

Revisión de Alcance de las Nanopartículas que cruzan la Barrera Hematoencefálica y la Reducción de Tamaño de Tumores Cerebrales en Modelos de Animales

A. González De la Cerda^{1*}, C. Chapa González^{2**}

¹Ingeniería Química Metalúrgica, Universidad de Colima, Coquimatlán, México

² Instituto de Ingeniería y Tecnología, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, México.

agonzalez15@ucol.mx* *christian.chapa@uacj.mx*

Abstract— The present study undertakes a scoping review of research on the size and material of nanoparticles (NPs) that cross the blood brain barrier (BBB) and effectively reduce tumor sizes in animals. Online databases were used to identify papers from which quantitative data could be extracted. The mean size of NPs with proof of BBB penetration and the best performance in brain tumor reduction (or growth inhibition) was of 116.8 nm. More research should be conducted before establishing an ideal material for these nanoparticles.

Palabras clave — Blood-brain barrier, cancer, nanoparticles, tumor

I. INTRODUCCIÓN

La lucha contra el Glioblastoma Multiforme (GBM), el tumor primario maligno más común en el cerebro [1], ha cambiado muy poco en los últimos 15 años cuando el uso de la radiación como tratamiento estándar finalmente fue complementado con el uso de temozolomida [2]. Aún con el uso de tratamientos multifacéticos que incluyen la máxima resección quirúrgica posible, radioterapia y quimioterapia; el tiempo de supervivencia promedio es de tan solo 15 meses. Parte de la complejidad de esta patología es la existencia de la barrera hematoencefálica (BHE) [3] que bloquea la entrada de pequeñas moléculas de fármacos o anticuerpos [4]. Razón por la cual la nanomedicina se vuelve más popular en la lucha contra el GBM buscando una mejor penetración de la barrera hematoencefálica. Aunque ha habido avances reportados en la comunidad científica como la superioridad de la carboplatina liposomal sobre la carboplatina pura en la prolongación del tiempo promedio de supervivencia en modelos murinos [6] o el incremento en la penetración de la BHE al cubrir nanopartículas poliméricas menores a 200nm [7], aún no se ha diseñado la nanoestructura más efectiva para combatir tumores cerebrales.

Múltiples experimentos *in vivo* han sido llevados a cabo para controlar las propiedades de los nanosistemas que logran superar la BHE y reducir tumores cerebrales, ejemplos de estos incluyen el uso de nanopartículas *vault* [8], terapia con ARNi [9], micelas de distintas composiciones [10,11] y terapias combinatorias que utilizan el Ultrasonido Focalizado con las nanopartículas

o microburbujas para guiar al fármaco a través de la BHE y reducir el tamaño de los tumores [12,13,14].

Aunque existe una extensa literatura sobre estudios de sistemas de nanomedicina en modelos de animales en la reducción de tamaño de tumores, aún no se ha realizado una revisión sistemática sobre el tema, específicamente en tumores cerebrales. Este trabajo es importante porque puede identificar las propiedades fisicoquímicas, como la distribución de tamaño y materiales empleados que son clave durante el proceso de penetración de la BHE, así como también proporciona información sobre diferentes factores que pueden afectar el proceso (por ejemplo, tipo de fármaco empleado, tipo de animal, duración del estudio). Esta información puede ayudar a diseñar futuros ensayos experimentales y facilitar la traducción de conocimientos. Por lo tanto, realizamos una revisión sistemática de todos los estudios en animales identificados y disponibles sobre la administración de nanopartículas a tumores cerebrales en modelos de animales. Específicamente, nuestros objetivos son estimar en qué medida la reducción de tamaño de tumor: (i) se relaciona con el tamaño de las nanopartículas, (ii) se relaciona con el material de las nanopartículas y (iii) difiere según el tipo de animal y la duración del seguimiento. Por ello hemos planteado la pregunta de investigación ¿Cuál es el tamaño y material de las nanopartículas que atraviesan la barrera hematoencefálica y reducen en mayor porcentaje el tamaño de los tumores cerebrales en animales de laboratorio?

