et al.*, 2013). Las nanopartículas de oro sin modificaciones en la superficie se distribuyen uniformemente en el hipotálamo y el hipocampo, lo que indica que no hay una unión selectiva de estas en regiones del cerebro.

Respecto al mecanismo que este tipo de nanotransportadores usan para atravesar la BHE, la endocitosis mediada por receptores no se consideró como el mecanismo principal debido a los valores negativos de potencial zeta de este tipo de nanopartículas; diversos estudios mostraron que las nanopartículas catiónicas tenían mayor tendencia a atravesar las células de la membrana al ser adsorbidas en la membrana en comparación con las aniónicas. En este caso, se consideró que la difusión pasiva era el principal mecanismo para atravesar la BHE, ya que el tamaño de los canales iónicos coincide con el tamaño de este tipo de nanotransportadores (Zhou *et al.*, 2018).

Como en el caso de muchos nanotransportadores, el PEG puede unirse a la superficie de las nanopartículas metálicas para aumentar la estabilidad y el tiempo de circulación, además de otros agentes de orientación, como el uso de anticuerpos o marcadores biológicos (Markman *et al.*, 2013).

Por otro lado, se ha visto que el empleo de óxido de cobre como quelante de los principios activos aumenta la afinidad de unión de la fibrilla amiloide y las nanopartículas de iones metálicos en las células vivas. También se ha comprobado que la utilización de beta-lacto-globulina, una fibrilla amiloide derivada

de una proteína alimentaria, en la síntesis de nanopartículas metálicas (oro, plata y paladio) ayuda eficazmente a la internalización de estas nanopartículas en células dendríticas vivas (Karthivashan *et al.*, 2018).

Otros investigadores, han comprobado *in vitro* que las nanopartículas con quelante de cobre tienen capacidad para atravesar la BHE y disolver los agregados de beta amiloide (A β) preexistentes, una de las proteínas asociadas a la enfermedad de Alzheimer. Perfilándose este tipo de nanotransportador como un nuevo potencial terapéutico para la enfermedad de Alzheimer, siendo utilizados tanto para el tratamiento de la enfermedad, como para el manejo de los síntomas de la misma (Sahni *et al.*, 2011; Vijayaraghavalu *et al.*, 2020).

- Materiales magnéticos: se están desarrollando nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro (Fe₃O₄) que requieren el uso de estrategias de hipertermia local para administrar fármacos conjugados. Los campos magnéticos también pueden utilizarse para guiar el fármaco a las células diana dentro del cuerpo. Además, esta clase de partículas se está investigando a fondo para su uso en la obtención de imágenes y en la teragnosis, estrategias que combinan simultáneamente el diagnóstico y la terapia (Markman *et al.*, 2013).

En este campo, Kim *et al.* (2005) desarrollaron nanopartículas magnéticas cuyo exterior de sílice tenía un grosor reproducible controlando la concentración del principio activo. El fin de este estudio era estudiar la distribución de estas NPs. Primero se les hizo un seguimiento por fluorescencia. Se detectaron estas nanopartículas en diversos órganos como el cerebro, el hígado, los pulmones, los riñones, el bazo, el corazón, los testículos y el útero. Las partículas se distribuyeron en todos los órganos, y el patrón de distribución dependía del tiempo. Cabe destacar que el patrón de distribución en los ratones hembra fue casi idéntico al de los ratones macho. Los datos demostraban que esta fluorescencia aumentaba de intensidad con el tiempo, de forma que los nanotransportadores ven incrementada su capacidad de acceso al SNC con el tiempo. Para confirmar la absorción de las nanopartículas en el cerebro, se realizó un estudio de inmunofluorescencia del cerebro con secciones seriadas del mismo. Esto demostró claramente que las nanopartículas magnéticas de sílice podían atravesar la BHE y ser captadas por las neuronas. Para asegurar que estas NPs magnéticas se encontraban en las células cerebrales se hizo un estudio de inmunofluorescencia con anticuerpos específicos altamente expresados en dichas células (los anticuerpos Anti-NeuN). La observación se realizó utilizandose una tinción específica. Los resultados demostraron claramente la captación de estas NPs por parte de las neuronas cerebrales.

Seguidamente se demostró la capacidad de atravesar la BHE sin disrumpir su función. Para ello se realizó un seguimiento por espectrofotometría. Se utilizó colorante azul de Evans (EB) como marcador de las extravasaciones de albúmina ya que este colorante se une a la albumina y el manitol como control positivo porque es capaz de alterar la permeabilidad de la BHE. Una vez se sacrifican los ratones, se obtienen las muestras de cerebro y se examinó la presencia del colorante azul. Los resultados demostraron claramente que el colorante EB no estaba presente en los cerebros tratados con sílice, ya que la fluorescencia era clara. La interrupción de la función de la BHE solo fue debido a la administración de la muestra control de manitol. El análisis espectrofotométrico también demostró que la permeabilidad de la BHE seguía intacta. Los resultados demostraron que las nanopartículas de sílice podían penetrar en la BHE sin afectar a su función. (Kim *et al.*, 2005).

