

Cómo citar este artículo:

· Fernández-Ferreiro A, Luaces-Rodríguez A, Díaz-Tomé V,
· Gil-Martínez M, Rodríguez Ares MT, Touriño Peralba R, et al. Hidrogel
· oftálmico de cisteamina para el tratamiento de la cistinosis ocular.
· Farm Hosp. 2017;41(6):678-687.



ORIGINALES

Artículo bilingüe inglés/español

Hidrogel oftálmico de cisteamina para el tratamiento de la cistinosis ocular

Cysteamine ophthalmic hydrogel for the treatment of ocular cystinosis

Anxo Fernández-Ferreiro^{1,2,3}, Andrea Luaces-Rodríguez^{2,3}, Victoria Díaz-Tomé³,
María Gil-Martínez⁴, María Teresa Rodríguez Ares⁴, Rosario Touriño Peralba⁴,
José Blanco-Méndez³, Miguel González-Barcia^{1,2,3}, Francisco Javier Otero-
Espinar¹, María Jesús Lamas^{2,3}.

¹Servicio de Farmacia, Xerencia Xestión Integrada Santiago de Compostela (SERGAS). ²Grupo Farmacología Clínica, Instituto de Investigación Sanitaria, Santiago de Compostela (IDIS-ISCIH). ³Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela (USC). ⁴Servicio de Oftalmología, Xerencia Xestión Integrada Santiago de Compostela (SERGAS). España.

Autores para correspondencia

María Jesús Lamas

Correo electrónico:
maria.jesus.lamas.diaz@sergas.es

Francisco Javier Otero Espinar

Correo electrónico:
francisco.otero@usc.es

· Recibido el 23 de junio de 2017;
· aceptado el 8 de agosto de 2017.
· DOI: 10.7399/fh.10834

Resumen

La cistinosis ocular es una enfermedad rara que se caracteriza por el depósito de cristales de cistina a nivel corneal, los cuales dificultan la visión de los pacientes. La cisteamina oral se administra en forma de cisteamina, pero esta no alcanza la córnea debido a la falta de vascularización corneal, por lo que es necesaria la aplicación tópica ocular. El objetivo del presente trabajo es determinar la estabilidad de un hidrogel oftálmico de cisteamina, potencialmente formulable en servicios de farmacia hospitalaria, conservado este bajo diferentes condiciones de almacenamiento durante un periodo de 30 días.

Los parámetros físicos y químicos evaluados han sido la osmolalidad, el pH y la concentración de cisteamina, siendo esta última valorada mediante un método de cromatografía líquida de ultra alta presión, empleando un detector de masas en tándem (UPLC-MS/MS). Los ensayos descriptivos se han basado en la medición de la transparencia y los ensayos microbiológicos en la realización de pruebas de esterilidad.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el hidrogel de cisteamina es estable durante un periodo de 30 días, recomendándose que su conservación sea en nevera.

Abstract

Ocular cystinosis is a rare disease characterised by the deposit of cystine crystals on the corneal surface, which hinder patients' eyesight. Oral cysteamine is given as cysteamine; however, it does not reach the cornea due to the lack of corneal vascularization making necessary its administration by the topical ocular route. The aim of the present study is to determine the stability of an ophthalmic hydrogel of cysteamine, which can be potentially prepared at hospital pharmacy departments, under different preservation conditions during a follow-up of 30 days.

Different physical and chemical parameters were evaluated: osmolality, pH and cysteamine concentration, which has been measured by a method of ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer (UPLC-MS/MS). Descriptive assays were also performed, such as transparency measurement and microbiological assays in order to verify its sterility.

The obtained results allow us to conclude that the cysteamine hydrogel is stable during 30 days, being recommendable its preservation in refrigerated conditions.

PALABRAS CLAVE

Ácido hialurónico; Cisteamina; Cistinosis; Ocular; Estabilidad; Espectrometría de masas; Hidrogel oftálmico; Reactivo de Ellman.

KEYWORDS

Cysteamine; Ellman's reagent; Hyaluronic acid; Ocular cystinosis; Ophthalmic hydrogel; Stability; Mass spectrometry.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia
Articles published in this journal are licensed with a
Creative Commons Attribution 4.0
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>
La revista Farmacia no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco por la publicación de sus artículos.

Introducción

La cistinosis es una enfermedad rara de herencia autosómica recesiva que se clasifica dentro de los desórdenes del almacenamiento o depósito lisosomal¹. Es un trastorno metabólico que se caracteriza por la acumulación del aminoácido cistina en los lisosomas debido a un defecto en el transporte de cistina desde el interior del lisosoma hacia el exterior^{2,3}. Dado que la cistina es poco soluble en agua, se produce su cristalización intralisosomal produciendo daño en diferentes tejidos y órganos, entre ellos la córnea. Las manifestaciones oculares de la enfermedad se deben a la acumulación de cristales de cistina en la superficie ocular, siendo estos ya descritos por Burki en los años cuarenta⁴. Estos cristales pueden ser observados con una lámpara de hendidura y constituyen un signo patognomónico de la cistinosis. Su formación comienza en la infancia y se empiezan a apreciar mediante la lámpara de hendidura a los 16 meses de edad. Inicialmente los pacientes están asintomáticos, pero debido a que se produce una acumulación progresiva de los cristales corneales con el tiempo, aproximadamente a la edad de 10 años se observan evidentes cristales de cistina corneales que ocasionan los síntomas oculares⁵.

El tratamiento específico de la cistinosis es la cisteamina, también llamada mercaptamina o 2-aminoetanotiol, un aminotiol con fórmula química HSCH₂CH₂NH₂⁶. La cisteamina fue introducida como opción terapéutica para la cistinosis en 1976 y es a día de hoy el único tratamiento disponible⁷. Aunque la cisteamina no produce la curación de la cistinosis, ha revolucionado el manejo y la prognosis de los pacientes. Se ha visto que retrasa el progreso de la enfermedad y puede reducir la cantidad de cistina intracelular en más del 90%. El tratamiento con cisteamina debe empezarse tan pronto como se realiza el diagnóstico y es una terapia de por vida. Los pacientes con poca adherencia al tratamiento o que lo empiezan tardamente no obtienen unos resultados tan beneficiosos⁸.

