



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

HIDROGELES PARA LA LIBERACIÓN SOSTENIDA DE FÁRMACOS

Autor: Irene Segovia Dorado

Tutor: Paloma de la Torre Iglesias

Convocatoria: Junio 2018

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	4
3. OBJETIVOS	6
4. METODOLOGÍA.....	7
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
5.1. TRATAMIENTOS GENERALES PARA EL GBM.....	7
5.2. TIPOS DE HIDROGELES UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DEL GBM.....	9
5.2.1. Oxi-HA/ADH hidrogel.....	10
5.2.2. PEG-DMA hidrogel	13
5.2.3. GemC ₁₂ -LNC.....	17
6. CONCLUSIONES.....	18
7. BIBLIOGRAFÍA.....	19

1. RESUMEN

Entre los tumores del sistema nervioso central, el glioblastoma multiforme (GBM), es el más común y agresivo en adultos con alta tasa de recurrencia tras el tratamiento. El tratamiento habitual consiste en la resección del tumor accesible seguido de un tratamiento de quimiorradioterapia. La esperanza de vida de los pacientes que reciben tratamiento suele ser de 12-15 meses con un máximo de 2 años de supervivencia del 27%. Debido a esta baja media de supervivencia, los investigadores se han centrado en la búsqueda de nuevos tratamientos más efectivos. Los hidrogeles, como sistemas controladores de la liberación de fármacos, son una estrategia terapéutica muy prometedora para el tratamiento del GBM. En este trabajo se revisan tres estudios experimentales que proponen distintos hidrogeles con diferentes agentes quimioterápicos para el tratamiento del GBM.

Palabras clave: hidrogel, liberación local, glioblastoma

ABSTRACT

Among central nervous system tumors, glioblastoma (GBM) is the most common and aggressive in adults with a high rate of recurrence after treatment. The current treatment consist in surgical resection of the accessible tumor followed by chemoradiation. The median overall survival for patients receiving chemoradiation are 12-15 months with a maximum of 2 years. Due this low average survival researchers have focused on the search of new more effective treatments. Hydrogels as control delivery systems are a very promising therapeutic strategy for the treatment of GBM. In this work, we review three experimental studies that propose different hydrogels loaded with different chemotherapeutic drugs for treatment of GBM.

Key words: hydrogel, local delivery, glioblastoma

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Los hidrogeles, como por ejemplo los bioadhesivos y / o dirigidos, han emergido como excelentes candidatos para la administración controlada de fármacos, ya que son capaces de encapsular biomacromoléculas, incluidas las proteínas y el ADN, así como los fármacos hidrófilos o hidrófobos, mostrando grandes ventajas para el tratamiento de distintas patologías.

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales (3D) compuestas de homopolímeros o copolímeros hidrofílicos, los cuales son capaces de retener grandes cantidades de agua o fluidos biológicos en su matriz, sin la disolución del polímero debido a su estructura hidrofílica pero reticulada. Además, exhiben una compatibilidad termodinámica con el agua que les permite humectarse en medios acuosos (1,2). Los hidrogeles se usan para numerosas aplicaciones en el campo médico y farmacéutico, por ejemplo, como membranas para biosensores, materiales para lentes de contacto o pieles artificiales, forros para corazones artificiales, etc. Además, se utilizan para el cultivo de células 3D y como dispositivos de administración de fármacos (3).

Esta memoria se centra en la descripción de hidrogeles cargados con fármacos anticancerígenos para el tratamiento de pacientes con glioblastoma multiforme (GBM). Estos sistemas muestran ventajas frente a las estrategias adoptadas para el tratamiento de GBM en las últimas décadas, haciéndolos excelentes candidatos como nuevos sistemas de tratamiento.

El GBM, astrocitoma grado IV (OMS), constituye el tumor cerebral primario más común y agresivo en adultos. Estos tumores muestran una alta tasa de proliferación con una infiltración difusa al tejido adyacente. La media de supervivencia de estos pacientes es muy baja (12-15 meses, con sólo un 27% de supervivientes a los dos años (4,5,6,7,8).

La temprana y profunda diseminación de las células malignas convierte al glioblastoma en un neoplasma quirúrgicamente incurable. De hecho, el 35% de los nuevos diagnosticados no son considerados para tratamiento quirúrgico, mientras que el resto pueden ser sometidos a una extirpación parcial o completa del tumor dependiendo de la extensión de éste.

A pesar de un aumento en el conocimiento de los glioblastomas y de un avance en las terapias, sólo el 8% de los pacientes tratados por GBM alcanzan un periodo de supervivencia de 2,5 años y muy poco sobreviven a este periodo (9,8).

Para el tratamiento frente a GBM son necesarias estrategias para una liberación de fármaco más eficiente, capaces de alcanzar una liberación sostenida del fármaco a concentraciones óptimas por encima de un periodo de tiempo y capaces de suprimir el crecimiento del tumor.

En este sentido, el uso de estrategias como nanomedicinas y/o liberación directa pueden ser una aproximación prometedora para el tratamiento de GBM (3).

La liberación local del agente quimioterápico tiene la ventaja de reducir la toxicidad sistémica y de evadir la barrera hematoencefálica (10). El sistema nervioso central (SNC) está aislado de la circulación sistémica por la barrera hematoencefálica. Ésta es una barrera física y farmacológica que hace imposible que muchos agentes quimioterápicos alcancen el cerebro y la localización del tumor a dosis terapéuticas, por tanto limitando las opciones de tratamiento(4).Estos sistemas son directamente administrados en el tumor o bien en la cavidad donde se ha llevado a cabo la resección del tumor.

En algunos casos, el agente quimioterápico es directamente cargado en la matriz del hidrogel, mientras que en otros casos se incorporan nanosistemas cargados con el agente en el hidrogel, prolongando así la liberación sostenida del agente (3).