- Sílice mesospórica: en comparación con los sistemas de nanotransportadores orgánicos, la utilización de nanopartículas de sílice mesospórica permite que la administración de profármacos naturales presente una alta carga de fármacos. En general, este tipo de NPs permiten una liberación a más largo plazo, ya que los profármacos quedan atrapados dentro de los nanoporos (Abouaitah & Lojkowski, 2021).

En la investigación de Abouaitah & Lojkowski (2021) se ha diseñado un sistema de entrega de principios activos basados en este tipo de nanopartículas. Por ejemplo, se ha evaluado cómo nanopartículas cargadas con timoquinona ejercen su actividad anticancerígena por medio de la apoptosis mediada por ROS (especies reactivas de oxígeno). Para mejorar su capacidad de orientación hacia las células del glioma, se desarrollaron nanoformulaciones con núcleo a base de nanopartículas de sílice mesopóricas cargadas con timoquinona y una envoltura con complejo de proteína de suero y goma arábiga, o de quitosano y ácido esteárico. Curiosamente, la timoquinona se libera en función del pH e induce la muerte selectiva de las células cancerosas. Las nanoformulaciones del núcleo matan significativamente a las células cancerosas de glioma a través de vías mediadas por la apoptosis debido a la activación de la caspasa-3, los desencadenantes del citocromo C y la detención del ciclo celular en la señalización G2/M. En este sentido, los eficientes efectos anticancerígenos contra los cánceres cerebrales pueden atribuirse a la distribución de estas nanopartículas de sílice. También se comprobó que la encapsulación de timoquinona en estas nanopartículas de sílice mejora la entrega a algunas áreas del cerebro, incluyendo la corteza, el tálamo, el hipotálamo y el cerebro medio, pero reduce su entrega al cerebelo en comparación con timoquinona libre. Los resultados también indicaron que ni la timoquinona libre ni las nanopartículas de sílice llegaron al hipocampo. Por lo tanto, las nanopartículas de sílice formuladas dirigen selectivamente la timoquinona a ciertas áreas del cerebro (Abouaitah & Lojkowski, 2021).

Las modificaciones de la superficie serían capaces de mejorar la biocompatibilidad de los principios activos vehiculizados por NPs de sílice y reducir la eliminación de los mismos, mediante el control de las interacciones con la membrana celular y las proteínas plasmáticas. Se centra en la modificación de las propiedades de la superficie de la nanopartícula tanto la carga de la superficie, como la fijación de grupos funcionales que influyan en las interacciones que se producen entre las nanopartículas y las moléculas con carga presente en la membrana celular (Chircov *et al.*, 2020).

- Nanotubos de carbono: varias de las características de los nanotubos de carbono, como su capacidad para adherir moléculas adicionales, su capacidad para la obtención de imágenes, su elevada capacidad para entrar en las células diana y su acumulación preferente en los tumores, han hecho de estos nanotubos unos portadores versátiles y eficaces para muchos fármacos de pequeño tamaño molecular, incluidos fármacos para indicaciones tanto cancerígenas como no cancerígenas (Wong *et al.*, 2013).

Según la investigación de Wong *et al.* (2013), hay cuatro formas de cargar los nanotubos de carbono con fármacos y utilizarlos para su administración. En primer lugar, los fármacos se pueden unir químicamente, ya sea de forma permanente o a través de enlaces superficiales escindibles. En segundo lugar, los fármacos que poseen sistemas de anillos aromáticos conjugados pueden adsorberse físicamente en la superficie de los nanotubos mediante interacciones π - π e hidrofóbicas no covalentes. En tercer lugar, algunos fármacos pueden encapsularse en la cavidad interior del nanotubo. Por último, los nanotubos también pueden incorporarse a otros nanotransportadores, como material adjunto para modificar la

carga y la liberación de los fármacos, con el objetivo de mejorar aún más su eficacia terapéutica y disminuir la citotoxicidad.

Como explican Wong *et al.* (2013) la captación transmembrana y la distribución intracelular de los complejos nanotubo-principio activo también pueden estudiarse sistemáticamente con una sonda de imagen. A menudo se demuestra que estos complejos tienen una mayor captación celular, una mayor potencia, una mejor orientación selectiva, una mayor eficacia terapéutica y, lo que es más importante, una toxicidad insignificante, en comparación con sus respectivos fármacos libres. Sin embargo, a pesar de todas estas prometedoras características que presentan los sistemas basados en nanotubos de carbono que se han demostrado *in vitro* e *in vivo*, siguen existiendo algunas dudas sobre sus aplicaciones clínicas.