La cisteamina oral se administra en forma de cisteamina bitartrato, pero esta no alcanza la córnea debido a la falta de vascularización corneal, por lo que es necesaria la aplicación tópica ocular, cuya seguridad y efectividad ya se demostró en los años 80^{9,11}. Actualmente, existen dos formulaciones oftálmicas disponibles de cisteamina clorhidrato. Por un lado, el Cystaran® (Sigma Tau Pharmaceuticals Inc.), medicamento aprobado por la FDA y el que se debe instilar entre 6-12 veces al día¹²; y por otro lado el Cystadrops® (Orphan Europe, Paris, France), el cual tiene mayor viscosidad y prolonga más el tiempo de permanencia ocular^{13,14}. Esta última formulación, a pesar de encontrarse en fase III de ensayo clínico, la EMEA ha permitido recientemente su comercialización para facilitar su acceso como medicamento huérfano¹⁵.

El acceso a medicamentos extranjeros y/o huérfanos, puede en ocasiones retardarse en el tiempo debido a las tramitaciones y aprobaciones requeridas necesarias para su utilización. Por otro lado, el precio de los mismos, en ocasiones desorbitado, puede dificultar el acceso a los mismos¹⁶. Por ello, con el fin de facilitar el tratamiento de la cistinosis ocular, la elaboración de colirios de cisteamina como fórmula magistral es habitual en los Servicios de Farmacia Hospitalaria.

Estas formulaciones presentan principalmente dos problemas, el primero, que la instilación del colirio de cisteamina para conseguir una reducción de los cristales corneales, debe realizarse cada hora mientras que el paciente esté despierto. Para evitar este problema, y así optimizar la formulación y evitar incómodas posologías, nuestro grupo ha desarrollado y caracterizado en trabajos previos, un hidrogel bioadhesivo de cisteamina de alta permanencia ocular, potencialmente formulable en Servicios de Farmacia Hospitalaria^{17,18}. El segundo problema de las formulaciones con cisteamina, es determinar la estabilidad de las mismas, debido a que el análisis de compuestos con grupos tial siempre ha resultado difícil, la elevada susceptibilidad que presentan estos compuestos para oxidarse y a la falta de un cromóforo estructural necesario para su detección^{19,20}. Además, el bajo peso molecular de la cisteamina (PM=77,15 g/mol) dificulta su detección directa mediante detectores de masas. Por ello, los métodos desarrollados para determinar este tipo de compuestos suelen derivatizar previamente la molécula de cisteamina para poder ser posteriormente cuantificada mediante masas²¹.

El objetivo del presente trabajo es determinar la estabilidad de un hidrogel bioadhesivo oftálmico de cisteamina bajo diferentes condiciones de conservación.

Métodos

Elaboración del hidrogel oftálmico de cisteamina al 0,55%

La elaboración del hidrogel se realiza en dos etapas. Inicialmente se disuelve una cantidad suficiente de cisteamina (BioXtra, Sigma-Aldrich) en BSS® (*Balanced Salt Solution Alcon*®) para poder alcanzar una concentración del 0,55%, incorporándola progresivamente durante 5 minutos en agitación magnética. A continuación, se añade la cantidad de ácido hialurónico (Acofarma®) suficiente para lograr una concentración final del 0,4%, manteniendo la agitación magnética.

Para finalizar, el hidrogel se filtra con vacío, empleando un filtro de membrana de 0,22 micras (Stericup® Merck Millipore Express™ Plus 0,22 µm) y se envasa en frascos de vidrio topacio clase I de 15 mL de capacidad, en los que se dosifican 10 mL de hidrogel por envase. El volumen restante se rellena con nitrógeno gaseoso, y se cierran los envases. Todo el proceso es realizado en condiciones asépticas y en campana de flujo laminar horizontal.

Condiciones de conservación y variables estudiadas

Se han estudiado las formulaciones con y sin conservante, añadiéndole para ello EDTA al 0,01% a la mitad de los lotes en el momento de la disolución de la cisteamina. Por otra parte, ambas formulaciones han sido almacenadas durante 30 días, bajo dos condiciones de temperatura [22°C (ambiente) y 4°C (nevera)]. Así, las formulaciones estudiadas se denominarán a partir de ahora como HA (Hidrogel a temperatura ambiente sin EDTA), HAE (Hidrogel a temperatura ambiente con EDTA), HN (Hidrogel en nevera sin EDTA), HNE (Hidrogel en nevera con EDTA).

Los parámetros físicos y químicos evaluados, han sido la osmolalidad, el pH y la concentración de cisteamina. Los ensayos descriptivos se han basado en la medición de la transparencia y los ensayos microbiológicos en la realización de pruebas de esterilidad.

Antes de la realización de las diferentes medidas, todas las muestras fueron atemperadas durante un tiempo mínimo de 30 minutos para evitar variaciones en la determinación debidas a la temperatura. Todos los ensayos han sido realizados por triplicado y se han llevado a cabo los días 0, 7, 14, y 30 post-elaboración de los hidrogeles.

Ensayos descriptivos

El método utilizado para medir la transparencia ha consistido en la determinación de la transmitancia de las formulaciones en el intervalo de longitud de onda de la luz visible (380 nm-780 nm) utilizando para ello un espectrofotómetro UV-VIS (Espectrofotómetro de red de diodos Hewlett Packard 8452). Para ello, se realizó un blanco con agua destilada y las diferentes formulaciones se introdujeron en una cubeta de cuarzo para medir la transmitancia, obteniéndose una gráfica que representa el porcentaje de luz transmitida en función de las longitudes de onda.

Ensayos fisico-químicos

Determinación de Osmolalidad y pH: La osmolalidad se midió utilizando un osmómetro Vapor Pressure Osmometer (VAPRO 5520). Para ello, 10 µL de cada formulación se depositaron en un disco de papel de filtro Whatman sobre la cámara. La determinación del pH se llevó a cabo con un pHmetro Crison microPH2001®.