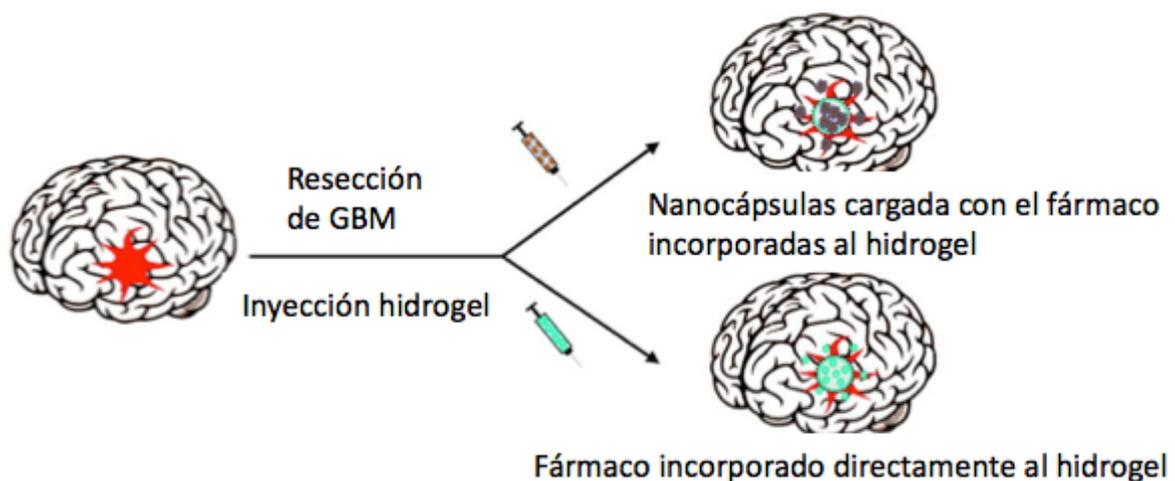


Fig. 1 Representación de un fármaco cargado directamente en el hidrogel y de nanocápsulas cargadas con el fármaco que son incorporadas al hidrogel (3).

Una clave importante en el éxito de los hidrogeles es la gelificación *in situ*. Existen distintos métodos de gelificación *in situ* dependiendo de las características del hidrogel, clasificándolos en dos categorías: hidrogeles basados en entrecruzamiento *in situ* e hidrogeles basados en separación de fases *in situ* (11, 12, 13).

La fotopolimerización es una técnica que consiste en el uso de luz del espectro visible o ultravioleta (UV) para iniciar y propagar una reacción de polimerización para formar una estructura polimérica lineal o cruzada(3). La fotopolimerización es un ejemplo de entrecruzamiento *in situ*.

Dos técnicas basadas en la separación de fases *in situ* son la termogelificación, que consiste en la formación de la matriz al entrar en contacto durante el tiempo requerido con una temperatura determinada según las características del gel (normalmente la temperatura corporal). Otra técnica es mediante cambios de pH en polímeros que contienen grupos ionizables experimentando un cambio de líquido a gel (11). En la tabla (1) se resumen las distintas ventajas e inconvenientes de los distintos sistemas de formación *in situ*.

TABLA 1: Ventajas e inconvenientes de los distintos sistemas de formación *in situ* (11).

Plataformas de formación <i>in situ</i>		Ventajas	Desventajas
Hidrogeles basados en entrecruzamiento <i>in situ</i>	Fotopolimerización	<ul style="list-style-type: none"> •Mejores propiedades químicas •Formación de depósitos estables 	<ul style="list-style-type: none"> •Gelificación por luz externa •Presencia de especies reactivas después de la gelificación •Penetración limitada de la luz visible y UV •Toxicidad de las especies libres sin reaccionar
	Entrecruzamiento químico	<ul style="list-style-type: none"> •Formación de depósitos estables •Se pueden generar materiales elásticos 	<ul style="list-style-type: none"> •Uso de agentes entrecruzadores tóxicos •Baja tasa de entrecruzamiento
	Entrecruzamiento físico	<ul style="list-style-type: none"> •No se necesita reacción química •Aceptable para agentes biológicos sensibles 	<ul style="list-style-type: none"> •Inestabilidad mecánica <i>in vivo</i> •Impacto de las propiedades del fármaco en la gelificación •Formación de material viscoelástico
Hidrogeles basados en separación de fases <i>in situ</i>	Hidrogeles pH-dependientes Hidrogeles termodependientes	<ul style="list-style-type: none"> •No se necesita reacción química •Aceptable para agentes biológicos sensibles 	<ul style="list-style-type: none"> •Inestabilidad mecánica <i>in vivo</i> •Liberación brusca para fármacos hidrófilos •Baja tasa de formación de gel
	Separación de fases <i>in situ</i> por solventes	<ul style="list-style-type: none"> •Uso de solventes orgánicos para solubilizar 	<ul style="list-style-type: none"> •Estabilidad de la biodegradación del polímero y fármaco •Toxicidad de los solventes orgánicos <i>in vivo</i>

3. OBJETIVOS

Los hidrogeles son sistemas muy versátiles que se pueden emplear en la vectorización de un gran número de fármacos y son muy buenos candidatos para el tratamiento de distintos tipos de patologías. El principal objetivo del este trabajo ha consistido en hacer una revisión de los distintos tipos de hidrogeles para el tratamiento del tumor cerebral primario más común y agresivo en adultos: el glioblastoma multiforme.

4. METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de artículos de libre acceso publicados en las bases de datos: PubMed, ScienceDirect. Para la búsqueda sistemática se utilizaron las palabras clave: “ hydrogel”, “ glioblastoma”, “ carboplatin”, “ treatment” , “ controlled release” . Como criterios de inclusión se estableció la selección de publicaciones tipo revisión y tipo investigación, textos completos. A través de la página de la Biblioteca de la Universidad Complutense (BUCea) se pudo acceder a los artículos de no libre acceso y se hizo una búsqueda exhaustiva revisando la bibliografía incluida en los artículos seleccionados con el fin de localizar estudios adicionales.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Tratamientos generales para el GBM

El tratamiento estándar para el glioblastoma consiste en la extirpación quirúrgica del tumor que sea accesible sin causar daño neurológico, seguido de quimiorradiación. Éste consiste en un tratamiento de radioterapia simultáneo a un tratamiento de quimioterapia con Temozolomida(TMZ) por vía oral, carmustina (BCNU), u otros agentes citotóxicos. Después de esta terapia estándar, la mayoría de los pacientes sufren recurrencias del tumor en los dos años siguientes al diagnóstico inicial (ver Fig 1) (3,4,5,10).

En 2009 la US Food and Drug Administration (FDA) aprobó el uso del anticuerpo monoclonal Bevacizumab como primera línea de tratamiento para pacientes recurrentes, usando sólo o en combinación con Irinotecán, aunque su impacto en la supervivencia general es controvertida, debido a que los ensayos no han demostrado que su uso aumente positivamente la supervivencia, ya que no se han realizado ensayos con grupo control) (3,14). Numerosos ensayos clínicos no han podido demostrar algún beneficio clínico del bevacizumab tanto en nuevos diagnosticados como en recurrencias del GMB (15).