La aplicación de los nanotubos de carbono de pared simple se ha estudiado en varias áreas de la medicina como portadores de fármacos, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o el cáncer, y como sensores biomédicos. Los resultados obtenidos en el estudio de Zeiadeh *et al.* (2018) muestran que estas partículas presentan una liberación sostenida del principio durante más de 20 h. Es importante destacar que la viabilidad de las células no se vio comprometida incluso después de 72 horas de tratamiento con las NPs de nanotubos de carbono. También, se han probado estos nanotubos de carbono, funcionalizados con lactoferrina y PEG, como portadores para la administración de dopamina en ratones. El recubrimiento de PEG aumentó la estabilidad y el tiempo de circulación de las NPs, mientras que la lactoferrina permitió una mayor acumulación en el núcleo estriado (región subcortical del cerebro anterior).

Otras nanopartículas de carbono, como los fullerenos, también están siendo estudiadas. Aunque poseen propiedades fotofísicas y antioxidantes, su aplicación es limitada debido a su escasa solubilidad en disolventes polares, especialmente en el agua (Zeiadeh *et al.*, 2018).

- Puntos cuánticos: Como ya se ha indicado, los puntos cuánticos son una clase de nanopartículas coloidales compuestas por un núcleo y una capa metálica que protege el núcleo. La mayoría de las veces, su núcleo interno está constituido por un semiconductor y la capa externa por otro (normalmente elementos del grupo II y del grupo VI de la tabla periódica). Son sistemas muy adecuados para la obtención de imágenes (detección óptica) y para la administración de fármacos en el caso de cáncer, debido a sus propiedades ópticas de pequeño tamaño, como la fotoluminiscencia y la absorbancia, y a su naturaleza cuántica. Los puntos cuánticos producen inmunogenicidad; para evitarla, pueden ser PEGilados; la PEGilación aumenta la vida media estos y su acumulación en las células cancerosas (Ahmad *et al.*, 2021).

Como se nombró con anterioridad las excelentes propiedades de fotoluminiscencia de los puntos cuánticos confieren una ayuda para atravesar la BHE. Los puntos cuánticos de carbono han surgido como una alternativa “verde” para construir sistemas de administración de fármacos que atraviesen la BHE, considerando su estructura de núcleo polimérico, su alta biocompatibilidad y su naturaleza relativamente no tóxica (material basado en el carbono) (Zhou *et al.*, 2018).

Los tumores cerebrales son uno de los cánceres más comunes en la infancia y pueden llevar a la muerte. El tratamiento más eficaz es el fármaco doxorrubicina que puede detener la replicación de las células cancerosas. Sin embargo, debido a la unión inespecífica con las células sanas neuronales, suele provocar efectos secundarios graves. Para ello Zhou *et al.* (2018) conjugaron la doxorrubicina con puntos cuánticos, para que la entrega de este principio activo fuese mucho más eficiente. Estos puntos cuánticos

fueron sintetizados con el enfoque “top-down”. Para observar la eficacia de esta conjugación se empleó una línea celular tumoral pediátrica frente a un control y estudios de espectrometría, demostrando con ello que la entrega del fármaco era más específico cuando se utilizaba el principio activo unido al punto cuántico frente al uso del fármaco libre.

4.3.3. Comportamiento de los nanotransportadores

Las nanopartículas determinarán las propiedades y el comportamiento que estos principios activos presenten frente al SNC, diferentes así estos mismos principios activos fuesen de forma libre a las células diana. Entre las propiedades que varían gracias a la encapsulación de los fármacos en nanopartículas, podemos encontrar: el tiempo de distribución y lugar, la cantidad de principio activo que puede transportar o la penetración a diferentes lugares del SNC.

Se han desarrollado varias técnicas *in vivo* para estudiar y medir la absorción de principios activos al SNC mediante nanotransportadores. Los mejores métodos parecen ser la repleción capilar y la microdiálisis. Estas dos técnicas no solo permiten determinar la cantidad de fármaco que se distribuye en el conjunto del cerebro, sino que también permiten cuantificar la cantidad de fármaco que efectivamente ha pasado la BHE y aparece en el parénquima cerebral. Para la eliminación de los capilares en la repleción capilar, se extirpa el cerebro tras el sacrificio del animal y se homogeneiza suavemente en un mortero. Entonces se centrifuga y se analiza el sobrenadante, que representará el contenido de fármaco en el parénquima cerebral, así como en el pellet, que representa los restos celulares de la misma. La microdiálisis, mediante dispositivos especiales, permite la determinación dinámica de la concentración de fármaco en el cerebro. Sin embargo, este método no puede utilizarse si el compuesto se adsorbe demasiado al sistema de diálisis, como ocurre, por ejemplo, con la doxorubicina (Kreuter, 2014).

La biodistribución de los principios activos se podría ver alterada, tanto de los perfiles farmacocinéticos como de la toxicidad si permanecen atrapados en los nanotransportadores el tiempo suficiente, por ejemplo, media hora o más. Por lo general, el sistema reticuloendotelial eliminaría estas partículas extrañas en la circulación sanguínea en pocos minutos si son reconocidas. Para administrar estos principios activos de manera más eficiente se puede acudir a la utilización de nanotransportadores y, a su vez, a la modificación de su superficie con polímeros hidrofílicos como el polietilenglicol (Wong *et al.*, 2012).