Cuantificación de la cantidad de cisteamina: Para la determinación de la cisteamina en las muestras se prepara previamente una disolución saturada del reactivo de Ellman (*5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)* o DTNB) como derivatizador²² (Figura 1). Para ello 29,6 mg del polvo fueron disueltos en 10 mL de NaOH acuoso al 0,018 M. Posteriormente, la disolución fue filtrada a través de un filtro de 0,45 µm.

Para la cuantificación de la cisteamina, inicialmente se realiza una dilución 1:1000 de la formulación. De esta muestra diluida se recogen 50 µL y se le adicionan 100 µL de reactivo de Ellman y 100 µL de agua purificada. La disolución resultante se analiza mediante un método de Cromatografía Líquida de Ultra Alta Presión empleando un detector de masas en tándem (UPLC-MS/MS). Para ello se utilizó un sistema Acquity UPLC® H-Class (Waters®) conectado a un detector de masas en tándem Waters® Xevo

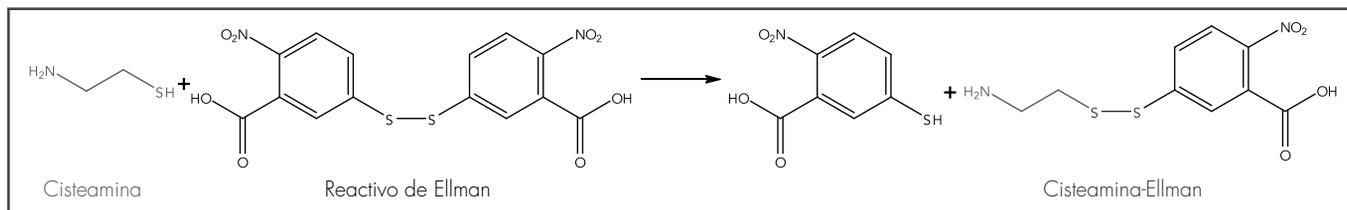


Figura 1. Reacción de derivatización de la cisteamina con el reactivo de Ellman.

TGD. Los datos fueron recogidos empleando el software Masslynx v4.1 y procesados a través del software cromatográfico Targetlynx™ Application Manager. La separación cromatográfica se realizó a 40°C utilizando la columna Acquity BEH C₁₈ (2,1 x 50 mm, 1,7 µm de tamaño de partícula, Waters®). Los solventes de la fase móvil fueron una disolución de ácido fórmico al 0,1% agua MilliQ® (Fase A) y acetonitrilo (Fase B). Se utilizó un gradiente con una velocidad de flujo constante a 0,4 mL/min. El gradiente se inició con 100% de fase A que cambió a una composición 40% A-60% B a los 2,20 minutos de forma lineal para a continuación mantener la composición hasta los 2,60 minutos y volver a las condiciones iniciales a los 3 minutos. El muestreador automático se ajustó a 10°C y se inyectaron 10 µL de cada muestra. El tiempo de ejecución total, incluyendo el equilibrado del sistema cromatográfico antes de la inyección de la muestra, fue de 3 minutos. La obtención de los datos de espectrometría de masas se llevó a cabo mediante el modo de monitorización de reacción múltiple (MRM) a través de la ionización de las muestras mediante electrospray positivo. Para la cuantificación, se utilizaron las transiciones del ion precursor de m/z 313 y el fragmento de 196.85 empleando un flujo de gas de desolvatación de 1,100 L/h, gas del cono 80 L/h y voltaje capilar de 3,2 kV. La temperatura de desolvatación y la temperatura de la fuente fueron de 600°C y 146°C, respectivamente.

Ensayos microbiológicos

Cada uno de los hidrogeles, se han analizado a los tiempos previamente indicados, con el fin de establecer la estabilidad microbiológica. Para ello, 1 ml de cada uno de los hidrogeles se añaden en placas de agar sangre, agar sabouraud y medio tioglicolato líquido. Estas muestras se cultivan a 37°C durante un periodo de 48h, 15 días y 10 días respectivamente. Al finalizar de cada período de incubación se observan y se determina si ha existido crecimiento microbiológico.

Márgenes de variación permitidos y análisis estadístico

Se ha establecido los márgenes fijados según lo indicado en el Pharmaceutical Codex²³, estableciéndose la caducidad de la formulación cuando la concentración de principio activo se ha reducido en un 10% con respecto a la concentración inicial. Por otra parte, los cambios en pH y

osmolalidad, se consideran no aceptables si sus valores exceden los criterios de aceptación para su administración por vía oftálmica. La estabilidad microbiológica se considera adecuada siempre y cuando no se detecten crecimiento microbiano en las muestras cultivadas. Por último, con respecto a las características descriptivas del producto, no se considerará aceptable, si la transparencia no es plena.

El análisis estadístico utilizado para comparar los resultados de las diferentes condiciones de conservación estudiada ha sido el análisis de la varianza multifactorial, realizado con el GraphPad Prism® v.5.0b.

Resultados

Ensayos descriptivos y fisicoquímicos

La transparencia de todas las formulaciones ha sido total, no observándose disminución de la misma durante todo el periodo estudiado. En la figura 2, se puede observar como en el rango visible, no se observa ninguna señal, signo de la transparencia de la muestra.

En la figura 3 se representa la variación de la osmolalidad de hidrogel de cisteamina bajo las cuatro condiciones de conservación a lo largo del tiempo. Los valores de osmolalidad en todas las formulaciones se mantienen comprendidos entre el 90% y el 100% de los valores iniciales durante todo el periodo de estudio. No se han observado diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones bajo las diferentes condiciones estudiadas, si bien, debe indicarse el valor ligeramente superior de las que contenían EDTA en su composición (427±8,96 mOsm/Kg vs 410±9,48 mOsm/Kg).