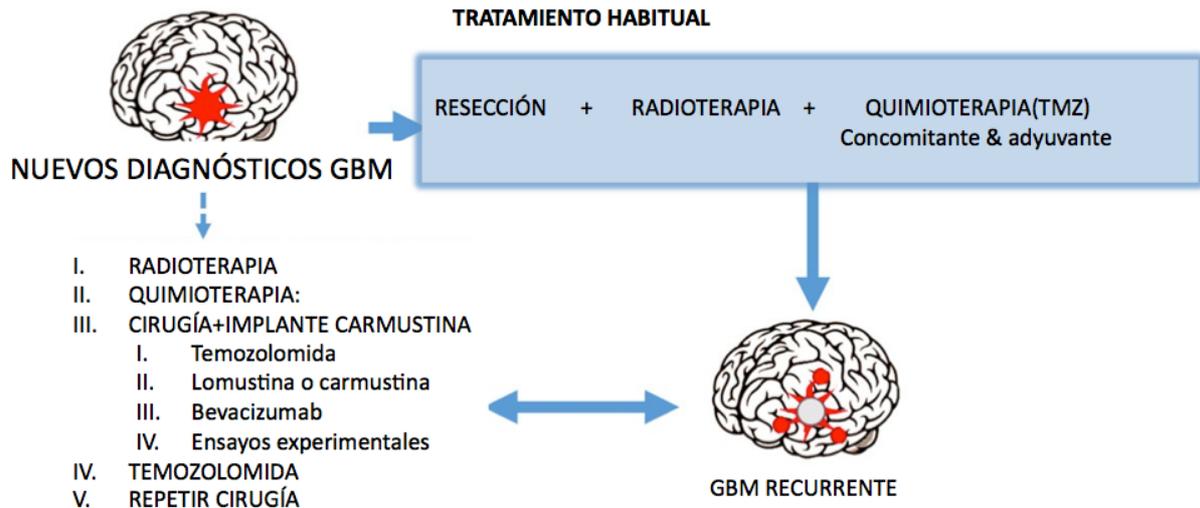


Fig. 2 Representación esquemática de las estrategias convencionales utilizadas para el tratamiento de pacientes con glioblastoma (3).

En la actualidad hay distintas estrategias para el tratamiento de glioblastoma. Además de su uso como tratamiento, los hidrogeles tienen un gran papel en la teragnosis, proporcionando una liberación local y extensa de los agentes teragnósicos en el tumor. La teragnosis consiste en el uso de agentes que tengan la función tanto de tratar la enfermedad como de diagnosticar (16).

Además de las estrategias que se han ido desarrollando en las últimas décadas, nos encontramos con otra estrategia muy prometedora como es la liberación local del agente citotóxico en la cavidad tras la extirpación del tumor. La liberación local consiste en colocar un sistema inyectable o bien implantable, que mantenga una liberación prolongada del agente citotóxico con el fin de llegar a las células malignas que no han podido ser extirpadas en la cirugía.

La liberación local muestra una serie de ventajas frente al resto de estrategias, tales como i) evasión de la barrera hematoencefálica, la cuál hace imposible para muchos agentes citotóxicos acceder al tumor cerebral, ii) algunos agentes citotóxicos tienen muy baja solubilidad acuosa, limitando su uso por vía IV, iii) al liberarse únicamente en la zona tumoral se evita la toxicidad sistémica y por consiguiente las reacciones adversas, además de reducir los múltiples ciclos de administración, mejorando así la calidad de vida del paciente, iv) se alcanzan concentraciones óptimas del agente citotóxico difíciles de conseguir con una liberación sistémica sin efectos tóxicos indeseables.

La liberación local podría presentar algunas desventajas como las reacciones adversas locales en la zona de administración o acumulación del fármaco.

Existen tres modalidades de liberación local sostenida intratumoral, las cuales se aplican en la cavidad tras la extirpación quirúrgica del tumor.

En primer lugar, el agente citotóxico puede ser administrado mediante la colocación de un implante (4);

En segundo lugar se puede liberar mediante el sistema CED (convention-enhance delivery), método mediante el cual se inyecta de forma continua el agente en disolución bajo presión positiva mediante un catéter. La estrategia actual para la liberación local en el tratamiento de pacientes con glioblastoma consiste en la administración de un implante de carmustina (Gliadel®) o infusión de carboplatino mediante la (administración mejorada por convención) convention-enhance delivery (CED) (10). Para más información relacionada con Gliadel® y CED consultar referencias (17) y (18), respectivamente.

En último lugar se inyectaría un hidrogel cargado con el fármaco. En este trabajo se analizan tres hidrogeles distintos los cuales son Oxi-HA/ADH, PEG-DMA y GemC₁₂-LNC.

Tanto las estrategias sistémicas como locales se combinan con radioterapia para conseguir un efecto sinérgico.

5.2. Tipos de hidrogeles utilizados en el tratamiento de glioblastoma.

CARACTERÍSTICAS IDEALES DE LOS HIDROGELES PARA EL TRATAMIENTO DE GBM (2):

- Estéril
- Inyectable o implantable *in situ*
- Propiedades reológicas parecidas al módulo del cerebro y ser capaz de imitar mecánicamente el microambiente del SNC
- Adhesión a los bordes de la cavidad
- Liberación sostenida del fármaco por encima de un mes con una liberación brusca inicial controlada
- Biocompatible, no inmunogénico y biodegradable entre 6 -12 meses
- No permitir la diseminación de las células tumorales

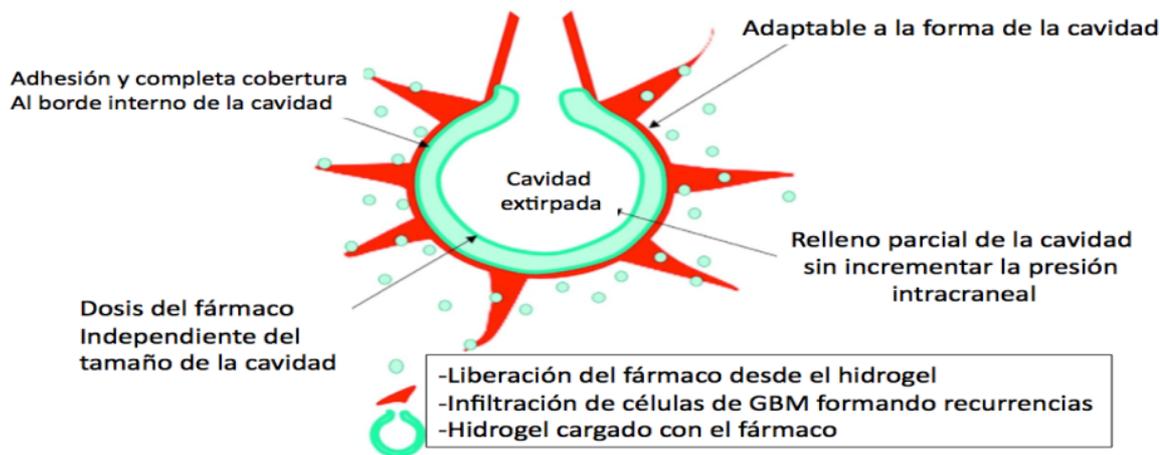


Fig. 3 Representación esquemática de la adaptación del hidrogel a la cavidad extirpada y la liberación del fármaco hacia las células infiltrantes del GBM (4).