También el estudio de Vergoni *et al.* (2009) demuestra que las nanopartículas recubiertas de PLGA llegan al cerebro aproximadamente 100 veces más que otras nanopartículas conocidas que se dirigen al cerebro. Por ejemplo, según los estudios de biodistribución, las partículas poliméricas no modificadas con PLGA no son capaces de administrar loperamida al SNC, que demostraron que no atraviesan la BHE. Estas modificaciones externas no afectan a las características que influyen en el comportamiento de las nanopartículas, como su tamaño, forma o valores de potencial zeta. La única diferencia, como se observa en la espectroscopia electrónica para el análisis químico, pudo reconocerse en la propia presencia del péptido PLGA en la superficie de la nanopartícula. Este hecho, sugiere una interacción específica del péptido utilizado con algún componente corporal, siendo este, seguramente, un receptor específico presente en los vasos cerebrales o bien una interacción específica con componentes sanguíneo. Todavía tienen que realizarse más estudios para entender el mecanismo por lo que esto sucede.

Los investigadores Shao *et al.* (2010) han estudiado que las micelas pueden aumentar la solubilidad de principios activos poco solubles, como la anfotericina B. Cuando además se modificaron con el ligando angiopep-2, las micelas mostraron una capacidad significativamente mayor para transportar el principio activo al cerebro. Se evaluó la eficacia de las micelas modificadas con angiopep-2 que entran en el SNC en un estudio *in vitro* con células endoteliales cerebrales y la distribución en el tejido cerebral *in vivo*. También se investigó la citotoxicidad y la hemólisis entre las micelas con anfotericina B, con y sin modificaciones. Para obtener los resultados se tomaron muestras celulares de la línea *in vitro* y de los cerebros extirpados de los ratones del estudio *in vivo*. Luego se realizó una espectrometría para observar la distribución de las micelas en las células de las muestras. Tras el estudio de estas muestras Shao *et al.* (2010) demostraron que estas micelas modificadas con angiopep-2 tienen varias cualidades necesarias para mejorar la penetración de anfotericina B en el tejido cerebral: mejora de la solubilización del principio activo poco soluble en agua, de la permeabilidad de anfotericina B a través de la BHE, de la biodistribución del principio activo y reducción de la toxicidad en las células de mamíferos.

Como se trató con anterioridad, un requisito crítico e importante para los nanotransportadores de fármacos dirigidos al cerebro es que sean rápidamente biodegradables, es decir, que se biodegradan en pocos días. Por esta razón, el policianoacrilato de butilo, el poliácido láctico, el poli-lactida-co-glicolida, la albúmina de suero humano y el quitosano parecen ser los materiales de elección. Las partículas no degradables, como los fullerenos o las partículas metálicas como las de oro o hierro; los sistemas tóxicos, como los puntos cuánticos; o los sistemas de administración potencialmente arriesgados, es decir, con forma de aguja, como los nanotubos de carbono, pueden tener todos ellos efectos peligrosos, por lo que no son tan comunes. Entre los polímeros mencionados, el policianoacrilato de butilo es el que se degrada más rápidamente (Kreuter, 2014).

4.4. Potencial toxicidad de los nanotransportadores

Los nanotransportadores también pueden presentar toxicidad. Por ello, es importante estudiar también la posible toxicidad que puede acompañar a su uso.

Los mecanismos de respuesta neurotóxica de la mayoría de las nanopartículas (poliméricas, metálicas, nanotubos de carbono, etc) pueden deberse a: 1) la modificación irreversible de la permeabilidad de la BHE; 2) el aumento de las ROS, que incrementa el estrés oxidativo; 3) la activación de la microglía; 4) las respuestas inflamatorias; 5) el efecto citotóxico de los iones metálicos o de los polímeros sintéticos; 6) la apoptosis celular; 7) las respuestas inmunitarias irregulares; 8) la modificación de la plasticidad sináptica; y 9) el impacto en la señalización nerviosa o a la acumulación de nanopartículas o de sus productos metabólicos en diferentes regiones del cerebro (Agrawal *et al.*, 2020).

Los investigadores Hu & Gao (2010) demostraron que el efecto de las nanopartículas podría afectar a los procesos inflamatorios del SNC y que dicho efecto podría ejercerse a través de las vías de señalización de la MAP quinasa, utilizando como modelo ratones con apolipoproteína E. En los cerebros de los ratones expuestos a las nanopartículas se observó un aumento de la translocación nuclear de dos factores de transcripción, que participan en la promoción de la inflamación. Además, se analizaron varias MAP quinasas implicadas en la activación de estos factores de transcripción y se encontró que algunas de ellas en la forma activa estaban significativamente aumentadas. Por lo tanto, la neurotoxicidad de las nanopartículas podría inducirse inicialmente a través de la generación de especies reactivas de oxígeno, que podría causar estrés oxidativo, y seguido por la regulación al alza de las MAP quinasas para activar la

vía de señalización MAP. A continuación, las citoquinas relacionadas con la inflamación se expresan en gran medida en el cerebro para causar lesiones cerebrales.