II. METODOLOGÍA

A. Recopilación de información

Esta revisión de alcance fue realizada según el protocolo PRISMA-ScR. (Fig. 1). No hay registro formal del protocolo final en PROSPERO. Los artículos incluidos en la revisión cumplen con requisitos como: demostración de que la nanoestructura puede cruzar la barrera hematoencefálica, prueba de reducción de tumor cerebral con nanopartículas y experimentación *in vivo*.

Fueron excluidos los trabajos donde las nanopartículas tenían un componente inmunológico o no tenían valores reportados (sea numéricamente o en gráficas) sobre el tamaño de las nanopartículas utilizados o los tamaños pretratamiento y postratamiento. Los artículos que no tenían un grupo de control (sean nanopartículas vacías o tratamiento nulo) no fueron considerados. La fecha de publicación no fue un factor para filtrar los artículos.

Se consultaron desde la primera publicación hasta junio del 2021 las siguientes bases de datos: *Web of Science*, *ScienceDirect*, *PubMed* y *JSTOR*.

Los resultados finales de la búsqueda fueron exportados a una base de datos utilizando *Excel* y los duplicados fueron eliminados utilizando reglas de formato condicional e individualmente eliminando los archivos duplicados.

Los artículos no originales como *Reviews*, *Proceedings* y otros, que no fueron identificados por las herramientas de automatización, fueron manualmente eliminados (28). Artículos con títulos no relacionados con el tema fueron eliminados (22), por ejemplo: “*Principles of Magnetic Resonance Imaging*” and “*Effects of Pollution on Marine Organisms*”. Artículos con títulos que no son suficientemente específicos también fueron filtrados (38).

Los artículos restantes (102) fueron evaluados de acuerdo con sus títulos y resúmenes, los que no discutían nanopartículas, tumores o cáncer cerebral ni fueron realizados en modelos animales o fueron considerados. El número de artículos a considerar después de este proceso llegó a 24.

B. Clasificación de la información

Una hoja de cálculo fue desarrollada para vaciar en tablas las variables a extraer. Se abstraer información sobre las características de los nanomateriales que exitosamente penetraban la barrera hematoencefálica. Los datos recolectados incluyeron el tipo, material y tamaño de las nanopartículas, los tamaños pretratamiento y postratamiento de los tumores de la población estudiada y del grupo de control y el animal en el cuál fue realizado el estudio.

C. Cálculos

Cuando el porcentaje de reducción o inhibición del tumor no estaba reportado explícitamente en los artículos, pero existía suficiente información para obtener este valor se hicieron cálculos para obtener el porcentaje. La operación realizada siguió la siguiente fórmula:

$$\% Red = \frac{(PoT_{GC} - PrT_{GC}) - (PoT_{GE} - PrT_{GE})}{PoT_{GC}} \quad (1)$$

Donde,

$\%Red$ = Porcentaje de reducción del tumor

PoT = Medida postratamiento

PrT = Medida pretratamiento

GE = Grupo experimental

GC = Grupo de control

También se realizó un análisis de la correlación entre el tamaño y el material de las nanopartículas con la eficiencia en la reducción del tumor (o inhibición de su crecimiento).

D. Uso de unidades de reducción de tumor

Existen distintas formas de evaluar si el tratamiento con nanopartículas fue o no eficiente en un modelo *in vivo*, incluyendo la reducción en la expresión de MRP1, [15], inhibición de la actividad de la luciferasa [9,10] y aumento en el tiempo de supervivencia del sujeto estudiado [6]. Sin embargo, en esta revisión únicamente fue considerada la literatura que reportaron reducción de las medidas del tumor (sea en área o en volumen) y no la literatura que reportaba expresión de proteínas relacionados a los tumores cerebrales ni cambios en la supervivencia media.

