

Método alternativo para el estudio *in vitro* de la distribución de fármacos en cerebro

Sánchez Dengra Bárbara *¹, González Álvarez Isabel¹, González Álvarez Marta¹, Bermejo Marival¹

¹ Departamento de Ingeniería, Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad Miguel Hernández, San Juan de Alicante, Alicante, 03550, España.

*Correspondencia: barbarasanchezdengra@gmail.com

1. Introducción

El sistema nervioso central (SNC) es uno de los órganos más importantes de los seres vivos ya que se encarga de recibir y procesar la información, así como de generar respuestas frente a los estímulos recibidos del exterior. Este hecho, ha provocado que, además, el SNC sea uno de los órganos más protegidos. Concretamente, en los seres humanos se encuentran 4 tipos de estructuras de protección: los huesos (cráneo y columna vertebral), las meninges, el líquido cefalorraquídeo (LCR) y la barrera hematoencefálica (BHE) [1].

La BHE es la encargada de limitar el acceso de microorganismos y sustancias tóxicas al SNC. Sin embargo, también es la responsable de la falta de eficacia de muchos de los fármacos diseñados para el tratamiento de enfermedades neurológicas [2].

La cada vez mayor prevalencia de estas enfermedades y la falta de éxito mencionada con anterioridad hace necesario el desarrollo de nuevas estrategias de cribado que permitan seleccionar aquellos fármacos o formulaciones más prometedores en estadios tempranos de su desarrollo. En este sentido, en el año 2013, Mangas-Sanjuan et al. [3] desarrollaron un sistema de evaluación *in vitro* con el que se podían predecir los principales parámetros que describen el acceso y la distribución de fármacos en el SNC:

- La $K_{p_{u,brain}}$ relación entre la concentración de fármaco libre en plasma y la concentración de fármaco libre en cerebro.
- La $f_{u,plasma}$ la fracción libre de fármaco en plasma.

- La $f_{u,brain}$ la fracción libre de fármaco en el cerebro.
- El volumen aparente de distribución de fármaco en el cerebro ($V_{u,brain}$), la relación entre la cantidad de fármaco y su concentración libre en el cerebro.

La metodología propuesta por Mangas-Sanjuan *et al.*, que en el año 2021 fue validada en otra línea celular [4], aún siendo una metodología *in vitro*, empleaba homogeneizado de cerebro de cerdo en los ensayos realizados para obtener los parámetros $f_{u,brain}$ y $V_{u,brain}$. Así, el objetivo de este trabajo fue desarrollar una formulación alternativa sustituta del homogeneizado de cerebro que permitiese la obtención de los dos parámetros mencionados previamente con un mayor cumplimiento de los principios de las 3Rs (refinamiento, reducción y reemplazo).

2. Materiales y métodos

Se desarrolló una emulsión con la misma proporción en lípidos y proteínas que el homogeneizado de cerebro y se llevaron a cabo 3 tipos de ensayos de permeabilidad con 9 fármacos en dos líneas celulares (MDCK y MDCK-MDR1):

1. Estándar - en dirección basolateral-apical (BA).
2. Homogeneizado de cerebro - BA.
3. Emulsión - BA.

Combinando las permeabilidades de los ensayos 1 y 2, pudieron calcularse los parámetros $f_{u,brain}$ y $V_{u,brain}$ tal cual propusieron Mangas-Sanjuan et

al. Por su parte, combinando las permeabilidades de los ensayos 1 y 3 se obtuvieron estos mismos parámetros para la nueva emulsión.

Finalmente, los valores obtenidos fueron comparados y correlacionados con sus equivalentes *in vivo* extraídos de la literatura.

3. Resultados y Discusión

La Tabla 1 muestra un resumen de los coeficientes de determinación (r^2) obtenidos en las correlaciones de $f_{u,brain}$ y $V_{u,brain}$ (parámetro *in vitro* frente a parámetro *in vivo* de 9 fármacos) cuando se emplea la línea celular MDCK.

Tabla 1. Coeficientes de determinación obtenidos con la línea celular MDCK.

	MDCK – r^2	
	Homogeneizado	Emulsión
$f_{u,brain}$	0.621	0.586
$V_{u,brain}$	0.559	0.584

La Tabla 2 es equivalente a la Tabla 1, pero, en este caso, muestra los resultados obtenidos para la línea celular MDCK-MDR1.

Tabla 2. Coeficientes de determinación obtenidos con la línea celular MDCK-MDR1.

	MDCK-MDR1 – r^2	
	Homogeneizado	Emulsión
$f_{u,brain}$	0.640	0.559
$V_{u,brain}$	0.493	0.547

Los resultados de ambas tablas reflejan, dada la escasa diferencia entre los valores de r^2 , que el uso de la nueva emulsión propuesta como sustituta al homogeneizado de cerebro permite obte-

ner correlaciones equivalentes a aquellas que se obtienen cuando se hace uso del homogeneizado.

Por su parte, la comparación de ambas tablas, permite deducir que, el uso de una línea celular u otra no es relevante a la hora de obtener estos parámetros. Esto puede deberse a que la principal diferencia entre la línea celular MDCK y la línea celular MDCK-MDR1 es la presencia del transportador de excreción, glicoproteína P, en esta segunda. No obstante, los parámetros $f_{u,brain}$ y $V_{u,brain}$, son parámetros que caracterizan la distribución del fármaco en el cerebro una vez cruza la BHE, por lo que no se verían influidos por la presencia o ausencia de transportadores con independencia de cuál sea el mecanismo de acceso del fármaco.

4. Conclusiones

Se ha desarrollado una nueva formulación que puede emplearse como sustituta del homogeneizado de cerebro en el cribado del acceso y distribución de fármacos en el SNC. Este hecho contribuye a mejorar el bienestar animal y a reducir las pérdidas económicas derivadas de los fracasos en el desarrollo de fármacos dirigidos hacia este órgano, ya que sólo los fármacos y formulaciones más prometedores avanzarían a fases posteriores tras su estudio *in vitro*.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Agencia Estatal Investigación y la Unión Europea, a través de FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional) con el proyecto: “Modelos *in vitro* de evaluación biofarmacéutica” [SAF2016-78756 (AEI/FEDER, EU)]. Bárbara Sánchez-Dengra recibió una beca del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España [FPU17/00530].

Referencias bibliográficas

1. Telano LN, Baker S. Physiology, Cerebral Spinal Fluid (CSF); StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, United States of America, 2018.
2. Abbot NJ, Patabendige AAK, Dolman DEM, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.* 2010;37:13–25.
3. Mangas-Sanjuan V, González-Álvarez I, González-Álvarez M, Casabó VG, Bermejo M. Innovative *in vitro* method to predict rate and extent of drug delivery to the brain across the blood-brain barrier. *Mol Pharm.* 2013;10:3822–31.
4. Sánchez-Dengra B, González-Álvarez I, Sousa F, Bermejo M, González-Álvarez M, Sarmiento B. *In vitro* model for predicting the access and distribution of drugs in the brain using hCMEC/D3 cells. *Eur J Pharm Biopharm.* 2021;163:120–6.

Este trabajo debe ser citado como:

Sánchez Dengra B, González Álvarez I, González Álvarez M, Bermejo M. Método alternativo para el estudio *in vitro* de la distribución de fármacos en cerebro. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):246-7.