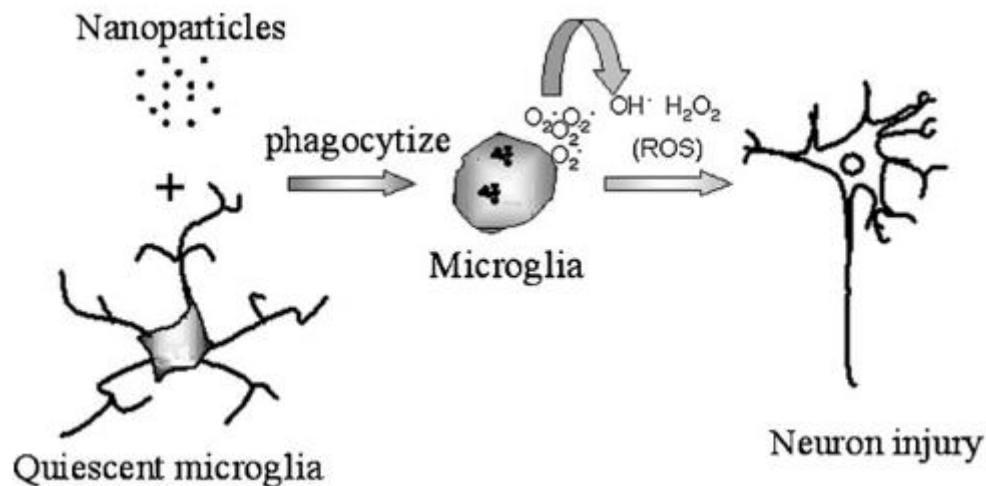


Figura 13: Representación de la acción de la microglía frente a daño oxidativo tomada de Hu & Gao, 2010

La respuesta cerebral a este daño oxidativo está mediada, en gran medida, por la microglía, una célula fagocítica similar a un macrófago que normalmente está inactiva a menos que se enfrente a un daño potencial y a estímulos exógenos como por ejemplo, en este caso, la nanopartícula (figura 13). Su respuesta inmediata a tales estímulos se conoce como "explosión oxidativa" la cual implica una rápida secuencia de eventos que incluye un aumento de la actividad metabólica, un cambio en la forma y el tamaño de la célula y la absorción fagocitosis de estos estímulos (Hu & Gao, 2010).

Un estudio de Asha Spandana *et al.*, (2020b) explica que el mecanismo para ese daño oxidativo se puede dar por el cambio en las propiedades fisicoquímicas y estructurales de las NPs, ya que pueden ser responsables de las interacciones que podrían provocar los efectos tóxicos. Estos cambios harían que grupos específicos de la superficie como, por ejemplo, grupos tiol, grupos carboxilo, grupos carbonilo, SDS, DMSO o surfactantes se conviertan en sitios reactivos. Estos sitios reactivos actúan como donantes o aceptores de electrones y trabajan con el oxígeno para inducir el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), que luego puede generar especies reactivas de oxígeno por dismutación o por la reacción de Fenton. Las NPs pueden entrar en la monocapa de células endoteliales y acumularse, afectando a la morfología y función normal de la propia BHE. Por otro lado, las NPs inducen estrés oxidativo, aumento de la permeabilidad de la membrana, fallo enzimático, alteración conformacional, activación de la vía de señalización, mutaciones y pérdida de la osmosis celular, lo que produce inflamación y apoptosis. La mayor parte del daño nervioso es irreversible. Debido a que las neuronas no pueden repararse mediante la regeneración, al igual que otros tejidos dañados, la administración intravenosa (i.v.) de NPs más pequeñas (menos de 50 nm) llega a los tejidos más rápidamente que las NPs más grandes (100-200 nm) y muestra efectos tóxicos más fuertes. Con la disminución del tamaño de las partículas, la superficie de contacto de las NPs aumenta y se produce un mayor daño en el ADN.

Las nanopartículas metálicas o inorgánicas en concreto, el dióxido de titanio y las nanopartículas de plata, producen respuestas neuroinflamatorias al alterar la señalización nerviosa, romper la barrera

hematoencefálica, activar las células gliales y aumentar la producción de óxido nítrico (Agrawal *et al.*, 2020). Otros nanotransportadores inorgánicos, como los nanotubos de carbono, pueden no degradarse, o no eliminarse por los riñones, y por ello presentar una toxicidad no deseada por medio de la peroxidación de los lípidos y la formación de radicales de oxígeno (Saraiva *et al.*, 2016).