Los artículos que hacían uso de radiación o ultrasonido focalizado y no incluían un grupo de control que no utilizaba el uso de este tratamiento, tampoco fueron incluidos.

III. RESULTADOS

Después de la evaluación de texto completo, se incluyeron 24 publicaciones en la revisión sistemática (ver Fig. 1 para el diagrama de flujo de PRISMA). Se estableció contacto con los autores cuando no pudimos recuperar o comprender los datos y cinco respondieron a la solicitud y enviaron los datos en el lapso destinado de una semana.

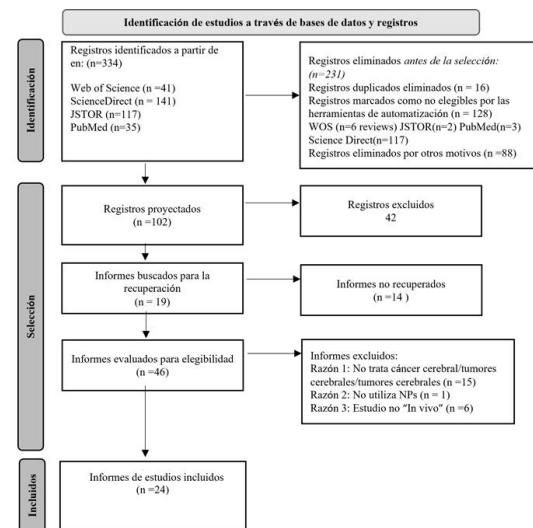


Figura 1-Diagrama de flujo PRISMA-ScR

La Tabla I presenta las características de los estudios incluidos. En general, las características del estudio

variaron considerablemente; la mayoría de los estudios se realizaron en ratones (6 estudios; 66.6%), 2 en ratas (22%) y solo 1 en perros (11%). Siete estudios (77.7%) reportaron tamaños de partículas mayores a 100 nm y dos de ellos reportaron tamaños menores. Hubo una gran variabilidad en los resultados primarios para los materiales de los que se componen los sistemas de nanomedicina y los días de estudio; 6 estudios (66.6%) informaron del fármaco antineoplásico empleado.

El tamaño promedio de las cinco nanopartículas (Tabla 1) con la mayor eficiencia en la reducción del tumor (mayor de >70%) fue de aproximadamente 117 nm. Claramente el empleo de fármaco es decisivo en el resultado. Por lo que la función de las nanopartículas es

acarreo y liberación de fármaco. Tampoco se encontró concordancia en los días de estudio en relación con el modelo animal empleado, el rango fue de 14 a 31 días, independientemente de la composición del sistema de nanomedicina, el fármaco o modelo animal empleado. El metanálisis o los análisis de subgrupos no se realizaron por que el número de comparaciones fue pequeño, además de la alta heterogeneidad entre los resultados y por la naturaleza tan variada de los materiales de que se componen las nanopartículas los mecanismos de biodistribución, cruce de la BHE y liberación de fármaco no obedecen a un modelo único.