Por otro lado, tal y como se puede observar en la figura 4, ni la adición de EDTA al hidrogel ni las condiciones térmicas de almacenamiento, han influido en los valores de pH del hidrogel a lo largo del estudio. Así, no se han observado diferencias estadísticamente significativas entre el pH inicial y final en ninguna de las condiciones ensayadas, pese a existir una ligera disminución del pH en las formulaciones con EDTA (6,29 vs 6,44).

Concentración de cisteamina

En las condiciones metodológicas desarrolladas se obtiene un pico cromatográfico estrecho, simétrico y bien definido, con un tiempo de elución de 0,33 minutos. En la figura 5, se puede observar un ejemplo de cromatograma.

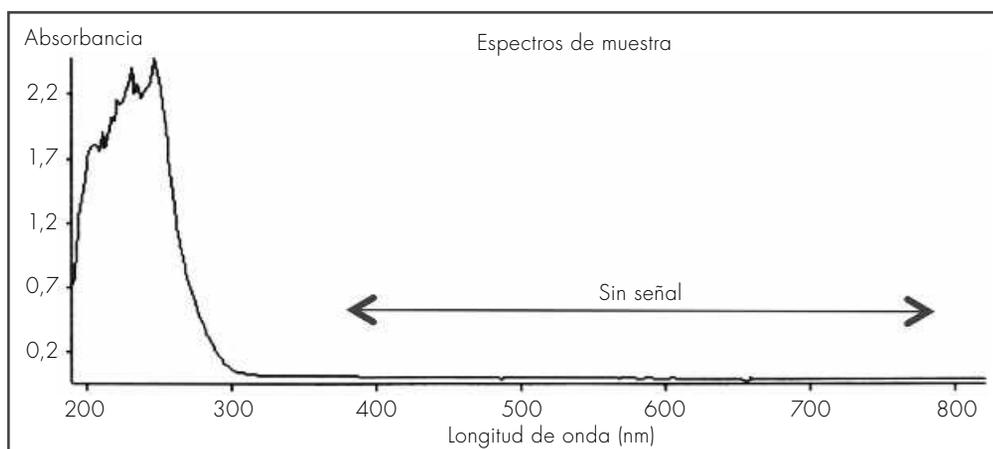


Figura 2. Gráfica obtenida en la determinación de la transparencia de una de las formulaciones. Se observa que en el rango de luz visible (380-780 nm) la absorbancia es despreciable.

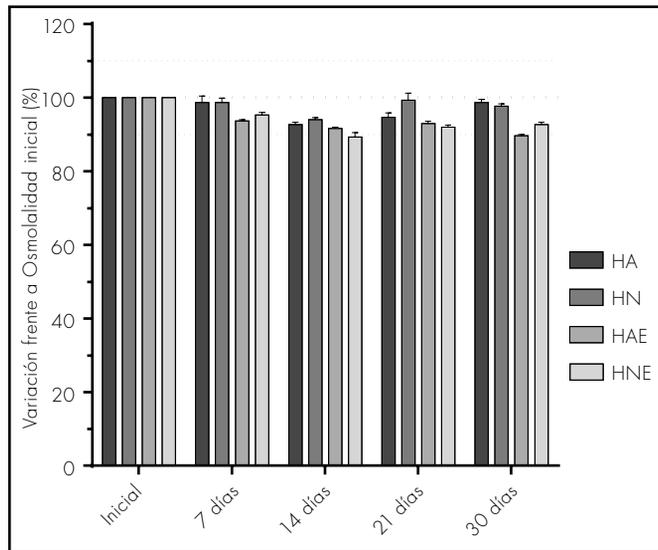


Figura 3. Percentage change in osmolality (mOsm/Kg) (mean and standard deviation) of cysteamine hydrogel over 30 days under the four different storage conditions. HA, room temperature without EDTA; HAE, room temperature with EDTA; HN, refrigerated without EDTA; HNE, refrigerated with EDTA.

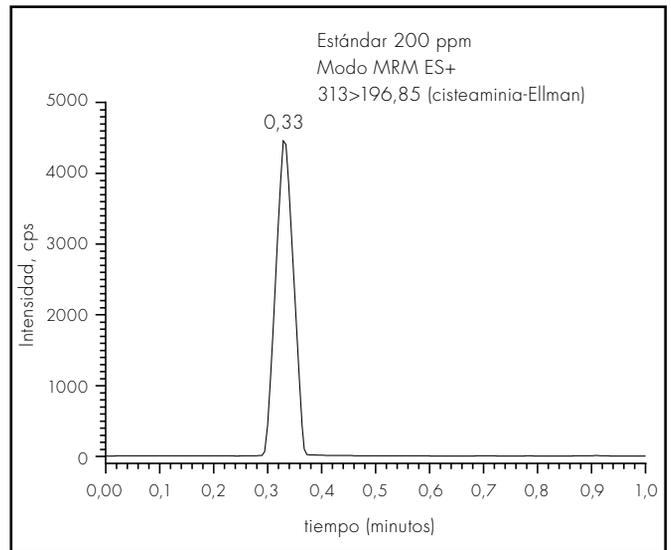


Figura 5. Example of chromatogram obtained for cysteamine derivatized with Ellman's reagent, using the UPLC MS/MS method.

tograma de la cisteamina derivatizada obtenido mediante la técnica de UPLC MS/MS.

El método de determinación de UPLC MS/MS desarrollado posee una gran especificidad ya que une la eficacia de la separación cromatográfica y la gran selectividad del detector de masas en tándem, para seleccionar la estructura química que se desea determinar. Con ello conseguimos aislar la señal del producto derivatizado entre la cisteamina y el reactivo de Ellman y separarla de posibles compuestos que se puedan formar durante la degradación de la cisteamina.

En la figura 6 se puede observar la variación de la concentración de cisteamina a lo largo del tiempo, bajo las cuatro condiciones de conservación. Al representar los valores de concentración de cisteamina a lo largo del tiempo, podemos observar que durante el período estudiado en ningún caso se produce una disminución de la misma por debajo del 90%. Por otra parte, se debe señalar que se ha observado una gran variabilidad entre los valores de concentración obtenidos a los diferentes tiempos durante el almacenamiento, obteniéndose en algunos muestreos, porcentajes superiores al 100% de la concentración inicial. La variabilidad es debida a

la dificultad de tomar muestras volumétricas reproducibles de los hidrogeles mediante aspiración, causada por su elevada viscosidad.