La toxicidad asociada a las nanopartículas de sílice depende de la dosis, la concentración y las vías de aplicación. Se da principalmente por dos mecanismos que rigen la toxicidad a nivel celular. El primer mecanismo son los silanolatos superficiales que conducen a una rotura de la membrana después de que se produzcan las interacciones electrostáticas entre las nanopartículas y los fosfolípidos de la membrana celular. El segundo mecanismo es la generación de especies reactivas de oxígeno, que conduce a la muerte celular por necrosis o apoptosis (Abouaitah & Lojkowski, 2021).

Respecto a los dendrímeros, su interacción con las células depende de las interacciones hidrofóbicas entre los brazos del dendrímero y las cadenas lipídicas de la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular. Los grupos funcionales que se encuentran en la superficie externa del dendrímero proporcionan el lugar de unión para los ligandos. Estos ligandos son los que aportan la capacidad de transportar el principio activo a las células diana, pues son específicos. Sin embargo, el grupo amino presente en los grupos funcionales aporta carga positiva a los dendrímeros, haciéndolos tóxicos (Ahmad *et al.*, 2021).

5. CONCLUSIONES

El objetivo principal de este trabajo de investigación ha sido revisar las estrategias utilizadas para la vehiculización de principios activos con el fin de mejorar su administración al SNC, ya que la distribución al mismo está limitada por la presencia de la BHE. Otros objetivos secundarios han sido la clasificación de los tipos de nanotransportadores y su potencial toxicidad.

De este trabajo se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. El desarrollo de nuevas técnicas capaces de transportar los principios activos a través de la BHE, sobre todo sin producir la disrupción de este, para poder diagnosticar y tratar enfermedades del SNC, ha adquirido una alta relevancia en los últimos años.

2. El uso de los nanotransportadores está abriendo nuevos horizontes para el tratamiento y diagnóstico de distintas enfermedades que afectan al SNC, como enfermedades neurodegenerativas o cáncer.

3. La optimización del tamaño de los nanosistemas es una de las estrategias más utilizada para mejorar la administración y la biodistribución de los principios activos en el SNC, al ser las propiedades que mejor se pueden manipular al realizar su formulación. También se investiga la optimización de otras propiedades físicas como son la ionización o la forma del nanotransportador.

4. Dentro de las estrategias basadas en la elección de materiales para las formulaciones de nanotransportadores, la utilización de polímeros orgánicos son las más utilizadas, puesto que, al ser biodegradables y biocompatibles, presentan menor toxicidad que los inorgánicos.

5. El PEG es el polímero más utilizado para optimizar los nanotransportadores ya que aumenta la cantidad de principio activo que podrán transportar, así como para controlar la liberación del fármaco, controlando la distribución de los nanotransportadores. En el exterior de las formulaciones puede servir como ligando a las células diana, haciéndolas más específicas.

6. La utilización de nanopartículas inorgánicas puede ser una nueva e importante línea de investigación no solo para el tratamiento de enfermedades, si no sobre todo para el diagnóstico de estas, ya que sus formulaciones pueden ser utilizadas en técnicas diagnósticas de imagen.

7. Las propiedades más importantes que adquieren los principios activos al ser vehiculizados en nanotransportadores son: el aumento de la carga de principio activo al lugar de acción, el aumento de la solubilidad y la disminución de la toxicidad de los principios activos citotóxicos.