TABLA 1-EFICIENCIA DE DIFERENTES TIPOS Y TAMAÑOS DE NANOPARTÍCULAS EN LA REDUCCIÓN DE TUMORES CEREBRALES

Referencia	Eficiencia	Tamaño de NP (nm)	Material	La NP tiene..	Animal estudiado	Días de estudio
[16]	96.35%	114	Oro	Doxorubicina	BALB/c nude mice	28
[17]	95.45%	160±13	P(TMC-DTC) funcionalizada con péptido ApoE20	Doxorubicina	Ratones BALB/c	22
[18]	90.00%	118 ±2	PLGA	Doxorubicina	Ratas Wistar	14
[19]	83.02%	89	Óxido de hierro	Cetuximab	Perros	31
[20]	72.90%	103	TMZ-LfNPs	Tomozolomida	Ratones C57BL/6	14
[21]	65.67%	183.6	L(fluido)-LG conjugada con péptido Chol-19-mer	Mitaxantrona	Ratones NMR1un/un	22
[22]	57.30%	164 ±10.3	Lípido-DOTAP-PEG-PLG-A HNP	Ácido famesil tiosalicílico	Ratas Wistar	15
[23]	54.90%	19	Carboxilatos activados por NHS (ácido polimérico) con H2N-Leu-Leu-Leu-OH (LLL)	AONS	Ratones	30
[24]	48.39%	210.8	NPs/pTRAIL-Hadsc	Células madres derivadas de tejido adiposo humano	Ratones	15

IV. DISCUSIÓN

Esta revisión sistemática se diseñó para responder una pregunta de investigación específica sobre el tamaño y material de los diferentes tipos de sistemas de nanomedicina en la reducción de tamaño de tumor en modelos animales (estudios *in vivo*). En esta revisión sistemática no encontramos pruebas sólidas de que la distribución de tamaño de las nanopartículas esté relacionada con la disminución del tamaño del tumor cerebral en modelos animales. Hacemos hincapié en la necesidad de realizar más ensayos preclínicos con controles para respaldar o rechazar esta hipótesis. Está ampliamente aceptado que las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas determinan su desempeño en las aplicaciones biomédicas, en este caso, determinan el atravesamiento de la BHE, el acarreo y liberación de fármacos, por lo que relacionarlo con la reducción de tamaño de tumor es un gran desafío en un entorno clínico, especialmente desde una perspectiva metodológica. Por ejemplo, controlar los muchos factores de confusión (p. ej., composición, potencial zeta, recubrimientos, morfología, fármaco empleado, concentración) de forma prospectiva requiere una planificación y un tiempo

considerables. Por lo tanto, es imperativo traducir la evidencia de los estudios experimentales *in vivo* disponibles. De hecho, los estudios en animales ayudaron a comprender el proceso fisiológico de la penetración de la BHE de moléculas pequeñas [25] y también pueden proporcionar información importante sobre el efecto de las propiedades de los sistemas de nanomedicina en la disminución de tamaño de tumor.

V. CONCLUSIONES

Cada vez está más claro que los sistemas de nanomedicina atraviesan la BHE y sus propiedades son fundamentales para ello. La mayoría de los estudios en animales apoyan la conclusión de que la administración de sistemas de nanomedicina puede retrasar el crecimiento de tumores. Es importante probar diferentes hipótesis de reducción de tamaño de tumor en animales pequeños y ratones, respecto a las propiedades fisicoquímicas de los sistemas de nanomedicina.

Hubo una heterogeneidad sustancial entre los diversos estudios de nanopartículas que atraviesan la barrera hematoencefálica en estudios que reportan disminución de tamaño de tumor cerebral en estudios con animales. Más estudios con controles son necesarios para elucidar los

factores que pueden modificar el efecto de los sistemas de nanomedicina sobre los resultados de la reducción de tamaño de tumor.

Nuestros resultados indican la necesidad de estudios que comparen el efecto de la administración de sistemas de nanomedicina sobre modelos animales de machos y hembras y de distintas edades. Además, nuestros resultados demuestran que es importante elegir el momento adecuado para la recolección de muestras en función del resultado de que se medirá. Las mediciones de resultados de tamaño de tumor requieren más de 14 días para mostrar resultados que son comparables a los del grupo de control. En segundo lugar, las mejoras en la validez interna o calidad de cada estudio individual y externa (sesgo de publicación) podrían proporcionar más información para la traducción de los datos a ensayos clínicos, y una exploración más sólida de los límites de eficacia en dichos estudios podría informar los criterios de inclusión y exclusión de estos ensayos.