Estabilidad microbiológica

Se ha observado una adecuada conservación de las muestras en todas las condiciones ensayadas, no observándose crecimiento microbiano en ninguno de los hidrogeles durante el tiempo de almacenamiento.

Discusión

Las formulaciones magistrales oftálmicas de hidrócloruro de cisteamina presentan el problema principal que para conseguir una reducción de los cristales corneales deben realizarse instilaciones horarias con posologías de difícil cumplimiento. El hidrogel que nos ocupa, ha mostrado en estudios preclínicos una biopermanencia similar a Cystadrops^{®18}. Por otra parte, en estudios de biopermanencia cuantitativa guiada por PET, se ha mostrado que el hidrogel de cisteamina con hialurónico presenta una vida media de 60 minutos; muy superior a los 18 minutos presentados por el colirio de

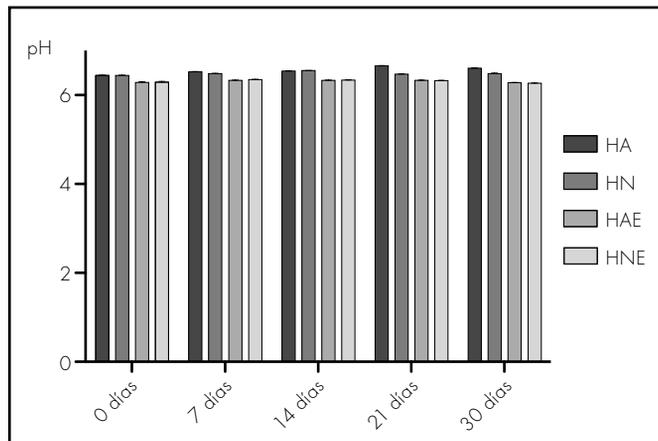


Figura 4. Change in pH (mean and standard deviation) of cysteamine hydrogel over 30 days under the four different storage conditions. HA, room temperature without EDTA; HAE, room temperature with EDTA; HN, refrigerated without EDTA; HNE, refrigerated with EDTA.

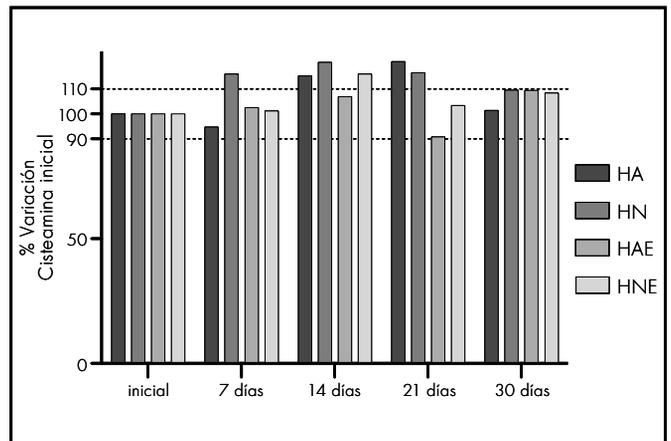


Figura 6. Representación de la variación en porcentaje de la concentración de cisteamina a lo largo del tiempo.

cisteamina habitualmente formulado en los Servicios de Farmacia. Además, la cantidad de cisteamina que llega al estroma tras la administración de este hidrogel, es superior a la mostrada por el colirio en solución, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos para los valores de permeación transcorneal. De modo que, con la formulación de este hidrogel se consigue una liberación controlada de la cisteamina a lo largo del tiempo, y se muestra como una alternativa factible para ser formulado desde los Servicios de Farmacia para pacientes con cistinosis ocular¹⁷. En el material suplementario, se muestran dos metodologías para su elaboración.

Los estudios de estabilidad tienen gran repercusión en la organización de los Servicios de Farmacia, suponen un importante esfuerzo técnico y económico, y cada vez son más frecuentes para garantizar la calidad de los medicamentos elaborados²⁴. En el presente trabajo, se presenta la estabilidad del hidrogel de ácido hialurónico con cisteamina, observándose que las propiedades del mismo permanecen inalteradas durante todo el periodo estudiado y en todas las condiciones de conservación. Otros autores, han indicado que la cisteamina se oxida a su dímero cistamina a temperatura ambiente, la cual no es efectiva en la eliminación de los cristales corneales de cistina²⁵, por ello en la elaboración del hidrogel hemos empleado nitrógeno para eliminar el oxígeno presente en el ambiente, antes del cierre del envase.

La elección del ácido etilendiaminotetraacético, EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*) como conservante, se ha basado en publicaciones previas, donde otros autores han probado que es el más idóneo para ser usado en las formulaciones con cisteamina. La concentración elegida para su adición al colirio fue la menor posible para minimizar el componente tóxico que pudiese tener a nivel de epitelio corneal^{20,26,28}. La adición de otros conservantes como cloruro de benzalconio, se ha descartado, tras una valoración beneficio-riesgo desfavorable por parte de los oftalmólogos. Se tuvo en cuenta su potencial toxicidad epitelial, de mayor riesgo en uso crónico, como sería el caso del hidrogel analizado²⁹.