8. A pesar de las ventajas indicadas en las conclusiones previas, es de suma importancia estudiar la potencial toxicidad que pudieran presentar los propios nanotransportadores al ser utilizados a largo plazo. Es importante asegurar que la relación beneficio-riesgo es correcta en la utilización de tratamientos basados en estos sistemas, pero esto es actualmente un hándicap porque aún existe mucho desconocimiento en este campo.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abouaitah, K., & Lojkowski, W. (2021). Delivery of natural agents by means of mesoporous silica nanospheres as a promising anticancer strategy. *Pharmaceutics*, 13(2), 1–53. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020143>
- Agrawal, M., Saraf, S., Saraf, S., Antimisiaris, S. G., Chougule, M. B., Shoyele, S. A., & Alexander, A. (2018). Nose-to-brain drug delivery: An update on clinical challenges and progress towards approval of anti-Alzheimer drugs. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 281, pp. 139–177). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.05.011>
- Agrawal, M., Saraf, S., Saraf, S., Kumar Dubey, S., Puri, A., Patel, R. J., Ravichandiran, V., Suryanarayana Murty, U., & Alexander, A. (2020). *Recent strategies and advances in the fabrication of nano lipid carriers and their application towards brain targeting*. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.02.020>
- Ahmad, R., Srivastava, S., Ghosh, S., & Khare, S. K. (2021). Phytochemical delivery through nanocarriers: a review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 197(September 2020), 111389. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111389>
- Alyautdin, R., Khalin, I., Nafeeza, M. I., Haron, M. H., & Kuznetsov, D. (2014). Nanoscale drug delivery systems and the blood-brain barrier. *International Journal of Nanomedicine Dovepress*, 9–795. <https://doi.org/10.2147/IJN.S52236>
- Asha Spandana, K. M., Bhaskaran, M., Karri, V. V. S. N. R., & Natarajan, J. (2020a). A comprehensive review of nano drug delivery system in the treatment of CNS disorders. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 57(March), 101628. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101628>
- Asha Spandana, K. M., Bhaskaran, M., Karri, V. V. S. N. R., & Natarajan, J. (2020b). A comprehensive review of nano drug delivery system in the treatment of CNS disorders. In *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (Vol. 57, p. 101628). Editions de Sante. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101628>
- Blasi, P., Giovagnoli, S., Schoubben, A., Ricci, M., & Rossi, C. (2007). Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 59, Issue 6, pp. 454–477). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.011>
- Caprifico, A. E., Foot, P. J. S., Polycarpou, E., & Calabrese, G. (2020). *pharmaceutics Overcoming the Blood-Brain Barrier: Functionalised Chitosan Nanocarriers*. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111013>
- Chircov, C., Spoială, A., Păun, C., Ficaș, D., Ficaș, A., Andronescu, E., Claudiu Turculeț, Ștefan, Crăciun, L., Claudiu Turculeț, Ștefan, Pellegrino, F., Cesano, F., Fabbiani, M., & Negri, C. (2020). molecules Mesoporous Silica Platforms with Potential Applications in Release and Adsorption of Active Agents Mesoporous Silica Platforms with Potential Applications in Release and Adsorption of Active Agents. *Molecules*, 25, 3814. <https://doi.org/10.3390/molecules25173814>
- Hu, Y. L., & Gao, J. Q. (2010). Potential neurotoxicity of nanoparticles. In *International Journal of Pharmaceutics* (Vol. 394, Issues 1–2, pp. 115–121). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.04.026>

- Jo, D. H., Kim, J. H., Lee, T. G., & Kim, J. H. (2015). Size, surface charge, and shape determine therapeutic effects of nanoparticles on brain and retinal diseases. In *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* (Vol. 11, Issue 7, pp. 1603–1611). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.04.015>
- Karthivashan, G., Ganesan, P., Park, S.-Y., Kim, J.-S., & Choi, D.-K. (2018). *Drug Delivery Therapeutic strategies and nano-drug delivery applications in management of ageing Alzheimer's disease*. *Therapeutic strategies and nano-drug delivery applications in management of ageing Alzheimer's disease*. <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1428243>
- Khalin, I., Alyautdin, R., Ismail, N. M., Haron, M. H., & Kuznetsov, D. (2014). Nanoscale drug delivery systems and the blood–brain barrier. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 795.
<https://doi.org/10.2147/IJN.S52236>
- Khan, A. R., Liu, M., Khan, M. W., & Zhai, G. (2017). *Progress in brain targeting drug delivery system by nasal route*. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.09.001>
- Kim, J. S., Yoon, T.-J., Yu, K. N., Kim, B. G., Park, S. J., Kim, H. W., Lee, K. H., Park, S. B., Lee, J.-K., & Cho, M. H. (2005). *Toxicity and Tissue Distribution of Magnetic Nanoparticles in Mice*.
<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj027>
- Kreuter, J. (2014). Drug delivery to the central nervous system by polymeric nanoparticles: What do we know? In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 71, pp. 2–14). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.08.008>
- Li, X., Tsibouklis, J., Weng, T., Zhang, B., Yin, G., Feng, G., Cui, Y., Savina, I. N., Mikhalovska, L. I., Sandeman, S. R., Howel, C. A., & Mikhalovsky, S. V. (2017). Nano carriers for drug transport across the blood–brain barrier. *Journal of Drug Targeting*, 25(1), 17–28.
<https://doi.org/10.1080/1061186X.2016.1184272>
- Lu, C.-T., Zhao, Y.-Z., Lun Wong, H., Cai, J., Peng, L., & Tian, X.-Q. (2014). Current approaches to enhance CNS delivery of drugs across the brain barriers. *International Journal of Nanomedicine Dovepress*, 9, 2241–2257. <https://doi.org/10.2147/IJN.S61288>
- Markman, J. L., Rekechenetskiy, A., Holler, E., & Ljubimova, J. Y. (2013). Nanomedicine therapeutic approaches to overcome cancer drug resistance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(13–14), 1866–1879. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.09.019>
- Patel, M. M., & Patel, B. M. (2017). Crossing the Blood–Brain Barrier: Recent Advances in Drug Delivery to the Brain. *CNS Drugs*, 31(2), 109–133. <https://doi.org/10.1007/s40263-016-0405-9>
- Redondo-Gómez, C., Leandro-Mora, R., Blanch-Bermúdez, D., Bermúdez, B., Espinoza-Araya, C., Hidalgo-Barrantes, D., Vega-Baudrit, J., & Maio, E. Di. (2020). *Recent Advances in Carbon Nanotubes for Nervous Tissue Regeneration*. <https://doi.org/10.1155/2020/6861205>
- Rocha, F., Ansorena, E., de Mendoza, E. H., Imbuluzqueta, E., González, D., & Blanco, M. J. (2009). Sistemas nanoparticulados a base de poliésteres. *Nanotecnología Farmacéutica: Realidades y Posibilidades Farmacoterapéuticas*, January 2009, 41–101.
- Saeedi, M., Eslamifar, M., Khezri, K., & Dizaj, S. M. (2019). Applications of nanotechnology in drug delivery to the central nervous system. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 111(December 2018), 666–675. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.133>