TIPOS DE HIDROGELES.

Este trabajo desarrolla un análisis de tres formulaciones distintas. Dos de ellos son hidrogeles formados por diferente tipo de polímeros, Oxi-HA/ADH y PEG-DMA cargados con carboplatino y temozolomida, respectivamente. Ambos hidrogeles se forman *in situ* mediante distintos mecanismos. La tercera formulación, a diferencia de los anteriores no está formado por polímeros sino por nanocápsulas lipídicas y el propio fármaco, los cuales mediante su unión forman una estructura de gel. Éste último se formaría *ex situ*.

5.2.1.Oxi-HA/ADH hidrogel

En este estudio, H.-K.T. Liang et al. proponen un hidrogel de ácido hialurónico oxidado/ácido adípico dihidrazida (oxi-HA/ADH) cargado con carboplatino como estrategia para simplificar la liberación intratumoral. Para ello, además del análisis de las características del hidrogel, se comparó con otros métodos de liberación intratumoral (ver Fig 4 (10)). Este estudio también determinó el mantenimiento del efecto sinérgico entre este hidrogel y la radioterapia (RT) que se observa con las inyecciones acuosas de carboplatino y RT (estrategia convencional).

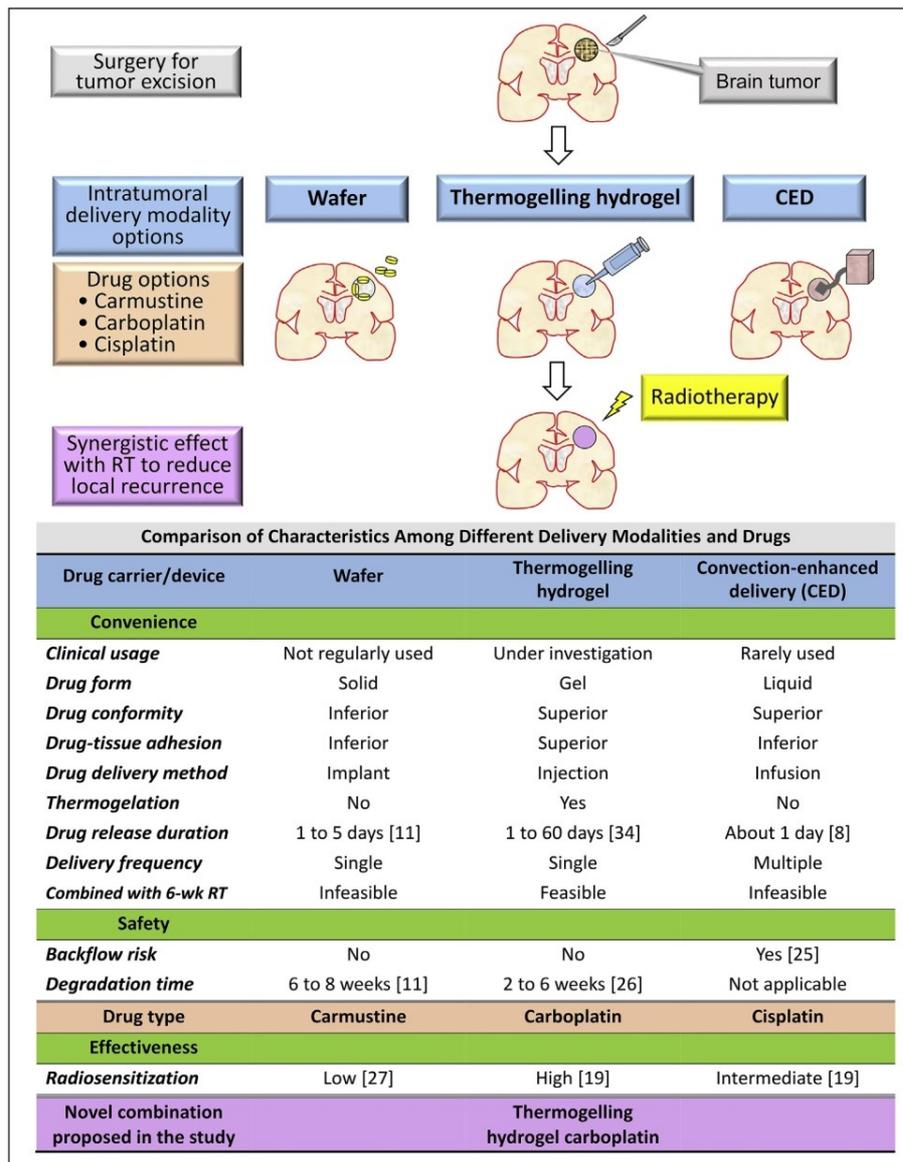


Fig. 4 Esquema y tabla comparativa con las tres modalidades de tratamiento del GBM, implante, hidrogel y CED (10)

El oxi-HA/ADH es un termogel biocompatible. Las características de la termogelificación proporcionan un tiempo adecuado de administración y de estabilización que hacen que el hidrogel se adapte mejor a la forma de la cavidad, permitiendo que se adhiera más fácilmente al tejido y proporciona una cobertura completa de la cavidad en comparación con los implantes y los sistemas líquidos.(10)

La formación *in situ* del gel proporciona una mejor adhesión de éste a los tejidos lo que se traduce en mejores condiciones de liberación.

H.-K.T. Liang et al. demostraron la biocompatibilidad del hidrogel mediante un ensayo de viabilidad y un ensayo de toxicidad, no encontrándose diferencia significativa entre el hidrogel y el grupo control negativo para ambos ensayos.

En cuanto al análisis del perfil de liberación del fármaco desde el hidrogel, se observó una liberación inicial del 63.7% durante las primeras 24 horas seguidas de una liberación sostenida de un 16.6% durante las 24-96 horas. La liberación del fármaco fue de un 80.3% del total administrado.

En el estudio *in vivo* se determinó que el tiempo en el que el oxi-HA/ADH pasa de estado líquido a un estado de gel fue de 17s a 37°C en ratones y se estimó que en humanos el tiempo necesario sería más prolongado y que este se podría alcanzar incrementando la concentración de ADH en el hidrogel, obteniéndose un tiempo de gelificación en un rango de 2-3 minutos a 37°C. (10)

La fig. 5 demuestra que el hidrogel podría proporcionar una adecuada distribución del carboplatino en el sitio de inyección en tumores tanto si la resección es total como parcial mediante la difusión de tinta cargada en el hidrogel cuyos diámetros pasaron de 7 a 11 mm tras su difusión en el sitio de inyección .