Según la farmacopea de los Estados Unidos (USP), la estabilidad de una formulación magistral se define como la extensión o el tiempo durante el cual un producto mantiene dentro de unos límites específicos y a través del periodo de almacenamiento y uso las mismas propiedades y características que poseía en el momento de su fabricación³⁰. Por tanto, el objetivo de los estudios de estabilidad es obtener una información que permita hacer propuestas sobre la caducidad del medicamento y recomendar las condiciones de almacenamiento, determinando como varía la calidad de un medicamento dependiendo del tiempo y bajo la influencia de una serie de factores establecidos. El pH y la osmolalidad de los hidrogeles a lo largo del estudio, permanece prácticamente inalterada, sin apreciarse diferencias estadísticamente significativas ($\alpha < 0,001$) entre los valores iniciales y finales en todas las condiciones de conservación estudiadas. La adición de EDTA a la formulación incrementa ligeramente la osmolalidad y disminuye el pH, sin afectar a la estabilidad de la cisteamina. La transparencia es del

100% en todas las medidas realizadas. Por tanto puede concluirse que el hidrogel de hialurónico con cisteamina mantiene sus propiedades durante 30 días tras su elaboración. Por otro lado, debido a que la adición de EDTA no ha supuesto mejoras en términos de estabilidad, y como la adición de cloruro de benzalconio como preservante no se ha contemplado, se recomienda la conservación del hidrogel en nevera por razones microbiológicas y como método alternativo si no se produce el sellado de los viales con nitrógeno previo al cierre³¹.

Las propiedades previamente descritas, junto con el actual estudio de estabilidad, hace que el uso del hidrogel de cisteamina pueda proporcionar importantes mejoras terapéuticas en pacientes con cistinosis ocular. Por otro lado, su formulación, puede representar una herramienta de eficiencia frente a otras alternativas no comercializadas en España, pero disponibles para su importación (37.728 euros/año/paciente vs 1.080 euros/año/paciente, coste estimado de la formulación del hidrogel de cisteamina).

Tras la realización de un sondeo mediante a través de la lista de correo de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (SEFH), estimamos que en España hay actualmente 39 pacientes a tratamiento con cisteamina tópica ocular, por lo que el uso del medicamento adquirido a través de Medicamentos Extranjeros, podría suponer un coste de 1.471.392 euros/año. La utilización del hidrogel de cisteamina supone un mejor acceso de los pacientes al tratamiento y un ahorro importante al Sistema Nacional de Salud.

Agradecimientos

- *Financiación contratación personal*: A.F.F Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) CM15/00188
- *Financiación proyectos de investigación*: Fundación Mutua Madrileña y Fundación Española de Farmacia Hospitalaria.
- *Personas colaboradoras*: A todos los socios de la SEFH que habéis colaborado en respuesta al sondeo realizado mediante la lista de correo de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria sobre la utilización de cisteamina oftálmica en España.

Aportación a la literatura científica

La elaboración de colirios de cisteamina como fórmula magistral es habitual en los Servicios de Farmacia Hospitalaria. Estas formulaciones presentan principalmente dos problemas, el primero, la baja permanencia de estas formulaciones a nivel ocular, y el segundo la falta de estudios sobre su estabilidad. Con el presente trabajo se presenta el primer estudio de estabilidad de un hidrogel de cisteamina de alta permanencia ocular, potencialmente formulable desde los Servicios de Farmacia Hospitalaria, pudiendo suponer por tanto un gran avance en el tratamiento de la cistinosis ocular.

Bibliografía

1. Gahl WA, Thoene JG, Schneider JA. Cystinosis. *N Engl J Med*. 2002;347(2):111-21. doi:10.1056/NEJMra020552
2. Linkage of the gene for cystinosis to markers on the short arm of chromosome 17. The Cystinosis Collaborative Research Group. *Nat Genet*. 1995;10(2):246-8. doi:10.1038/ng0695-246
3. Town M, Jean G, Cherqui S, Attard M, Forestier L, Whitmore SA, et al. A novel gene encoding an integral membrane protein is mutated in nephropathic cystinosis. *Nat Genet*. 1998;18(4):319-24. doi:10.1038/ng0498-319
4. Burki E. Ueber die Cystinrankheit im Kleinkindesalter unter besonderer Berücksichtigung des Augenbefundes [About the Cystinosis in infancy with special reference to eye findings]. *Ophthalmologica*. 1941;101:331-42.
5. Gahl WA, Kuehl EM, Iwata F, Lindblad A, Kaiser-Kupfer MI. Corneal crystals in nephropathic cystinosis: natural history and treatment with cysteamine eyedrops. *Mol Genet Metab*. 2000;71(1-2):100-20. doi:10.1006/mgme.2000.3062
6. Pubchem. Cysteamine [C2H7NS]. [Accessed June 22, 2017] Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Aminoethanethiol>
7. Thoene JG, Oshima RG, Crawhall JC, Olson DL, Schneider JA. Cystinosis. Intracellular cystine depletion by aminoethiols in vitro and in vivo. *J Clin Invest*. 1976;58(1):180-9. doi:10.1172/JCI108448
8. Brodin-Sartorius A, Tête M-J, Niaudet P, Antignac C, Guest G, Ottolenghi C, et al. Cysteamine therapy delays the progression of nephropathic cystinosis in late adolescents and adults. *Kidney Int*. 2012;81(2):179-89. doi:10.1038/ki.2011.277
9. Kaiser-Kupfer MI, Caruso RC, Minkler DS, Gahl WA. Long-term ocular manifestations in nephropathic cystinosis. *Arch Ophthalmol*. 1986;104(5):706-11. doi:10.1001/archoph.1986.01050170096030
10. Cysteamine Eye Drops to Treat Corneal Crystals in Cystinosis. *ClinicalTrials.gov* (A service of the U.S. National Institutes of Health). [Accessed May 6, 2016] Disponible en: <https://clinicaltrials.gov>
11. Kaiser-Kupfer MI, Gazzo MA, Dattiles MB, Caruso RC, Kuehl EM, Gahl WA. A randomized placebo-controlled trial of cysteamine eye drops in nephropathic cystinosis. *Arch Ophthalmol*. 1990;108(5):689-93. doi:10.1001/archoph.1990.01070070075038
12. Cystaran®. Prescribing information. [Accessed May 3, 2016] Disponible en: www.sigmta.com
13. Cystadrops® 0,55% eye drops solution. Summary of product characteristics. November 2015. [Accessed September 24, 2017] Disponible en: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/34065>