- Sahni, J. K., Doggui, S., Ali, J., Baboota, S., Dao, L., & Ramassamy, C. (2011). Neurotherapeutic applications of nanoparticles in Alzheimer's disease. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 152, Issue 2, pp. 208–231). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.11.033>
- Saraiva, C., Praça, C., Ferreira, R., Santos, T., Ferreira, L., & Bernardino, L. (2016). Nanoparticle-mediated brain drug delivery: Overcoming blood-brain barrier to treat neurodegenerative diseases. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 235, pp. 34–47). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.05.044>
- Soni, S., Ruhela, R. K., & Medhi, B. (2016). Nanomedicine in central nervous system (CNS) disorders: A present and future prospective. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 6(3), 319–335. <https://doi.org/10.15171/apb.2016.044>
- Tajes, M., Ramos-Fernández, E., Weng-Jiang, X., Bosch-Morató, M., Guivernau, B., Eraso-Pichot, A., Salvador, B., Fernández-Busquets, X., Roquer, J., Muñoz, F. J., nica Bosch-Morató, M., & Muñoz, F. J. (2014). Molecular Membrane Biology The blood-brain barrier: Structure, function and therapeutic approaches to cross it The blood-brain barrier: Structure, function and therapeutic approaches to cross it. *Mol Membr Biol*, 31(5), 152–167. <https://doi.org/10.3109/09687688.2014.937468>
- Tapeinos, C., Battaglini, M., & Ciofani, G. (2017). Advances in the design of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for targeting brain diseases. *Journal of Controlled Release*, 264(July), 306–332. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.08.033>
- Upadhyay, R. K. (2014). *Drug Delivery Systems, CNS Protection, and the Blood Brain Barrier*. <https://doi.org/10.1155/2014/869269>
- Urrejola, M. C., Liliam, ;, Soto, V., Zumarán, C. C., Juan, ;, Peñaloza, P., Álvarez, B., Fuentesvilla, I., & Haidar, Z. S. (2018). Sistemas de Nanopartículas Poliméricas II: Estructura, Métodos de Elaboración, Características, Propiedades, Biofuncionalización y Tecnologías de Auto-Ensamblaje Capa por Capa (Layer-by-Layer Self-Assembly) Polymeric Nanoparticle Systems: Structure, Elabo. In *Int. J. Morphol* (Vol. 36, Issue 4).
- Vieira, D. B., & Gamarra, L. F. (2016). Getting into the brain: Liposome-based strategies for effective drug delivery across the blood–brain barrier. *International Journal of Nanomedicine*, 11, 5381–5414. <https://doi.org/10.2147/IJN.S117210>
- Vijayaraghavalu, S., Ansari, M. N., Samim, M., Naqvi, S., Flora, S. J. S., & Panghal, A. (2020). *Nanotechnology: A Promising Approach for Delivery of Neuroprotective Drugs*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00494>
- Villafuerte R., L., García F., B., Garzón S., M. D. L., Hernández L., A., & Vázquez R., M. L. (2008). Solid lipid nanoparticles | Nanopartículas lipídicas sólidas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 39(1), 38–52.
- Wong, B. S., Yoong, S. L., Jagusiak, A., Panczyk, T., Ho, H. K., Ang, W. H., & Pastorin, G. (2013). Carbon nanotubes for delivery of small molecule drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(15), 1964–2015. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.08.005>
- Wong, H. L., Wu, X. Y., & Bendayan, R. (2012). Nanotechnological advances for the delivery of CNS therapeutics. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 64, Issue 7, pp. 686–700). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.10.007>

- Yareli Rojas-Aguirre, K. A.-C. e I. G.-M. (2016). *La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer?* 286–291.
- Zeideh, I. ', Najjar, A., & Karaman, R. (2018). *molecules Strategies for Enhancing the Permeation of CNS-Active Drugs through the Blood-Brain Barrier: A Review*.
<https://doi.org/10.3390/molecules23061289>
- Zhou, Y., Peng, Z., Seven, E. S., & Leblanc, R. M. (2018). Crossing the blood-brain barrier with nanoparticles. In *Journal of Controlled Release* (Vol. 270, pp. 290–303). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.12.015>