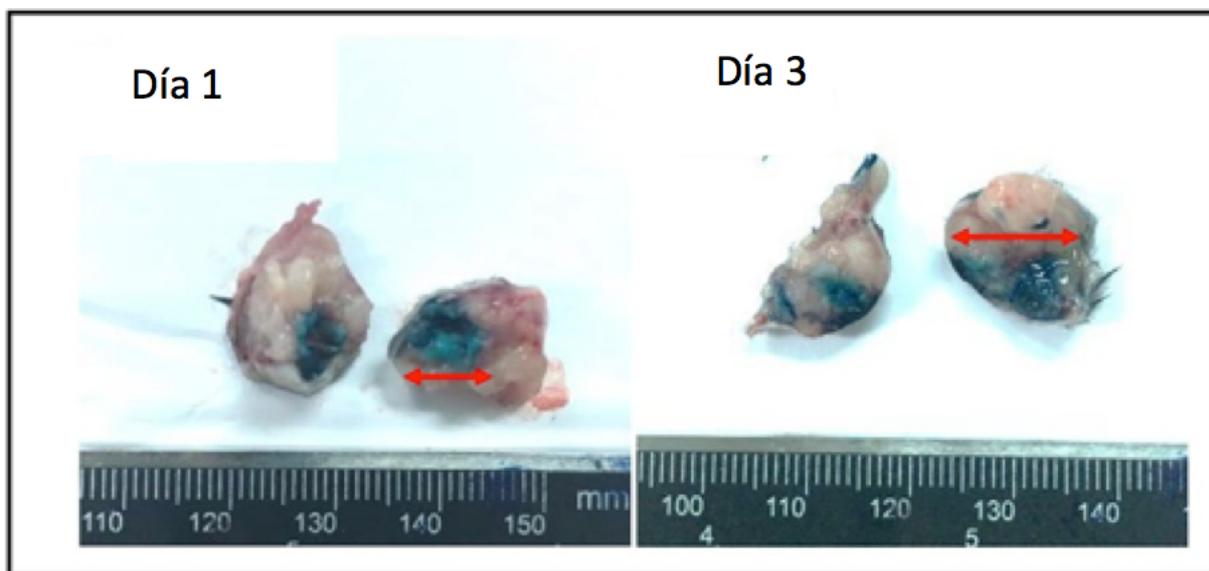


Fig. 5 Diámetros de la distribución de la tinta (área azul) (9).

No se halló diferencia significativa en la supervivencia media general para el grupo de ratones tratados con hidrogel-carboplatino-radioterapia(HCR) y el grupo tratado con carboplatino acuoso-radioterapia (ACR), pero si se halló diferencia significativa entre estos grupos y los

grupos de ratones tratados solo con radioterapia(RT), tratados sólo con carboplatino acuoso(AC) y tratados sólo con hidrogel-carboplatino(HC).

Para optimizar la dosis cargada en el hidrogel combinada con radioterapia la dosis total de carboplatino se distribuyó en dos grupos, uno con baja dosis (60mcg, 3mcg/g) y otro con alta dosis (600mcg, 15mcg/g). Se mostró un control del crecimiento tumoral completo únicamente en los grupos HCR y ACR tratados con la dosis alta.

Este estudio determinó que no había diferencias significativas entre el efecto sinérgico entre las múltiples inyecciones acuosas de carboplatino con radioterapia para el tratamiento de GBM y una única inyección de hidrogel oxi-HA/ADH con radioterapia. Por tanto la utilización del hidrogel facilitaría la administración sin afectar al efecto sinérgico del carboplatino con la RT. (10)

H.-K.T. Liang et al. (10) basándose en el análisis del perfil de liberación, biocompatibilidad, control del crecimiento tumoral, supervivencia y efectos adversos en este estudio han podido demostrar la eficacia y seguridad del hidrogel oxi-HA/ADH cargado con carboplatino y combinado con radioerapia como una estrategia muy prometedora para el tratamiento GMB.

5.2.2. PEG-DMA hidrogel

En este estudio T. Fourniols et al. hipotetizan que un hidrogel formado por dos copolímeros, PEG₇₅₀- Poly(ϵ -caprolactona-co- carbonato de trimetileno), inyectable cargado con Temozolomida(TMZ) y fotopolimerizable in situ puede proporcionar una liberación local sostenida. El desarrollo de un nuevo sistema inyectable se llevó a cabo con el objetivo de i) rellenar la cavidad tras la resección del tumor, ii) ser fácil y rápidamente fotopolimerizable in situ mediante un sistema comercial, iii) conseguir una liberación localizada y sostenida de cualquier agente quimioterápico directamente en el parénquima invadido y iv) reducir significativamente las recurrencias. Las propiedades del hidrogel y la liberación de la TMZ fueron caracterizados in vitro. La tolerabilidad y eficacia antitumoral del hidrogel fue evaluada in vivo, en el cerebro y, en un modelo subcutáneo de glioblastoma humano, respectivamente. (19)