14. Cystadrops® 0,55% collyre en solutions. Protocole d'utilisation therapeutique et de recueil d'informations. Autorisation temporaire d'utilisation dite de cohorte. [Accessed June 2016] Disponible en: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/f0f8036949f10b1ce8dd7a7a0ab48927.pdf
15. Cysteamine Hydrochloride for nephropathic Cystinosis, open-label Phase III pivotal study (CYSTADROPS CHOC study). Clinical Trials Register. [Accessed June 18, 2016] Disponible en: www.clinicaltrialsregister.eu
16. Velásquez G. El acceso global a los medicamentos en el contexto internacional actual. *Biomédica*. 2011;31(2):162-3.
17. Luaces-Rodríguez A, Díaz-Tomé V, González-Barcia M, Silva-Rodríguez J, Herranz M, Gil-Martínez M, et al. Cysteamine polysaccharide hydrogels: study of extended ocular delivery and biopermanence time by PET imaging. *Int J Pharm*. 2017;528(1-2):714-22. doi:10.1016/j.ijpharm.2017.06.060
18. Fernández Ferreiro A, Luaces-Rodríguez A, González Barcia M, Otero Espinar FJ, Lamas MJ. Evaluación de la biopermanencia ocular in vivo de tres formulaciones oftálmicas de cisteamina clorhidrato. *Farm Hosp*. 2016;Supl1:79.
19. Guan X, Hoffman B, Dwivedi C, Matthees DP. A simultaneous liquid chromatography/mass spectrometric assay of glutathione, cysteine, homocysteine and their disulfides in biological samples. *J Pharm Biomed Anal*. 2003;31(2):251-61.
20. Lawal B. Development of a cysteamine in situ gelling system for the treatment of corneal crystals in cystinosis. [Published July 2008. Accessed February 3, 2016]. Disponible en: https://cystinosis.org/images/research/updates/CRN_Research_UpdateB.pdf
21. Qi B-L, Liu P, Wang Q-Y, Cai W-J, Yuan B-F, Feng Y-Q. Derivatization for liquid chromatography-mass spectrometry. *TrAC Trends Anal Chem*. 2014;59:121-32. doi:10.1016/j.trac.2014.03.013
22. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959;82(1):70-7.
23. Royal Pharmaceutical Society of Great Britain Dept of Pharmaceutical. The Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceutics. Twelfth Edition. London: Pharmaceutical Press; 1994.
24. Barrueco N, Escobar Rodríguez I, García Díaz B, Gil Alegre ME, López Lunar E, Ventura Valares MG. Estabilidad de medicamentos en la práctica clínica: de la seguridad a la eficiencia. *Farm Hosp*. 2013;37(3):175-7. doi:10.7399/FH.2013.37.3.587
25. Iwata F, Kuehl EM, Reed GF, McCain LM, Gahl WA, Kaiser-Kupfer MI. A randomized clinical trial of topical cysteamine disulfide (cystamine) versus free thiol (cysteamine) in the treatment of corneal cystine crystals in cystinosis. *Mol Genet Metab*. 1998;64(4):237-42. doi:10.1006/mgme.1998.2725
26. Herreros JMA. Preparación de medicamentos y formulación magistral para oftalmología. Ediciones Díaz de Santos; 2003.
27. Fernández MA, Atienza JM, Vayo CÁ del. Formulación en farmacia pediátrica. Madrid. A. Madrid Vicente editores; 2011.
28. Asociación de Formulistas de Andalucía. [Accessed May 28, 2016] Disponible en: <http://www.formulistasdeandalucia.es/noticia.php?id=264>
29. Rosin LM, Bell NP. Preservative toxicity in glaucoma medication: clinical evaluation of benzalkonium chloride-free 0.5% timolol eye drops. *Clin Ophthalmol Auckl NZ*. 2013;7:2131-5. doi:10.2147/OPTH.S41358
30. Convention USP. Farmacopea de los Estados Unidos de América, USP 37, 2014: Formulario nacional, NF 32. United States Pharmacopeia; 2013.
31. Practical Pharmaceutics. An International Guideline for the Preparation, Care and Use of Medicinal Products. Yvonne Bouwman-Boer, V'lain Fenton-May, Paul Le Brun, editors. Springer 2015. [Accessed June 22, 2017]. Disponible en: <http://www.springer.com/gp/book/9783319158136>

Anexo 1



Xestión Integrada
 Santiago de Compostela

Xestión Integrada de Santiago de Compostela
 Complexo Hospitalario Universitario de Santiago
 Servicio de Farmacia

FICHA DE FÓRMULA

A) HIDROGEL DE HIALURÓNICO CON CISTEAMINA 0,55%

Forma farma: Hidrogel oftálmico	Cantidad: 30 días	Validado el: 21/06/2017
Vía admon.: Tópica ocular	Protegido luz: Sí	Dispensable: Sí
A elaborar por: Farmacéutico/a	Conservar: Frigorífico (2 a 8 °C)	

Observaciones

Deshechar una vez abierto a los 7 días.

Nivel de Riesgo: **MEDIO**

Elaboración: **Estéril**

Composición

Componente	Cantidad
Hidrocloreto de cisteamina	275,00 mg
Sodio hialuronato (polvo)	40,00 mg
BSS® colirio (Balanced Salt Solution)	csp 50,00 ml

Equipamiento

- 1 - Vaso plástico estéril
- 1 - Balanza analítica
- 1 - Agitador magnético
- 1 - Jeringa 60 ml Luer-Lock
- 1 - Filtro 0,22 micras
- (Millipore Millex® GS) o (Stericup® Merck Millipore Express™Plus)

Metódica

- *Pesar la cisteamina y el hialuronato sódico en vasos de plástico estériles de 100 ml.*
- *Trasladar a la cabina de flujo laminar horizontal y añadir 40 ml de BSS® en el vaso que contiene la cisteamina. Agitar, utilizando agitador magnético, con pastilla de agitación previamente esterilizada, hasta que se disuelva completamente.*
- *Posteriormente, añadir progresivamente el ácido hialurónico, continuando con la agitación magnética hasta completa disolución.*
- *Con una jeringa trasvasar y completar hasta 50 ml de BSS®.*
- *Incorporar de nuevo todo contenido (50 ml) al vaso de plástico y continuar con la agitación magnética hasta su homogenización.*
- *Por último, coger de nuevo los 50 ml del hidrogel de cisteamina en una jeringa y realizar filtración esterilizante, incorporando el contenido estéril en los frascos de vidrio topacios. Observaciones: El filtrado de sustancias viscosas puede ser costoso con los filtros convencionales, por ello se ofrece una filtración alternativa, en la que se utiliza el vacío:*
 - o *Opción 1: Para pequeños volúmenes utilizar Millipore Millex® GS).*
 - o *Opción 2: Para grandes volúmenes se puede utilizar una filtración por vacío, utilizando el Stericup® Merck Millipore Express™Plus 0,22 micras.*
- *Cerrar el frasco y etiquetar.*