Nuestros resultados deben interpretarse con la limitación de los estudios incluidos con respecto a un riesgo muy elevado de sesgo, utilizando el modelo animal sano y el tamaño de la muestra. Esta limitación debe tenerse en cuenta durante la interpretación de nuestra conclusión de los estudios en animales incluidos. Se necesitan estudios experimentales que comparen diferentes sexos y edades dentro del mismo experimento para la estratificación y comparación.

REFERENCIAS

- [1] R. Batash, N. Asna, P. Schaffer, N. Francis, and M. Schaffer, "Glioblastoma Multiforme, Diagnosis and Treatment; Recent Literature Review" *Curr. Med. Chem.*, vol. 24, no. 27, May 2017, doi: 10.2174/0929867324666170516123206.
- [2] D. R. Johnson and B. P. O'Neill, "Glioblastoma survival in the United States before and during the temozolomide era" *J. Neurooncol.*, vol. 107, no. 2, pp. 359–364, Apr. 2012, doi: 10.1007/S11060-011-0749-4.
- [3] C. Alifieris and D. T. Trafalis, "Glioblastoma multiforme: Pathogenesis and treatment," *Pharmacol. Ther.*, vol. 152, pp. 63–82, Jun. 2015, doi: 10.1016/J.PHARMTHERA.2015.05.005.
- [4] O. Van Tellingen, B. Yetkin-Arik, M. C. De Gooijer, P. Wesseling, T. Wurdinger, and H. E. De Vries, "Overcoming the blood-brain tumor barrier for effective glioblastoma treatment" *Drug Resist. Updat.*, vol. 19, pp. 1–12, Mar. 2015, doi: 10.1016/J.DRUP.2015.02.002.
- [5] L. Jena, E. McErlean, and H. McCarthy, "Delivery across the blood-brain barrier: nanomedicine for glioblastoma multiforme" *Drug Deliv. Transl. Res.*, vol. 10, no. 2, pp. 304–318, Apr. 2020, doi: 10.1007/S13346-019-00679-2.
- [6] M. Shi et al., "Liposomal formulations of carboplatin injected by convection-enhanced delivery increases the median survival time of F98 glioma bearing rats" *J. Nanobiotechnology*, vol. 16, no. 1, Oct. 2018, doi: 10.1186/s12951-018-0404-8.
- [7] E. A. Nance et al., "A dense poly(ethylene glycol) coating improves penetration of large polymeric nanoparticles within brain tissue" *Sci. Transl. Med.*, vol. 4, no. 149, Aug. 2012, doi: 10.1126/SCITRANSLMED.3003594.
- [8] M. Shi et al., "Liposomal formulations of carboplatin injected by convection-enhanced delivery increases the median survival time of F98 glioma bearing rats" *J. Nanobiotechnology*, vol. 16, no. 1, Oct. 2018, doi: 10.1186/s12951-018-0404-8.
- [9] D. Yu et al., "Multiplexed RNAi therapy against brain tumor-initiating cells via lipopolymeric nanoparticle infusion delays glioblastoma progression" *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 114, no. 30, pp. E6147–E6156, 2017, doi:10.1073/pnas.1701911114
- [10] Y. Li et al., "Reduction-responsive petoz-ss-pcl micelle with tailored size to overcome blood-brain barrier and enhance doxorubicin antiglioma effect" *Drug Deliv.*, vol. 24, no. 1, pp. 1782–1790, 2017, doi: 10.1080/10717544.2017.1402218.
- [11] Y. Xiang et al., "tLyp-1-conjugated GSH-sensitive biodegradable micelles mediate enhanced pUNO1-hTRAILA/curcumin co-delivery to gliomas" *Chem. Eng. J.*, vol. 374, pp. 392–404, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.cej.2019.05.186.
- [12] K. F. Timbie et al., "MR image-guided delivery of cisplatin-loaded brain-penetrating nanoparticles to invasive glioma with focused ultrasound" *J. Control. Release*, vol. 263, pp. 120–131, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.jconrel.2017.03.017.