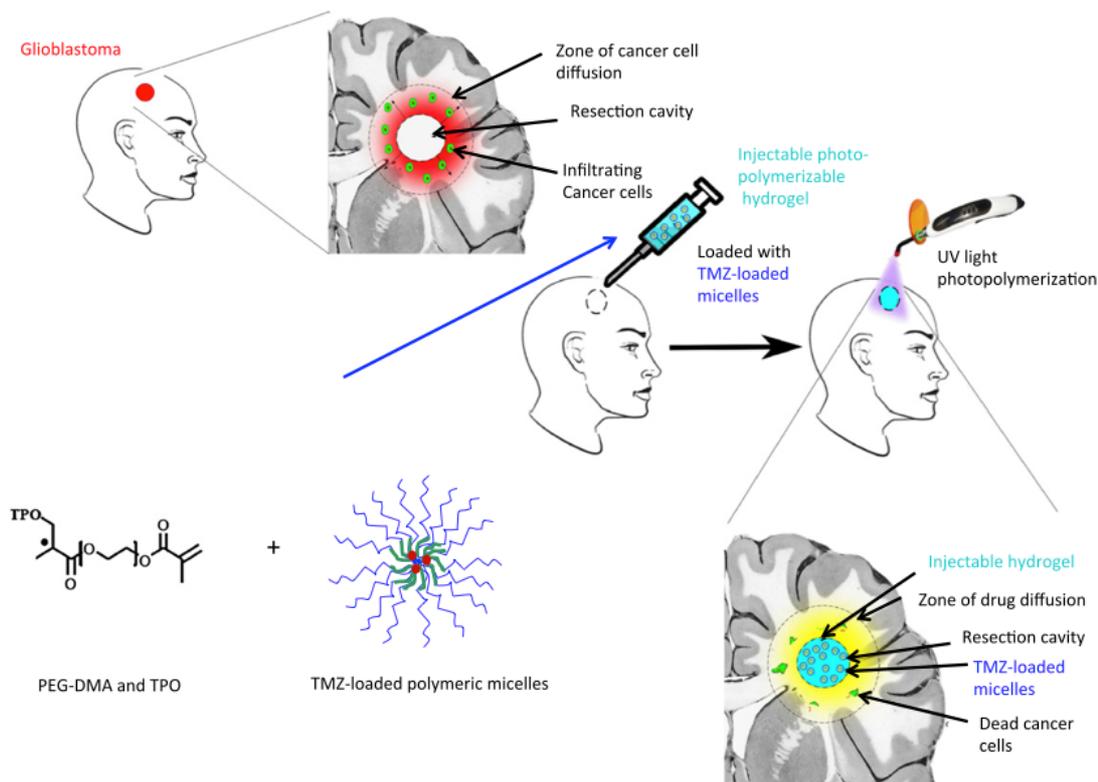


Fig. 6 Representación esquemática del principal objetivo del estudio, la formación de un hidrogel por fotopolimerización para tratamiento de GBM (19).

Debido a la baja solubilidad acuosa de la TMZ fueron analizados tres proporciones diferentes de los copolímeros: 30:70, 50:50, 70:30. Se eligió el índice 50:50 para la solubilización de la TMZ para este estudio debido a que presenta mejores características de solubilidad para la TMZ, mejor estabilidad y menor índice de polidispersidad.

Una ventaja de la utilización de este copolímero es que el autoensamblaje se produce al mezclar generosamente con agua sin necesidad de utilizar otros pasos como solventes orgánicos o evaporación para encapsular la TMZ.

Los copolímeros muestran biocompatibilidad, no citotoxicidad y no son hemolíticos.

El fotoiniciador utilizado en este estudio para aumentar la eficiencia de la polimerización ha sido Lucirin TPO® que se escinde y reacciona con una molécula de monómero para formar un núcleo de crecimiento. No se estudió la toxicidad de Lucirin TPO® en este estudio ya que la concentración introducida en el hidrogel no superaba el NOAEL.

La cinética de liberación de TMZ presenta dos fases: una fase lineal de liberación brusca del 45% durante las primeras 24 horas seguida de una liberación de más del 20% en la primera semana. Después la liberación llega a un estado estacionario hasta alcanzar un 70% de la libe-

ración. El perfil de liberación es similar al perfil de liberación de la carmustina (Gliadel®). (19)

La modificación del iniciador y/o del polímero puede utilizarse para ralentizar la liberación de TMZ.

En cuanto a la tolerabilidad, cuando el hidrogel fue implantado y fotopolimerizado en la cavidad, se observaron algunas células apoptóticas alrededor de la lesión pero no en la profundidad del parénquima.

En relación a la eficacia, el peso de los tumores de los ratones tratados con M-TMZ/PEG-DMA son drásticamente menores en comparación con el resto de grupos (control, TMZ IV, hidrogel no cargado). Para dos de los ratones el tumor desapareció completamente. Ninguno de los otros grupos mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$).

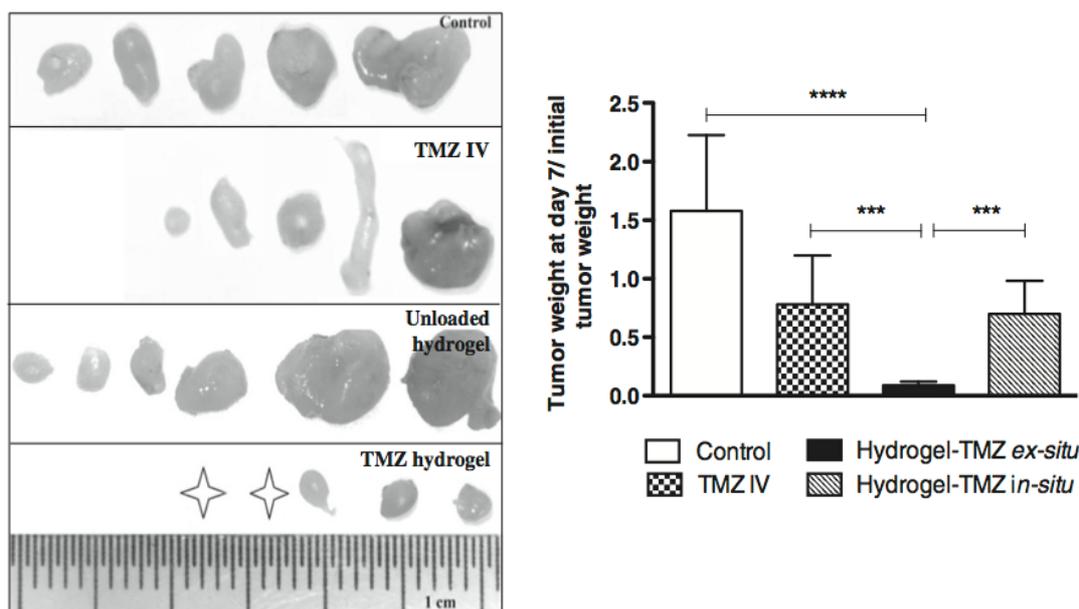


Fig. 7 La figura de la izquierda muestra las imágenes de los tumores tras 7 días desde la implantación del tumor. La figura de la derecha muestra los valores medios de los pesos de los tumores tras 7 días desde la implantación (19).

Los ratones tratados con TMZ intravenosa no presentaron diferencias en la reducción del peso del tumor comparado con los grupos sin tratamiento. Esto puede ser debido a que, en primer lugar, se utilizó una dosis baja de TMZ (4.75 mg/kg), ajustada para que fuese equivalente a la dosis administrada localmente por los hidrogeles, comparada con la dosis clásica usada en la

administración intravenosa de TMZ (40mg/kg) y en segundo lugar, es debido a la baja acumulación de TMZ en el tumor cuando se administra por vía intravenosa. (19)

Se observaron células apoptóticas únicamente en los centros de los tumores tratados con hidrogel cargado con TMZ, lo cual corrobora la reducción del peso del tumor anteriormente mencionada. No se encontraron células apoptóticas en la periferia. Se observó proliferación de células en el centro y la periferia de los tumores no tratados o tratados con el hidrogel sin cargar con TMZ. CD34 positivo fue observado dentro y en la periferia de los tumores. (ver Fig 8)