Invasado: Cantidad a elaborar, 50 ml repartidos en 5 Frasco vidrio estéril cuentagotas 15 ml con 10 ml cada uno

Controles de calidad

Control

Observación de partículas

Análisis microbiológico

SERVIZO
GALEGO
de SAÚDEXestión Integrada
Santiago de CompostelaXestión Integrada de Santiago de Compostela
Complejo Hospitalario Universitario de Santiago
Servicio de Farmacia

FICHA DE FÓRMULA

HIDROGEL DE HIALURÓNICO CON CISTEAMINA 0.55%

Cód.: 1205

Autores

- Anxo Fernández Ferreiro (Farmacéutico/a)
- Miguel González Barcia (Farmacéutico/a)

Bibliografía

- 1.- Andrea Luaces-Rodríguez y cols. Cysteamine polysaccharide hydrogels: study of extended ocular delivery and biopermanence time by PET imaging, Int. J. Pharm. In Press (2017).
- 2.- Anxo Fernández Ferreiro y cols. Evaluación de la biopermanencia ocular in vivo de tres formulaciones oftálmicas de cisteamina clorhidrato., Farm. Hosp. 61 Congreso SEFH (2016).
- 3.- Manuela Atienza Fernández. Formulación en Farmacia Pediátrica. 2005 Tercera edición- ISBN: 84- 689- 2529- 2.
- 4.- M.I. Kaiser-Kupfer, M.A. Gazzo, M.B. Datiles, R.C. Caruso, E.M. Kuehl, W.A. Gahl, A randomized placebo-controlled trial of cysteamine eye drops in nephropathic cystinosis, Arch. Ophthalmol. Chic. Ill 1960. 108 (1990) 689 693.

Anexo 2



Xestión Integrada
 Santiago de Compostela

Xestión Integrada de Santiago de Compostela
 Complejo Hospitalario Universitario de Santiago
 Servicio de Farmacia

FICHA DE FÓRMULA

B) HIDROGEL DE HIALURÓNICO CON CISTEAMINA 0,55%

Forma farma: Hidrogel oftálmico	Caucidad: 30 días	Validado el: 21/06/2017
Vía admon.: Tópica ocular	Protegido luz: Sí	Dispensable: Sí
A elaborar por: Farmacéutico/a	Conservar: Frigorífico (2 a 8 °C)	

Observaciones

Deshechar una vez abierto a los 7 días.

Nivel de Riesgo: **MEDIO**

Elaboración: **Estéril**

Composición

Componente	Cantidad
Hidrocloreuro de cisteamina	275,00 mg
BSS® colirio (Balanced Salt Solution)	5,00 ml
Lagrimas artificiales estériles con ácido hialurónico al 0,4% Acuoral®	csp 50,00 ml

Equipamiento

- 1 - Vaso plástico estéril
- 1 - Balanza analítica
- 1 - Agitador magnético
- 1 - Jeringa 60 ml Luer-Lock
- 1 - Filtro 0,22 micras (Millipore Millex® GS)

Metódica

- *Pesar la cisteamina en vaso de plástico estéril.*
- *Trasladar a la cabina de flujo laminar horizontal y añadir 5 ml de BSS® en el vaso que contiene la cisteamina. Agitar, utilizando agitador magnético, con pastilla de agitación previamente esterilizada, hasta que se disuelva completamente.*
- *Coger la solución de cisteamina en una jeringa y realizar filtración esterilizante (Millipore Millex® GS), traspasando el contenido a una jeringa de 60 ml.*
- *Posteriormente, añadir lágrima artificial estéril hasta completar los 50 ml.*
- *Homogeneizar mediante el movimiento de la jeringa y posteriormente dosificar en los frascos topacios.*
- *Cerrarlos y etiquetarlos.*

Envasado: Cantidad a elaborar, 50 ml repartidos en 5 Frasco vidrio estéril cuentagotas 15 ml con 10 ml cada uno

Controles de calidad

Control

Observación de partículas

Análisis microbiológico

Autores

- Anxo Fernández Ferreiro (Farmacéutico/a)
- Miguel González Barcia (Farmacéutico/a)

Bibliografía

- 1.- Andrea Luaces-Rodríguez y cols. Cysteamine polysaccharide hydrogels: study of extended ocular delivery and biopermanence time by PET imaging, Int. J. Pharm. In Press (2017).
- 2.- Anxo Fernández Ferreiro y cols. Evaluación de la biopermanencia ocular in vivo de tres formulaciones oftálmicas de cisteamina clorhidrato., Farm. Hosp. 61 Congreso SEFH (2016).



**Xestión Integrada
Santiago de Compostela**

Xestión Integrada de Santiago de Compostela
Complejo Hospitalario Universitario de Santiago
Servicio de Farmacia

FICHA DE FÓRMULA

HIDROGEL HIALURÓNICO CISTEAMINA 0,55%

Cód.: 1206

- 3.- Manuela Atienza Fernández. Formulación en Farmacia Pediátrica. 2005 Tercera edición- ISBN: 84- 689- 2529- 2.
4.- M.I. Kaiser-Kupfer, M.A. Gazzo, M.B. Datiles, R.C. Caruso, E.M. Kuehl, W.A. Gahl, A randomized placebo-controlled trial of cysteamine eye drops in nephropathic cystinosis, Arch. Ophthalmol. Chic. III 1960. 108 (1990) 689 693.