- [13] C. D. Arvanitis et al., "Mechanisms of enhanced drug delivery in brain metastases with focused ultrasound-induced blood-tumor barrier disruption" *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 115, no. 37, pp. E8717–E8726, 2018, doi:10.1073/pnas.1807105115
- [14] T. Sun et al., "Closed-loop control of targeted ultrasound drug delivery across the blood-brain/tumor barriers in a rat glioma model" *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 114, no. 48, pp. E10281–E10290, 2017, . doi:10.1073/pnas.1713328114
- [15] W. Y. Tong et al., "Delivery of siRNA in vitro and in vivo using PEI-capped porous silicon nanoparticles to silence MRP1 and inhibit proliferation in glioblastoma" *J. Nanobiotechnology*, vol. 16, no. 1, Apr. 2018, doi: 10.1186/s12951-018-0365-y.
- [16] O. Maksimenko et al., "Doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles for the chemotherapy of glioblastoma: Towards the pharmaceutical development" *Int. J. Pharm.*, vol. 572, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.118733.
- [17] S. Kumari, S. M. Ahsan, J. M. Kumar, A. K. Kondapi, and N. M. Rao, "Overcoming blood brain barrier with a dual purpose Temozolomide loaded Lactoferrin nanoparticles for combating glioma (SERP-17-12433)" *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, Dec. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-06888-4.
- [18] H. Ding et al., "Inhibition of brain tumor growth by intravenous poly (β-L-malic acid) nanobioconjugate with pH-dependent drug release" *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 107, no. 42, pp. 18143–18148, 2010, doi:10.1073/pnas.1003919107
- [19] J. Ouyang, Y. Jiang, C. Deng, Z. Zhong, and Q. Lan, "Doxorubicin Delivered via ApoE-Directed Reduction-Sensitive Polymersomes Potently Inhibit Orthotopic Human Glioblastoma Xenografts in Nude Mice" *Int. J. Nanomedicine*, vol. Volume 16, pp. 4105–4115, Jun. 2021, doi: 10.2147/ijn.s314895.
- [20] A. Orthmann, R. Zeisig, R. Süß, D. Lorenz, M. Lemm, and I. Fichtner, "Treatment of experimental brain metastasis with MTO-liposomes: Impact of fluidity and LRP-targeting on the therapeutic result" *Pharm. Res.*, vol. 29, no. 7, pp. 1949–1959, Jul. 2012, doi: 10.1007/s11095-012-0723-7.
- [21] X. Jiang et al., "Nanoparticle engineered TRAIL-overexpressing adipose-derived stem cells target and eradicate glioblastoma via intracranial delivery" *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 113, no. 48, pp. 13857–13862, 2016, doi:10.1073/pnas.1615396113
- [22] E. Sekerdag et al., "A potential non-invasive glioblastoma treatment: Nose-to-brain delivery of farnesylthiosalicylic acid incorporated hybrid nanoparticles," *J. Control. Release*, vol. 261, pp. 187–198, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.jconrel.2017.06.032
- [23] A. C. Freeman et al., "Convection-enhanced delivery of cetuximab conjugated iron-oxide nanoparticles for treatment of spontaneous canine intracranial gliomas" *J. Neurooncol.*, vol. 137, no. 3, pp. 653–663, May 2018, doi: 10.1007/s11060-018-2764-1
- [24] C. He et al., "LRP1-mediated pH-sensitive polymersomes facilitate combination therapy of glioblastoma in vitro and in vivo" *J. Nanobiotechnology*, vol. 19, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1186/s12951-020-00751-x.
- [25] D. Ribatti, B. Nico, E. Crivellato, and M. Artico, "Development of the blood-brain barrier: A historical point of view," *The Anatomical Record Part B: The New Anatomist*, vol. 289B, no. 1, pp. 3–8, Jan. 2006, doi: 10.1002/AR.B.20087