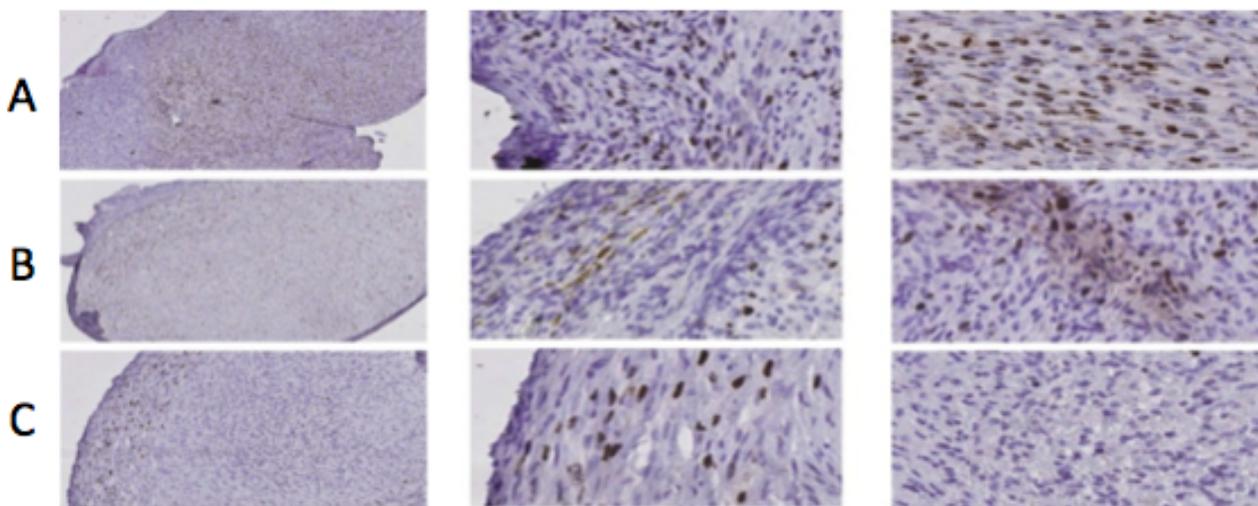


Fig. 8 Efecto de M-TMZ-PEG/DMA en la proliferación tumoral. Células proliferativas de tumor humano tras 7 días de tratamiento detectadas con la tinción Ki67. A: Control, B: Hidrogel no cargado, C: M-TMZ-PEG/DMA (19).

Debido a que el GBM es un tumor muy vascularizado, la TMZ liberada por el hidrogel puede alcanzar y acumularse por todo el tumor.

A pesar de que TMZ/PEG-DMA induce apoptosis sólo en el centro del tumor y se pueden detectar células proliferativas en la periferia del tumor, este sistema puede causar una reducción/desaparición del tumor y en un corto periodo de tiempo. Por lo tanto es un sistema prometedora para el tratamiento local del GBM. (19)

5.2.3. GemC₁₂-LNC.

Moysan et al. (14) han desarrollado un sistema de nanocapsulas con estructura de hidrogel. Una forma lipofílica de la gemcitabina (modificada con lauroil), la 4-(N)-lauroil-gemcitabina (GemC₁₂) es encapsulada en nanocápsulas lipídica(LNCs), usando un proceso de inversión de fase por temperatura(20).

Esta formulación encaja con la definición de hidrogel excepto que ningún constituyente es un polímero. De hecho, la formación del hidrogel es debida a la colocación de la GemC₁₂ en la interfaz lípido-agua de las LNC, lo que permite la formación de puentes de hidrogeno entre las porciones de fármaco y la inmovilización de la fase acuosa sin formar una matriz (3). La cadena alquilante está situada dentro de la estructura de la LNC mientras que la estructura de la Gem queda orientada hacia la fase acuosa formando los puentes(4).

Este sistema ha mostrado ser capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, a pesar de ello, C. Bastiancich et al. (4) proponen liberar la GemC₁₂ en el tumor o en la cavidad extirpada con el objetivo de evitar recurrencias. Para ello han formulado un hidrogel de GemC₁₂-LNC y han evaluado sus propiedades fisicoquímicas, las cinéticas de liberación *in vitro* en fluido artificial cerebroespinal y la citotoxicidad *in vivo*. La eficacia y biocompatibilidad fueron también evaluadas *in vivo* mediante un modelo subcutáneo de GMB humano y en el cerebro, respectivamente (4).

La principal ventaja consiste en que la degradación del gel es directamente consecuencia de la liberación de las LNC sin la intervención de otros componentes como polímeros, agentes gelificantes o estímulos externos que puedan provocar efectos secundarios o influir en la actividad o en la liberación.

El ensayo *in vitro* muestra una liberación inicial del fármaco del 56±9% en las primeras 48 horas seguido de una liberación prolongada. Después de un mes de incubación se había liberado casi un 77± 8% del fármaco. Estos resultados son prometedores para realizar un estudio *in vivo*.

En concordancia con la literatura, los resultados de este estudio muestran que la encapsulación de la GemC₁₂ (GemC₁₂-LNC) no modifica la citotoxicidad de la GemC₁₂.

La eficacia fue evaluada mediante la inyección de cuatro tratamientos diferentes en tumores U-87MG de células de glioma en ratones, los cuales fueron: grupo control, LNC sin cargar, GemC₁₂ y GemC₁₂-LNC. Los resultados reflejados en la figura muestran una importante re-

ducción del tamaño del tumor en el grupo tratado con GemC₁₂-LNC, mientras que en el resto de grupos no se observó una reducción significativa, aun así se observó un aumento del tumor menos pronunciado en el grupo tratado con GemC₁₂ que en los no tratados.

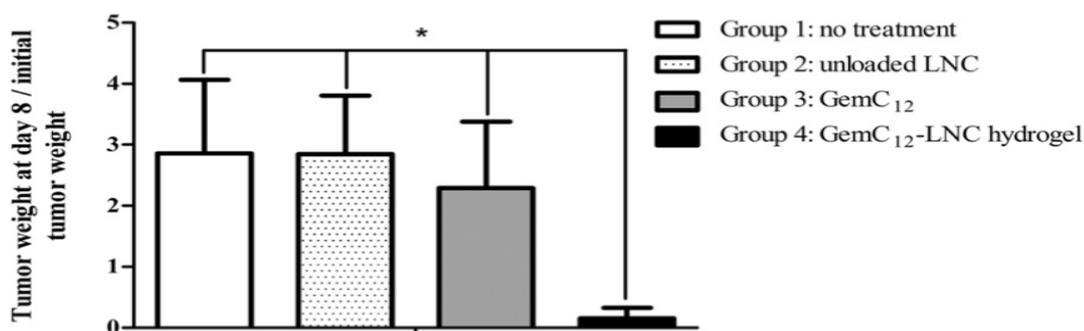


Fig. 9 Eficacia antitumoral de GemC₁₂-LNC en un modelo subcutáneo de GBM. Los valores fueron medidos tras 8 días de tratamiento (4).

La evaluación de la respuesta celular se llevó a cabo mediante el H&E coloration, el ensayo TUNEL. Tras una semana de la inyección no se encontró una respuesta inflamatoria, apoptosis o activación de la microglia en los grupos tratados con GemC₁₂-LNC significativamente diferente a los grupos tratados con PBS y LNC sin cargar, indicando que el gel es tolerado por el cerebro de ratón.

6. CONCLUSIONES

Actualmente no se han encontrado estudios de ensayos clínicos o su aplicación en la práctica clínica. El análisis del perfil de liberación, biocompatibilidad, citotoxicidad, control del crecimiento tumoral, supervivencia y efectos adversos de los tres estudios analizados han demostrado que estos sistemas son excelentes candidatos para su uso en ensayos clínicos posteriores. Este trabajo se ha centrado en tres hidrogeles distintos, pero el campo de los hidrogeles es muy amplio y todavía hay muchos hidrogeles que se podrían someter a un estudio similar. Además, en los trabajos investigados se cargan los hidrogeles con un sólo fármaco y sería interesante la investigación de un hidrogel cargado con más de un antitumoral para analizar un posible efecto sinérgico.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Marras Márquez, Taitana. Diseño, preparación y caracterización de hidrogeles de agarosa para liberación controlada de fármacos. Universidad Complutense de Madrid, 2016.
2. Desireé Alesa Gyles ,Lorena Diniz Castro, José Otávio Carréra Silva Jr., Roseane Maria Ribeiro-Costa. A review of the designs and prominent biomedical advances of natural and synthetic hydrogel formulations. *European Polymer Journal*. 2017; 88: 373-392.
3. C. Bastiancich , P. Danhier , V. Préat , F. Danhier . Anticancer drug-loaded hydrogels as drug delivery systems for the local treatment of glioblastoma. *Journal of Controlled Release*. 2016; 243:29–42.
4. C. Bastiancich , K. Vanvarenberg , B. Ucakar , M. Pitorre , G. Bastiat , F. Lagarce , V. Préat , F. Danhier. Lauroyl-gemcitabine-loaded lipid nanocapsule hydrogel for the treatment of glioblastoma. *Journal of Controlled Release*. 2016; 225:283-293.
5. Ruiz Sánchez, Daniel. Estudio fármaco-económico y de efectividad del esquema bevacizumab-irinotecan en el tratamiento de las recurrencias del glioblastoma multiforme primario frente a otras líneas de tratamiento. Universidad Complutense de Madrid, 2016.
6. Kaisorn L Chaichana, Leon Pinheiro, and Henry Brem. Delivery of local therapeutics to the brain: working toward advancing treatment for malignant gliomas. *Ther Deliv*. 2015; 6(3): 353-369.
7. Frank B. Furnari, Tim Fenton, Robert M. Bachoo, Akitake Mukasa, Jayne M. Stommel, Alexander Stegh, William C. Hahn, Keith L. Ligon, David N. Louis, Cameron Brennan, Lynda Chin, Ronald A. DePinho, and Webster K. Cavenee. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. *Genes&Development*. 2007; 21:2683-2710.
8. R.Stupp, M.Brada, M.J.vandenBent, J.C.Tonn, G.Pentheroudakis. High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up,.*Ann. Oncol. Off. J. European Soc. Med. Oncol*. 2014; 25 (3): 93-101.
9. Nicolas R. Smoll, Karl Schaller, Oliver P.Gautschi. Long-term survival of patients with glioblastoma multiforme (GBM). *Journal of clinical neuroscience*. 2013; 20(5):670-675
10. Hsiang-Kuang Tony Liang , Xue-Shi Lai , Ming-Feng Wei , Szu-Huai Lu , Wen-Fen Wen, Sung-Hsin Kuo , Chung-Ming Chen , Wen-Yih Isaac Tseng , Feng-Huei Lin. Intratumoral injection of thermogelling and sustained-release carboplatin-loaded hydrogel simplifies the administration and remains the synergistic effect with radiotherapy for mice gliomas. *Biomaterials*. 2018; 151: 38-52

11. Amir Fakhari, J. Anand Subramony. Engineered in-situ depot-forming hydrogels for intratumoral drug delivery. *Journal of Controlled Release*.2015;220:465-475.
12. Sophie R. Van Tomme, Gert Storm, Wim E. Hennink. In situ gelling hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008; 355(1-2): 1-18.
13. Ansuja Pulickal Mathew,Saji Uthaman, Ki-HyunCho, Chong-SuCho, In-KyuPark. Injectable hydrogels for delivering biotherapeutic molecules. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 110:17-29.
14. Derek R. Johnson, MD; Heather E. Leeper, MD; and Joon H. Uhm, MD. Glioblastoma Survival in the United States Improved After Food and Drug Administration Approval of Bevacizumab. *Cancer*. 2013;119:3489-3495
15. Seung Won Choi, Hyemi Shin, Jason K.Sa, Hee Jin Cho, Harim Koo, Doo-Sik Kong, Ho Jun Seol, Do-Hyun Nam. Identification of transcriptome signature for predicting clinical response to bevacizumab in recurrent glioblastoma. *Cancer medicine*. 2018;7(5):1774-1783.
16. Mohammad Norouzi , Bahareh Nazari and Donald W. Miller. Injectable hydrogel-based drug delivery systems for local cancer therapy. *Drug Discovery Today*. 2016; 21: 1835-1849.
17. L.S. Ashby, K.A. Smith, B. Stea. Gliadel wafer implantation combined with standard radiotherapy and concurrent followed by adjuvant temozolomide for treatment of newly diagnosed high-grade glioma: a systematic literature review. *World J. Surg. Oncol*, 2016; 14 (1):225.
18. Weilian Yang, Tianyao Huo, Rolf F. Barth, Nilendu GuptaMichael Weldon, John C. Grecula, Brian D. RossBenjamin A. Hoff, Ting-Chao Chou, Julia Rousseau, Hélène Elleaume. Convection enhanced delivery of carboplatin in combination with radiotherapy for the treatment of brain tumors, 2011; 101(3): 379-390
19. Thibaut Fourniols, Luc D. Randolph, Aur elie Staub, Kevin Vanvarenberg, Julian G. Leprince, Véronique Préat, Anne des Rieux , Fabienne Danhier. Temozolomide-loaded photopolymerizable PEG-DMA-based hydrogel for the treatment of glioblastoma. *Journal of Controlled Release*. 2015;210:95-104.
20. E. Moysan, Y. González-Fernandez, N. Lautram, J. Bejaud, G. Bastiat, J.P. Benoit. An innovative hydrogel of gemcitabine-loaded lipid nanocapsules: when the drug is a key player of the nanomedicine structure. *Soft Matter*. 2014;10:1767-1777.